



Observações

— Boletim Epidemiológico

sumário_

_ Editorial

Políticas de Saúde p 03
Health policies
 Fernando de Almeida e Cristina Abreu Santos

_ Artigos breves

_ Fontes de evidência para apoio à decisão

1_ Health Impact Assessment (HIA): a experiência de um Programa de Treino em Portugal p 04
The experience from a Health Impact Assessment (HIA) Training Program in Portugal

Alexandra Costa, Luciana Costa, Teresa Caldas de Almeida

2_ A importância dos Inquéritos de Base populacional: uma revisão descritiva do contributo do Inquérito Nacional de Saúde para a produção de evidência científica e do potencial contributo para a tomada de decisão p 07
The importance of Population Based Surveys: a descriptive review of the Portuguese National Health Survey's contribution to the production of scientific evidence and the potential contribute to decision making

Mariana Neto, Joana Santos

3_ O Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico (INSEF) e o apoio às políticas para a prevenção e o controlo da diabetes p 15

The National Health Examination Survey (INSEF) supporting policies for diabetes prevention and control.

Marta Barreto, Mafalda Sousa Uva, Carlos Matias Dias

_ Alimentação e nutrição

4_ Oito anos de consumo de bebidas açucaradas em crianças Portuguesas dos 6 aos 8 anos de idade: COSI Portugal 2008 – 2016 p 17

Eight years of sugar-sweetened beverages consumption among Portuguese children aged 6 to 8 years old: COSI Portugal 2008 – 2016

Sofia Mendes, Margarida Bica, Joana Baleia, Francisco Goiana-da-Silva, Ana Rito

5_ Etapas iniciais de um estudo piloto de Health Impact Assessment em Portugal: o caso da redução de sal no pão p 22
Health Impact Assessment: Initial phases of a pilot study in Portugal: the case of salt reduction in bread

Paula Braz, Joana Santos, Joana Alves, Luciana Costa, Alexandra Costa, Mariana Santos, Roberto Brazão, Teresa Caldas de Almeida

6_ Health Impact Assessment aplicado à Nutrição: simulação de cenários de redução gradual do teor de sal no pão em Portugal. p 25

Health Impact Assessment applied to Nutrition: scenarios simulation of gradual reduction of salt content in bread in Portugal.

Mariana Santos, Roberto Brazão, Ricardo Assunção, Luciana Costa, Alexandra Costa, Paula Braz, Joana Santos, Ana Guerreiro, Isabel Lopes, Joana Alves, Teresa Caldas de Almeida

7_ Teor de sal e de gordura em produtos de pastelaria sem glúten e/ou sem lactose: contributo para o estudo do panorama Português p 29

Salt and fat content in gluten-free and/or lactose-free pastries: a contribution to the study of the Portuguese panorama

Regina Capelas, Helena S. Costa, M. Beatriz P.P. Oliveira, Tânia Gonçalves Albuquerque

8_ Exposição da população Portuguesa a micotoxinas: o contributo da biomonitorização humana p 33

Exposure of the Portuguese population to multiple mycotoxins: The contribute of human biomonitoring

Carla Martins, Arnau Vidal, Marthe De Boevre, Sarah De Saeger, Carla Nunes, Duarte Torres, Ana Goios, Carla Lopes, Ricardo Assunção, Paula Alvito

Continua →



_Saúde ambiental

- 9_ Avaliação de impacto na saúde sobre a adoção de recomendações em matéria de operações urbanísticas na reconversão de áreas industriais com solos contaminados: resultados das fases de *screening* e *scoping* p39
Health Impact Assessment on the Adoption of Recommendations regarding Urban Operations in the Reconversion of Industrial Areas with Contaminated Soils: results from the screening and scoping phases
Sónia Namorado, Ausenda Machado, Cândida Pité, Lúgia Ribeiro, Manuela Ferreira, Vera Noronha
- 10_ Caracterização da população bacteriana em barragens na bacia hidrográfica do Sado p44
Characterization of the bacterial population in water dams of the Sado watershed
Maria Sousa, Patrícia Morgado, João Rodrigues, Rui Matias, Isabel Nogueira, Luísa Jordão
- 11_ Fungos em areias e águas costeiras e interiores em Portugal – relevância para a saúde humana e bem-estar p49
Fungi in sand and coastal and inland waters in Portugal - relevance to human health and well-being
Sara Brito, Raquel Sabino, Cristina Veríssimo, Susana Silva, Elisabete Valério, João Brandão

_Doenças Infecciosas

- 12_ Infecção assintomática por *Bordetella pertussis* na população adulta portuguesa, em 2015-2016 p55
Asymptomatic Bordetella pertussis infection in the Portuguese adult population, 2015-2016
P. Palminha, I. Costa, S. Pinto, R. Roquette, B. Nunes, S. Moura, R. Neves, T. Lourenço, C. Ribeiro, B. Pereira
- 13_ Estamos protegidos após a vacinação contra a gripe? Resposta imunitária para o vírus da gripe numa coorte de adultos vacinados na época de 2017/2018 p59
Are we protected after seasonal influenza vaccine uptake? Immune response for influenza virus in a cohort of vaccinated adults during 2017/2018 season
Raquel Guiomar, Ana Paula Rodrigues, Inês Costa, Patrícia Conde, Paula Cristóvão, Pedro Pechirra, Paulo Estragadinho, Baltazar Nunes, Silva Graça

_Doenças Raras

- 14_ Contribuições do Departamento de Genética Humana do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge para o controlo das Doenças Raras p66
Contributions of the Human Genetics Department of the National Institute of Health Doutor Ricardo Jorge for the control of Rare Diseases
Glória Isidro, Hildeberto Correia, João Lavinha, João Gonçalves, Laura Vilarinho
- 15_ DESVENDAR “DESCobrir, VENCer as Doenças rARas” p73
Célia Nogueira, Lisbeth Silva, Cristina Pereira, Altina Lopes, Marisa Encarnação, Maria Francisca Coutinho, Olga Amaral, Sandra Alve, Laura Vilarinho

_Anomalias Congénitas

- 16_ Prevenção primária dos Defeitos do Tubo Neural: quantos casos poderiam ter sido prevenidos entre 2004 e 2017 através da adesão à recomendação oficial? p77
Primary prevention of neural tube defects: how many cases could have been prevented between 2004 and 2017?
Paula Braz, Ausenda Machado, Irina Kislaya, Carlos Matias Dias

_Acidentes e lesões

- 17_ Acidentes Domésticos e de Lazer: uma ocorrência em Portugal com necessidade de abordagem interdisciplinar p80
Domestic and Leisure Accidents: An occurrence in Portugal which needs an interdisciplinary approach
Tatiana Alves, Emanuel Rodrigues, Ricardo Mexia, Mariana Neto, Carlos Matias Dias

_Doenças Não Transmissíveis

- 18_ Cobertura da população diabética pela vacina antigripal: tendência na população portuguesa ao longo de 19 épocas gripais (1998/99 a 2017/18) p84
Coverage of the diabetic population by the influenza vaccine: trend in the Portuguese population over 19 influenza seasons (1998/99 a 2017/18).
Ausenda Machado, Irina Kislaya, Baltazar Nunes, Ana Paula Rodrigues, Carlos Matias Dias

Políticas de Saúde

Health policies

O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) é um Instituto Público com interesse estratégico nacional que contribui, através da sua tripla missão – enquanto laboratório do estado no setor da saúde, laboratório nacional de referência e observatório nacional de saúde – para a obtenção de ganhos em saúde pública.

Da sua atividade resultam impactes diretos e indiretos na saúde da população. Os diretos decorrem da prestação de serviços diferenciados, do diagnóstico precoce dos recém-nascidos em Portugal, da resposta a emergências em Saúde Pública, da participação na vigilância epidemiológica e observação em saúde, na investigação laboratorial de surtos e de epidemias e, também, da disseminação da cultura científica visando o aumento do conhecimento científico e literacia em saúde da população geral e de públicos-alvo específicos. Os impactes indiretos decorrem dos produtos que resultam da investigação científica, uma vez que contribuem para a definição e a avaliação de políticas, planos e programas de intervenção em Saúde Pública, fatores estruturantes do sistema de saúde em Portugal.

Na sua atividade, o INSA produz e disponibiliza dados, informação e conhecimento resultantes da prossecução da sua missão e atribuições, através de aplicação de procedimentos e métodos com elevada diferenciação técnica e científica, desde logo os laboratoriais e os epidemiológicos, estatísticos e bioinformáticos.

Este número do Boletim Observações pretende, assim, salientar trabalhos desenvolvidos nas áreas das doenças infecciosas, genética humana, alimentação e nutrição, saúde ambiental, promoção da saúde e doenças não transmissíveis, bem como áreas metodológicas e de aplicação populacional, com relevo para a epidemiologia aplicada. Trabalhos

científicos produzidos no nosso Instituto, ou realizados em colaboração com outras instituições, orientados para necessidades de Saúde Pública e, sobretudo, com tradução em políticas, em serviços e em cuidados clínicos e de saúde pública.

Os artigos, ora apresentados, evidenciam resultados empíricos de investigação, monitorização, observação ou vigilância – tendo por base o alinhamento com o Plano Nacional de Saúde, os Programas de Saúde Prioritários ou outros Programas e/ou Estratégias Nacionais. Salientam a importância de abordagens, muitas vezes, multissetoriais, e a relevância que estes estudos podem assumir para a definição de políticas, normativos ou recomendações. Ou mesmo a sua monitorização e avaliação.

Destacamos, ainda, a atualidade destes artigos e o dinamismo na investigação que é feita – na procura de respostas a uma pergunta, no estudo de situações concretas com impacto na saúde e bem-estar, no alinhamento com estratégias nacionais e internacionais. Este vigor na produção científica é essencial para acompanhar necessidades prementes, adaptar políticas e planos a novas situações, a informar com celeridade e rigor.

O trabalho apresentado neste Boletim exemplifica o esforço do INSA na produção de evidência científica que contribui para a tomada de decisão, assente em modelos de colaboração com outras entidades de nível nacional, regional ou local, universidades ou unidades de investigação. Uma tarefa onde a multidisciplinaridade e complementaridade são fundamentais, tornando-se uma oportunidade para contribuir para a resposta às necessidades de saúde dos portugueses e da saúde global.

O Conselho Diretivo do INSA

Fernando de Almeida e Cristina Abreu Santos

Health Impact Assessment (HIA): a experiência de um Programa de Treino em Portugal

The experience from a Health Impact Assessment (HIA) Training Program in Portugal

Alexandra Costa, Luciana Costa, Teresa Caldas de Almeida

alexandra.costa@insa.min-saude.pt

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

_Resumo

O Health Impact Assessment (HIA) é uma metodologia que permite avaliar uma política, programa ou projeto e utilizar os seus resultados para aumentar o conhecimento sobre a proposta, informar os decisores e população afetada, minimizar os efeitos potenciais negativos e maximizar os efeitos positivos sobre a saúde e bem-estar. O HIA pode ainda atuar como catalisador para o envolvimento intersectorial. Com base nesta premissa, com o apoio técnico da OMS, e em parceria com outras instituições da saúde, assim como com a colaboração de outros setores, o Instituto Ricardo Jorge desenhou um programa de treino em HIA, desenvolvendo competências técnicas, instrumentos e metodologias para a institucionalização e implementação efetiva de estudos de impacto em saúde das intervenções dos vários sectores, em curso ao longo dos últimos dois anos. Numa perspetiva *learn by doing*, este programa de treino contribuiu para a capacitação de profissionais de saúde e de outros sectores. No entanto, estas experiências piloto identificaram obstáculos que necessitam ser ultrapassados para uma verdadeira implementação a nível institucional. O acesso aos sistemas de informação e aos dados armazenados é uma das principais barreiras que urge colmatar.

_Abstract

Health Impact Assessment (HIA) is a methodology for evaluating a policy, program or project, using its results to increase knowledge about the proposal, inform decision-makers, and affected population, in order to minimize potential negative effects and maximize positive effects on health and well-being. HIA can also act as a catalyst for intersectoral involvement. Based on this premise, with the technical support of WHO, and in partnership with other health institutions, as well the collaboration of other sectors, the National Institute of Health Doutor Ricardo Jorge, designed a training program on HIA. The program, ongoing for the last two years, aims to develop technical skills, instruments and methodologies for the uptake and effective implementation of HIA by institutions in other governance sectors. Using a learn by doing approach, this training program has contributed to the capacity building of professionals from health and other sectors. However, these pilot experiences have identified barriers that need to be tackled for more effective implementation. Access to information systems and stored data is one of the major barriers that need to be addressed.

_Introdução

As políticas e programas de todos os setores afetam - direta ou indiretamente - a saúde e o bem-estar das pessoas ⁽¹⁾. Em Portugal, existe um crescente interesse em compreender em que medida as intervenções em saúde e as políticas de outros sectores impactam na saúde e na equidade ⁽²⁾.

O Health Impact Assessment (HIA) é uma combinação estruturada de procedimentos, métodos e ferramentas essenciais para avaliar os efeitos potenciais de políticas, programas ou projetos na saúde das populações ⁽³⁾, contribuindo para a tomada de decisão em termos de proteção e equidade em saúde. O HIA pode atuar como catalisador para o envolvimento intersectorial ⁽⁴⁾ dando corpo à abordagem *whole-of-governance* e ao conceito de «Saúde em Todas as Políticas» reforçadas no Plano Nacional de Saúde 2012-2016, com extensão a 2020 – o documento estratégico português em matéria de Saúde ⁽⁵⁾.

No âmbito do Acordo de Colaboração Bienal (BCA) entre a Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Ministério da Saúde de Portugal, o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) deu início a um programa de treino em HIA. Através do seu Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não-Transmissíveis (DPSDNT), tem vindo a desenvolver diversas atividades nesta área, de forma a contribuir para o desenvolvimento da capacitação dos profissionais de saúde e de outros setores, nos vários níveis de intervenção.

_Objetivos

O programa de treino em HIA pretende:

1. Desenvolver competências técnicas, instrumentos e métodos para analisar as desigualdades em saúde e o impacto de intervenções dos vários setores na saúde da população.
2. Realizar três estudos piloto em áreas relevantes segundo a metodologia HIA, através da abordagem *learn by doing* (LBD).
3. Produzir um guia/kit de ferramentas de HIA, validado para o contexto português, a partir desta experiência.

_Material e métodos

Utilizando a metodologia do HIA, distribuída em quatro fases, um grupo de 30 participantes, profissionais de vários setores, participam neste programa de treino em HIA, coordenado pelo INSA.

Parte deste programa de treino passa pela execução de três estudos-piloto, através de uma abordagem LBD, com acompanhamento técnico da OMS à distância, via videoconferência, e presencial. Cada grupo de trabalho conta com cerca de dez participantes. Neste exercício, as ferramentas utilizadas em cada uma das fases foram adaptadas do *Health Impact Assessment Guidance*, produzido pelo Instituto de Saúde Pública irlandês (6).

_Resultados

O programa de treino em HIA obteve até agora os seguintes resultados:

1) Workshops

O primeiro “Workshop em Health Impact Assessment”, realizou-se em novembro de 2017. Contou com um seminário onde se introduziram os principais conceitos e métodos de implementação. Na sua sequência, durante o segundo dia de trabalho, um grupo mais restrito de participantes deu início a três estudos piloto, com o acompanhamento técnico da OMS. No último dia do evento, teve lugar um Policy Dia-

logue (PD), de forma a promover o alinhamento e obtenção de consensos em torno desta temática, que contou com a presença de representantes de vários setores.

Em janeiro de 2019, o Workshop “Health Impact Assessment Piloting in Portugal” reuniu os participantes dos três grupos e os peritos da OMS, para discutir aspetos técnicos inerentes ao decurso dos exercícios piloto, nomeadamente no que concerne à participação empenhada dos *stakeholders*, à garantia de qualidade e ao papel desta metodologia no processo de comunicação e tomada de decisão política. Apresentou-se como uma oportunidade para discutir os métodos e opções adotadas pelos vários grupos de trabalho, no sentido de reorientar esforços para a apresentação das conclusões dos estudos em curso.

2) Estudos-Piloto

Estão em curso três estudos piloto, com enfoque na equidade, sobre os seguintes tópicos:

- Rotulagem alimentar
- Redução gradual da quantidade de sal (sódio) no pão
- Solos contaminados

Os estudos propõem-se aferir os potenciais impactos decorrentes de propostas sobre os tópicos selecionados, na saúde da população. Durante todo o programa, os grupos produziram relatórios intercalares, produtos das diferentes fases do HIA, e apresentaram outros produtos em conferências nacionais e internacionais.

3) Policy Brief

Na sequência do Policy Dialogue produziu-se e publicou-se um *Policy Brief* (7). Trata-se de um documento que pretende fazer um resumo conciso da problemática em causa e recomendações para a ação. Destina-se a decisores políticos e outras partes interessadas que têm influência na formulação de políticas.

Transversalmente, durante o decurso de todo o programa de treino, foram realizadas diversas reuniões e seminários à distância, com recurso a videoconferência com a OMS no sentido de orientar tecnicamente os estudos-piloto.

_Discussão

A abordagem LBD contribuiu para o reforço da colaboração interinstitucional e o fomento de proximidade intersectorial. Os participantes adotaram estratégias inovadoras para contornar dificuldades enfrentadas.

Reconhece-se que persiste a necessidade de formação/melhoria contínua em áreas específicas especialmente no acesso, recolha, análise e qualidade de dados. Outra dificuldade enfrentada pelos grupos de trabalho foi a fragmentação dos sistemas de informação, evidenciando a necessidade de compromisso entre a institucionalização do HIA e a esfera de decisão política.

A ausência de *guidelines* técnicas, adaptadas ao contexto nacional, reforçam a necessidade de reflexão metodológica acerca desta experiência com o propósito de criar um documento de natureza prática, com ferramentas que estejam adaptadas à realidade nacional, contribuindo assim para a consolidação de um modelo português. No PD, os vários especialistas nacionais e internacionais presentes reconheceram e defenderam a importância de criar e adotar um glossário comum. A criação do Guia nacional, em construção, poderá dar resposta a estas lacunas.

_Conclusões

A experiência nacional, no curso deste programa de treino, capacitou os profissionais e as instituições que representam, para utilizarem o HIA como uma ferramenta promotora da melhor evidência para alimentar a decisão política e reduzir as desigualdades em saúde, incrementando a consideração da saúde em todas as políticas e o envolvimento de outros ministérios que tenham políticas setoriais com impacto na saúde.

A adoção da diretiva 2014/52/EU tornou obrigatório que a avaliação de impacto ambiental deve identificar, descrever e avaliar, os efeitos significativos, diretos e indiretos, de um projeto sobre vários fatores, entre eles, a *população e saúde humana*. Esta iniciativa e a aprovação da nova Lei da Saúde Pública, que determina que a aprovação de medidas legislativas, com impacto relevante na área da saúde, deve ser pre-

cedida de estudos prévios, constituem um novo impulso e uma oportunidade ao desenvolvimento e à implementação do HIA em Portugal.

No entanto, mantém-se a necessidade da assunção de um compromisso intersectorial para a institucionalização do HIA em Portugal, como ferramenta de apoio à decisão e de resposta aos compromissos transposto com a Diretiva 2014/52/EU.

Agradecimentos

Trabalho desenvolvido no âmbito do Programa de Treino em Health Impact Assessment nos termos do Acordo de Colaboração Bial (BCA) entre a Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Ministério da Saúde de Portugal, coordenado pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA).

Referências bibliográficas:

- (1) Breeze, C. H, Lock, Karen & World Health Organization. Regional Office for Europe. (2001). *Health impact assessment as part of strategic environmental assessment: a review of health impact assessment concepts, methods and a practice to support the development of a protocol on strategic environmental assessment to the Espoo Convention, which adequately covers health impacts*. Edited by C.H Breeze and K. Lock. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe.
- (2) Caldas de Almeida et al. (2018). *Pilot study reduction of salt (sodium) in bread and its contribution to the decrease of cardiovascular diseases health impact assessment of the introduction of new legislation – Screening report*. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa.
- (3) European Centre for Health Policy. (1999). *Health impact assessment – main concepts and suggested approach (Gothenburg consensus paper)*. World Health Organization Regional Office for Europe: Brussels.
- (4) Harris-Roxas BF.; Harris PJ. (2007). *Learning by doing: the value of case studies of health impact assessment*. N S W Public Health Bull. Sep-Oct;18(9-10):161-3.
- (5) Ministério da Saúde. (2015). *Plano Nacional de Saúde 2012-2016, com extensão a 2020*. Lisboa, Portugal.
- (6) Metcalfe, O.; Higgins, C.; Lavin, T. (2009). *Health Impact Assessment Guidance*. Institute of Public Health in Ireland. Dublin, Ireland.
- (7) World Health Organization and National Institute of Health Doutor Ricardo Jorge. (2018). *Health impact assessment (HIA) and health in environmental assessments-enhancing HIA practice in Portugal*. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe.

A importância dos Inquéritos de Base populacional: uma revisão descritiva do contributo do Inquérito Nacional de Saúde para a produção de evidência científica e do potencial contributo para a tomada de decisão

The importance of Population Based Surveys: a descriptive review of the Portuguese National Health Survey's contribution to the production of scientific evidence and the potential contribute to decision making

Mariana Neto, Joana Santos

mariana.neto@insa.min-saude.pt

Departamento de Epidemiologia (DEP), Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

_Resumo

O Inquérito Nacional de Saúde é um instrumento de observação por excelência, que conta atualmente com seis edições. O presente estudo, que tem como objetivo caracterizar o contributo das várias ondas do INS português para produção de artigos científicos em revistas com revisão por pares indexadas na base de dados Medline, e para o seu potencial de utilização no planeamento em saúde, permitiu identificar 32 artigos. Os temas abordados foram muito variados, indo desde a área económica a áreas estritamente clínicas, passando por áreas alvo de rastreios, pela saúde dos profissionais de saúde e ao recurso a medicinas alternativas, por exemplo. A análise semi-qualitativa realizada permitiu verificar que as publicações tem potencial para contribuir com informação para os eixos do Plano Nacional de Saúde "Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde" (50%), "Políticas Saudáveis" (25%) e "Qualidade em Saúde" (25%) e para os objetivos "Obter Ganhos em Saúde" (34%), "Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida" (56%) e "Reforçar o Suporte Social e Económico na Saúde e na Doença" (9%). Foram identificados 3 grupos homogéneos de publicações: o grupo de maior dimensão estava relacionado com publicações na área clínica, outro com publicações em áreas relacionadas com a Saúde Pública e um terceiro com publicações em áreas de características mistas.

_Abstract

The National Health Survey is an observational instrument par excellence, which currently has six waves. This study aims to characterize the contribution of all the waves of the Portuguese INS to the production of scientific articles in peer-reviewed journals indexed in the Medline database as well as its potential for use in health planning. Thirty-two articles were identified. The analysis showed that the topics covered were very broad, ranging from the economic area to strictly clinical areas, targeting screening areas, the health of health professionals and the use of alternative medicines. Publications were found to have the potential to contribute to the National Health Plan main axis as follows: first, "Equity and Adequate Access to Health Care" (50%), followed by "Healthy Policies" (25%) and "Quality in Health" (25%). Regarding the objectives, articles were mainly contributing to "Promoting Health-Friendly Life-Cycle Contexts" (56%), "Health Gains" (34%) and "Strengthening Social and Economic Support in Health and Disease" (9%) objectives. Three

homogeneous groups of publications were identified: the largest group was related to publications in the clinical area, another to publications in areas related to Public Health and a third to publications in areas of mixed characteristics.

Keywords: Inquérito Nacional de Saúde, planeamento em saúde.

_Introdução

Embora não seja possível indicar uma data precisa para a realização do primeiro inquérito de saúde de base populacional, foram os problemas de saúde pública associados à pobreza e à migração para as cidades, ocorrida durante a revolução industrial, que motivaram as primeiras experiências neste campo. Os inquéritos modernos, baseados em métodos rigorosos de amostragem probabilística, só começaram a ser realizados após a Segunda Guerra Mundial nos Estados Unidos e na Grã-Bretanha, neste último caso motivados pelas necessidades de planeamento do Serviço Nacional de Saúde (NHS) (Johnson 2014).

Foram também as necessidades crescentes de informação de saúde decorrentes da criação e organização do Serviço Nacional de Saúde português (SNS) que, em larga medida, deram origem à realização do primeiro Inquérito Nacional de Saúde (INS) em 1987.

De então para cá, o INS teve mais cinco edições, ou vagas, tendo os detalhes da sua evolução sido amplamente descritos por Dias (Dias 2009).

De salientar que todas as edições resultaram de uma estreita colaboração entre o Instituto Nacional de Estatística e as es-

truturas do Ministério da Saúde, incluindo o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, mas dois marcos devem ser referidos:

- O 4º INS, realizado em 2005/2006, foi o primeiro a ter âmbito nacional, por incluir as Regiões Autónomas dos Açores e da Madeira;
- O 5º INS, realizado em 2014, foi o primeiro a ser realizado em conjunto com o Inquérito Europeu de Saúde por Entrevista e em que parte da recolha de dados foi feita via *web*;

Estes inquéritos mantêm um conjunto de questões idênticas nas várias edições, o que permite estabelecer comparações entre os vários momentos de observação em relação a amostras representativas da população do País.

Os INS são instrumentos de observação por excelência e a informação que disponibilizam é fundamental para manter atualizado o conhecimento do estado de saúde da população, para a tomada de decisão e para o planeamento em saúde baseados na evidência científica.

Estando atualmente a decorrer a 6ª vaga do INS, importa fazer um balanço da utilização da informação disponibilizada pelo instrumento. A maior parte é feita sob a forma de relatórios setoriais e regionais e, portanto, internos aos serviços e não inteiramente acessíveis. Estes dados são também utilizados com frequência na área académica, na elaboração de teses de mestrado e doutoramento, os quais também nem sempre se encontram disponíveis.

Em alternativa, a publicação em revistas indexadas e com revisão por pares constituirá uma pequena parte, porém significativa devido à qualidade científica inerente, da utilização dos dados recolhidos pelo INS.

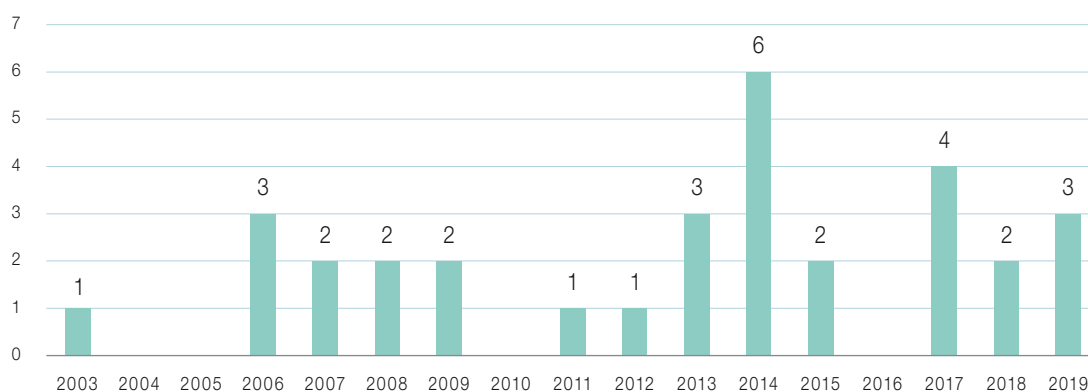
O presente estudo tem como objetivo a caracterização do contributo das várias ondas do INS para a produção de artigos científicos em revistas com revisão por pares e indexadas na base de dados Medline, e compreender o seu contributo potencial para os eixos estratégicos do Plano Nacional de Saúde (PNS), bem como para os respetivos objetivos.

_ Métodos

O primeiro passo consistiu numa revisão da literatura publicada na base de dados Medline, via PubMed, usando os termos genéricos de pesquisa “national health survey” e “Portugal” ou “Portuguese” nos títulos e resumos dos artigos, sem distinção da língua de publicação e sem limite de data. Os 40 artigos identificados foram alvo de uma seleção mais específica, tendo sido eliminados todos os casos em que os dados do INS, independentemente do ano de recolha, não tivessem sido usados. Foram assim retidos 32 artigos, os quais foram posteriormente classificados em relação ao tema de análise, à afiliação dos autores, à edição do INS a que diziam respeito, à área específica de publicação de acordo com a classificação *Scimago Journal & Country Rank* (SCImago 2016), assunto principal do estudo, eixos estratégicos do PNS (Cidadania em Saúde; Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde; Qualidade em Saúde; Políticas Saudáveis) e objetivos (Obter Ganhos em Saúde; Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida; Reforçar o Suporte Social e Económico na Saúde e na Doença; Fortalecer a Participação de Portugal na Saúde Global) para que possam ter contribuído. Esta classificação foi feita de forma independente pelas duas autoras e posteriormente consensualizadas as diferenças.

Num segundo passo foi realizada uma revisão descritiva (Paré *et al.* 2015) e posteriormente, uma análise de *clusters* em duas etapas (*two-step cluster analysis*), de modo a identificar grupos similares de estudos em relação às variáveis área de publicação, eixo do PNS e objetivo do PNS. A melhor solução foi determinada pelo critério de Akaike e a qualidade do ajustamento do modelo, pela medida da silhueta de coesão e separação (Dimitriadou, Dolničar, and Weingessel 2002). Foi usado o *software* SPSS versão 25 (IBM Corp 2017).

Figura 1: Inquérito Nacional de Saúde em Portugal: número de artigos publicados, por ano de publicação.



_Resultados

A revisão dos artigos ([Tabela 1](#)) mostra que a primeira publicação com dados do INS ocorreu em 2003, baseada nos dados do 3º INS (1998-99). Foram publicados 10 (31%) artigos até 2009 e os restantes 22 (69%) a partir de 2011, com um pico em 2014 ([Figura 1](#)).

Não houve utilização de dados do 1º INS e do segundo, apenas num estudo comparativo. Em 22% das publicações foram usados dados do 3º INS, em 56% do 4º e em 19% do 5º INS. Os artigos foram publicados em inglês (84 %), português (13 %) e francês (3 %).

Em relação à afiliação dos autores, as instituições universitárias surgem em primeiro lugar com 81% das publicações, distribuídas por instituições de Lisboa (n=7), Porto (n=15), Coimbra (n=1), Coimbra e Aveiro (n=1), Minho (n=1). Em cinco casos registaram-se colaborações entre a universidade e hospitais (n=3) e cuidados primários. Num caso, houve colaboração com uma universidade espanhola.

Nos restantes casos (19%), um artigo tinha como afiliação dos autores uma entidade hospitalar, outro, uma organização não-governamental e em 3, uma entidade pública de saúde não pertencente ao SNS (INSA).

Em relação às áreas de publicação, 44% (n=14) dos artigos foram publicados em revistas médicas clínicas, 34% (n=11) em revistas de saúde pública, 6% (n=2) em revistas de políticas de saúde e os restantes 16% (n=5) em demografia e alimentação e nutrição.

Os temas principais de análise variaram bastante, indo do estudo do uso de medicinas alternativas ao cancro ([Quadro 1](#)), por exemplo.

Após classificação independente e consensualização, considerou-se que a informação produzida constituía contributo potencial para os Eixos do PNS “Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde” (50%), “Políticas Saudáveis” (25%) e “Qualidade em Saúde” (25%). Os objetivos envolvidos seriam “Obter Ganhos em Saúde” (34%), “Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida” (56%) e “Reforçar o Suporte Social e Económico na Saúde e na Doença” (9%).

O estudo de *clusters* em duas etapas revelou a existência de 3 *clusters* de diferentes dimensões ([Quadro 2](#)). Os três fatores considerados apresentaram um coeficiente de silhueta de coesão e separação de 0.6, indicativo de uma boa partição dos dados.

O primeiro *cluster* envolve publicações na área da Saúde Pública, com contributos prováveis para o eixo Equidade e para o objetivo Promoção de contextos; o segundo *cluster* tem um carácter misto com publicações na área Clínica e em Saúde Pública, com contributos para o eixo Qualidade em Saúde e para o objetivo de Obtenção de Ganhos em Saúde; o terceiro *cluster*, de maior dimensão, envolve maioritariamente publicações na área Clínica, com contributos para o eixo Equidade e para o objetivo Promoção de contextos.

Quadro 1: Artigos indexados na base de dados bibliográficos da Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos da América (Medline) em que são analisados dados do Inquérito Nacional de Saúde português e respetivo contributo para os eixos e objetivos do Plano Nacional de Saúde. Consulta realizada em 20 de outubro de 2019.

Autores e ano de publicação*	Área científica de publicação	Edição INS	Tema principal do estudo	Objetivo	Eixo PNS	Objetivo PNS
Giraldes 2003	Saúde pública, Saúde Ambiental e Ocupacional	3	Seguros de saúde	Caracterizar a procura de seguros privados de saúde	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Reforçar o Suporte Social e Económico na Saúde e na Doença
Marques-Vidal e Dias 2006	Farmacologia, Epidemiologia	3	Consumo de medicamentos	Caracterizar a prevalência do consumo de hipnóticos e fatores relacionados.	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Obter Ganhos em Saúde
Marques-Vidal, Gonçalves e Dias 2006	Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo	3	Obesidade	Estudar a relação entre o consumo de leite e o índice de massa corporal	Políticas Saudáveis	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Marques-Vidal P, Gonçalves e Dias, 2006	Imunologia	3	Obesidade	Estudar a associação entre obesidade e asma	Qualidade em Saúde	Obter Ganhos em Saúde
Padrão et al. 2007	Saúde pública, Saúde Ambiental e Ocupacional	3	Estilos de vida	Comparar o consumo alimentar e de álcool de acordo com a condição de fumador	Políticas Saudáveis	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Fronteira e Biscaia 2007	Demografia médica, profissionais de saúde	3	Profissionais de saúde	Caracterizar os padrões de morbidade e de saúde e a relação com a utilização de serviços de saúde por profissionais da saúde	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Veiga 2008	Saúde e ciências sociais	2 e 3	Obesidade	Estimar a fração nacional de custos <i>out-of-pocket</i> atribuível à obesidade e sobrepeso na população.	Políticas Saudáveis	Obter Ganhos em Saúde
Camões e Lopes 2008	Saúde pública, Saúde Ambiental e Ocupacional	3	Exercício físico	Analisar a associação entre os fatores sociodemográficos, comportamentos e diferentes tipos de atividade física	Políticas Saudáveis	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
De Almeida e Falcão 2009	Medicina	4	Surdez	Estudar a prevalência de surdez autoreportada	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Machado et al. 2009	Medicina respiratória	4	Tabaco	Caracterização epidemiológica do consumo de tabaco	Políticas Saudáveis	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Domingos e Serra 2011	Medicina, nefrologia, transplantação	4	Doenças crónicas	Associação entre nefrolitíase doenças cardiovasculares, diabetes e obesidade	Qualidade em Saúde	Obter Ganhos em Saúde
Perelman, Fernandes e Mateus 2012	Saúde pública, Saúde Ambiental e Ocupacional	4	Determinantes	Investigar as diferenças entre homens e mulheres na saúde e cuidados de saúde	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Dourado, Carreira e Lunet 2013	Saúde pública, Saúde Ambiental e Ocupacional	4	Saúde da mulher	Descrever os padrões de rastreio do cancro da mama	Qualidade em Saúde	Obter Ganhos em Saúde
Alves et al. 2013	Medicina	4	Migrantes	Comparar a saúde dos migrantes portugueses na Suíça com a saúde dos portugueses residentes em Portugal	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Ribeiro, Furtado, e Pereira 2013	Cardiologia e medicina cardiovascular	4	Doença cardiovascular	Distribuição da doença cardiovascular de acordo com a situação económica	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Laires e Gouveia 2014	Reumatologia, imunologia	4	Doenças reumáticas	Associação entre doenças reumáticas e outras doenças crónicas com reforma precoce	Políticas Saudáveis	Reforçar o Suporte Social e Económico na Saúde e na Doença

* As publicações estão assinaladas com * na bibliografia.

artigos breves_ n. 2

Autores e ano de publicação*	Área científica de publicação	Edição INS	Tema principal do estudo	Objetivo	Eixo PNS	Objetivo PNS
Oliveira M, Peleteiro B 2014	Saúde pública, Saúde Ambiental e Ocupacional	4	Saúde da mulher	Determinantes da não utilização ou subutilização da citologia vaginal.	Qualidade em Saúde	Obter Ganhos em Saúde
Tavares 2014	Saúde pública, Saúde Ambiental e Ocupacional		Atividade física	Relação entre escolhas saudáveis, dieta e atividade física	Políticas Saudáveis	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Pacheco-Figueiredo e Lunet 2014	Oncologia	4	Cancro	Comparar os sobreviventes ao cancro com a população geral no que respeita ao estado de saúde, utilização de recursos da saúde e situação sócio-económica	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Reforçar o Suporte Social e Económico na Saúde e na Doença
Perelman 2014	Saúde e ciências sociais	4	Doenças crónicas	Associação entre altura e doenças crónicas e em que medida a relação é mediada pelo nível educacional	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Alvares e Amaral 2014	Ciência da alimentação, nutrição e dietética	4	Insegurança alimentar	Avaliar a frequência da insegurança alimentar e características da população associadas	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Barros et al. 2015	Imunologia e alergia	4	Asma	Associação entre os padrões dietéticos e a prevalência, incidência e controlo da asma.	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Obter Ganhos em Saúde
Tavares 2015	Políticas de saúde	4	Medicinas não convencionais	Testar as relações entre medicina convencional e alternativa nas fases de diagnóstico e tratamento e estimar os determinantes da escolha de medicações não convencionais	Qualidade em Saúde	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Simões et al. 2017	Reumatologia	4	Doenças crónicas	Contributo das doenças reumatológicas e musculoesqueléticas para o total de doenças crónicas.	Qualidade em Saúde	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Barros et al. 2017	Medicina, nutrição e dietética	4	Obesidade	Associação entre obesidade e a prevalência, incidência e gravidade da asma.	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Obter Ganhos em Saúde
Santos et al. 2017	Medicina	4	Diabetes	Descrever as desigualdades socio-económicas na distribuição da diabetes	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Chkotua e Peleteiro 2017	Política de Saúde, Saúde pública, Saúde Ambiental e Ocupacional	4	Saúde da mulher	Compreender os padrões de utilização da mamografia	Qualidade em Saúde	Obter Ganhos em Saúde
Simões et al. 2018	Reumatologia	4	Doenças crónicas	Quantificar o impacte populacional das doenças reumáticas e músculo-esqueléticas em conjunto com outras doenças crónicas	Políticas Saudáveis	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Laires e Perelman 2018	Geriartria, gerontologia	5	Doenças crónicas	Avaliar a associação da multimorbilidade com o estado de saúde, capacidade funcional e utilização de serviços de saúde.	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Obter Ganhos em Saúde
Moura e Martins 2019	Saúde pública, Saúde Ambiental e Ocupacional	5	Migrantes	Identificar os fatores sociodemográficos e relacionados com a migração e acesso a cuidados de saúde com a cobertura da vacinação antitetânica em migrantes.	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Shaaban, Morais, e Peleteiro 2019	Saúde pública, Saúde Ambiental e Ocupacional	5	Migrantes	Identificar barreiras e diferenças na utilização de serviços de saúde entre migrantes	Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida
Rukhadze, Lunet, e Peleteiro 2019	Obstetricia e ginecologia	5	Saúde da mulher	Compreender os padrões de utilização das citologias cervicais	Qualidade em Saúde	Obter Ganhos em Saúde

* As publicações estão assinaladas com * na bibliografia.

Quadro 2: Identificação de grupos similares de artigos por análise de *clusters* em duas etapas (*two step cluster analysis*).

	Cluster 1 Saúde Pública (n=9; 28%)	Cluster 2 Misto (n=7; 22%)	Cluster 3 Clínica (n=16; 50%)
	n (%)	n (%)	n (%)
Área de publicação			
Clínica	0 (0)	3 (43)	11 (69)
Políticas de Saúde	1 (11)	1 (14)	0 (0)
Saúde Pública	8 (89)	3 (43)	0 (0)
Outra	0 (0)	0 (0)	5 (31)
Eixo do PNS			
Equidade e Acesso adequado aos Cuidados de Saúde	5 (56)	0 (0)	11 (69)
Políticas Saudáveis	3 (33)	1 (14)	4 (25)
Qualidade em Saúde	1 (11)	6 (86)	1 (6)
Objetivo do PNS			
Obter Ganhos em Saúde	0	7 (100)	4 (25)
Promover Contextos Favoráveis à Saúde ao Longo do Ciclo de Vida	8 (89)	0 (0)	10 (63)
Reforçar o Suporte Social e Económico na Saúde e na Doença	1 (11)	0 (0)	2 (13)

Discussão e conclusões

O potencial de utilização do INS ficou amplamente demonstrado nesta breve revisão descritiva, apesar de se tratar de uma pesquisa limitada a uma única base de dados bibliográfica.

A larga abrangência dos temas pesquisados permitiu o estudo de áreas muito diversificadas da saúde, bem como combinações múltiplas e o estudo da evolução de fenómenos e comportamentos na população.

Como seria de esperar, o interesse das instituições académicas foi maioritário. Não podemos deixar de assinalar que esse interesse, em alguns casos, se associou ao interesse de unidades hospitalares e de cuidados de saúde primários, o que permite inferir o potencial de uma cooperação frutuosa entre o meio académico e a prestação de cuidados. Fora da área académica, apenas uma unidade hospitalar e uma ONG produziram artigos isolados. O caso INSA é um caso particular, dado ser a entidade promotora do INS desde a 4ª vaga.

Os grupos identificados pela análise de *clusters* ilustram de forma muito clara o potencial de informação que o INS constitui, ao contribuir para a informação com interesse tanto para áreas clínicas como de saúde pública.

Sendo uma fonte de dados ampla e fidedigna pode colocar-se a questão de qual a razão de não haver uma maior utilização no plano de produção científica. A utilização de amostras complexas poderá ter constituído uma barreira na medida em que envolve técnicas específicas e de análise que só recentemente passaram a ser incluídos nos *softwares* mais frequentemente utilizados. Por outro lado, uma divulgação insuficiente junto dos serviços de saúde poderá também justificar uma aparente menor utilização por entidades mais diretamente ligadas à prestação de cuidados e de Saúde Pública.

Conclusões e recomendações

- 1) O potencial dos inquéritos de base populacional, de observação e monitorização em saúde é muito vasto, mas ainda está por explorar;
- 2) A sua utilização é maioritariamente académica, apesar de se tratar de um instrumento que pode apoiar no planeamento em saúde a nível local e regional;
- 3) Neste sentido, seria útil compreender os motivos aliados à sua aparente pouca utilização por parte dos serviços de planeamento em saúde;
- 4) A sua contribuição para a elaboração do PNS pode ser maximizada;
- 5) A disponibilização de dados do INS deverá ser acompanhada de ampla divulgação e poderão ser organizadas ações de formação específicas para a análise de dados de dados provenientes de amostras complexas;
- 6) O presente estudo deverá ser alargado a outras bases de dados bibliográficas, aos repositórios académicos e aos serviços de saúde, através de um inquérito específico.

Referências bibliográficas:

- * Alvares, L., Amaral, T.F., 2014. Food insecurity and associated factors in the Portuguese population. *Food Nutr. Bull.* <https://doi.org/10.1177/156482651403500401>
- * Alves, L., Azevedo, A., Barros, H., Paccaud, F., Marques-Vidal, P., 2013. Portuguese Migrants in Switzerland: Healthcare and Health Status Compared to Portuguese Residents. *PLoS One.* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077066>
- * Barros, R., Moreira, A., Padrão, P., Teixeira, V.H., Carvalho, P., Delgado, L., Lopes, C., Severo, M., Moreira, P., 2015. Dietary patterns and asthma prevalence, incidence and control. *Clin. Exp. Allergy.* <https://doi.org/10.1111/cea.12544>
- * Barros, R., Moreira, P., Padrão, P., Teixeira, V.H., Carvalho, P., Delgado, L., Moreira, A., 2017. Obesity increases the prevalence and the incidence of asthma and worsens asthma severity. *Clin. Nutr.* <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2016.06.023>
- * Camões, M., Lopes, C., 2008. [Factors associated with physical activity in the Portuguese population]. *Rev. Saude Publica.* <https://doi.org/10.1590/S0034-89102008000200004>
- * Chkotua, S., Peleteiro, B., 2017. Mammography Use in Portugal: National Health Survey 2014. *Prev. Chronic Dis.* <https://doi.org/10.5888/pcd14.170054>
- * de Almeida, S.P., Falcão, J.M., 2009. Self-reported hearing-loss in the Portuguese population: Evidence from the 4 th National Health Survey. *Acta Med. Port.* <https://doi.org/10.20344/amp.1702>
- Dias, Carlos Matias. 2009. "25 Anos de Inquérito Nacional de Saúde Em Portugal." *Revista Portuguesa de Saúde Pública.*
- Dimitriadou, Evgenia, Sara Dolničar, and Andreas Weingessel. 2002. "An Examination of Indexes for Determining the Number of Clusters in Binary Data Sets." *Psychometrika.*
- * Domingos, F., Serra, A., 2011. Nephrolithiasis is associated with an increased prevalence of cardiovascular disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq501>
- * Dourado, F., Carreira, H., Lunet, N., 2013. Mammography use for breast cancer screening in Portugal: Results from the 2005/2006 National Health Survey. *Eur. J. Public Health* 23, 386–392. <https://doi.org/10.1093/eurpub/cks103>
- * Fronteira, I., Biscaia, A., 2007. The health status of Portuguese healthcare professionals. *Cah Sociol Demogr Med.* 47, 361–375.
- * Giraldes, M. do R., 2003. Private health insurance in Portugal: a comparative analysis of the National Health Surveys, 1995-1996 and 1998-1999. *Cad. saúde pública / Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Esc. Nac. Saúde Pública.* <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2003000100029>
- IBM Corp. 2017. "IBM Corp." IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Johnson, Timothy P. 2014. *Handbook of Health Survey Methods.*
- * Laires, P.A., Gouveia, M., 2014. Association of rheumatic diseases with early exit from paid employment in Portugal. *Rheumatol. Int.* <https://doi.org/10.1007/s00296-014-2948-8>
- * Laires, P.A., Perelman, J., 2018. The current and projected burden of multimorbidity: a cross-sectional study in a Southern Europe population. *Eur. J. Ageing.* <https://doi.org/10.1007/s10433-018-0485-0>
- * Machado, A., Nicolau, R., Dias, C.M., Jorge, R., Falcão, J.M., 2009. Tobacco consumption by the portuguese population. Data from the 2005–2006 National Health Survey. *Rev. Port. Pneumol. (English Ed.)* [https://doi.org/10.1016/s2173-5115\(09\)70166-6](https://doi.org/10.1016/s2173-5115(09)70166-6)
- * Marques-Vidal P, Gonçalves A, D.C., 2006. Obesity and asthma in the Portuguese National Health Survey. *Allergy* 61, 1488–1489.
- * Marques-Vidal, P., Dias, C.M., 2006. Hypnotic consumption in the Portuguese population: Data from the National Health Survey 1998-1999. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* <https://doi.org/10.1002/pds.1133>
- * Marques-Vidal, P., Gonçalves, A., Dias, C.M., 2006. Milk intake is inversely related to obesity in men and in young women: Data from the Portuguese Health Interview Survey 1998-1999. *Int. J. Obes.* <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803045>
- * Moura, S., Martins, M. do R.O., 2019. Determinants of tetanus vaccination among adult immigrants: Findings from the Portuguese national health survey 2014. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* <https://doi.org/10.3390/ijerph16091619>
- * Oliveira M, Peleteiro B, L.N., 2014. Cytology use for cervical cancer screening in Portugal: results from the 2005/2006 National Health Survey. *Eur J Public Heal.* 2014 Apr;24(2)253-8. doi 24, 253–258.
- * Pacheco-Figueiredo, L., Lunet, N., 2014. Health status, use of healthcare, and socio-economic implications of cancer survivorship in Portugal: results from the Fourth National Health Survey. *J. Cancer Surviv.* <https://doi.org/10.1007/s11764-014-0370-6>
- * Padrão, P., Lunet, N., Santos, A.C., Barros, H., 2007. Smoking, alcohol, and dietary choices: Evidence from the Portuguese National Health Survey. *BMC Public Health.* <https://doi.org/10.1186/1471-2458-7-138>
- Paré, Guy, Marie Claude Trudel, Mirou Jaana, and Spyros Kitsiou. 2015. "Synthesizing Information Systems Knowledge: A Typology of Literature Reviews." *Information and Management.*
- * Perelman, J., 2014. Are chronic diseases related to height? Results from the Portuguese National Health Interview Survey. *Econ. Hum. Biol.* <https://doi.org/10.1016/j.ehb.2014.06.001>
- * Perelman, J., Fernandes, A., Mateus, C., 2012. Gender disparities in health and healthcare: results from the Portuguese National Health Interview Survey. *Cad. Saude Publica.* <https://doi.org/10.1590/s0102-311x2012001400012>
- * Ribeiro, S., Furtado, C., Pereira, J., 2013. Association between cardiovascular disease and socioeconomic level in Portugal. *Rev. Port. Cardiol. (English Ed.)* <https://doi.org/10.1016/j.repce.2013.10.025>
- * Rukhadze, L., Lunet, N., Peleteiro, B., 2019. Cervical cytology use in Portugal: Results from the National Health Survey 2014. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* <https://doi.org/10.1111/jog.13974>
- * Santos, J., Kislalya, I., Antunes, L., Santos, A.J., Rodrigues, A.P., Neto, M., Dias, C.M., 2017. Diabetes: Socioeconomic inequalities in the Portuguese population in 2014. *Acta Med. Port.* <https://doi.org/10.20344/amp.8235>
- * SCImago. 2016. "SJR - SCImago Journal & Country Rank." *SJR - SCImago Journal & Country Rank*

O Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico (INSEF) e o apoio às políticas para a prevenção e o controlo da diabetes

National Health Examination Survey (INSEF) supporting policies for diabetes prevention and control

Marta Barreto¹, Mafalda Sousa Uva², Carlos Matias Dias¹

marta.barreto@insa.min-saude.pt

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

(2) Centro de Investigação em Saúde Pública, Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa

A monitorização do estado de saúde da população bem como dos seus fatores determinantes, incluindo as populações doente e não doente, utilizadoras e não utilizadoras de cuidados de saúde, apenas deverá ser realizada através de inquéritos de base populacional. Apesar de existirem atualmente várias fontes de informação sobre o estado de saúde da população portuguesa obtidas com base em registos eletrónicos, estas apenas permitem esse conhecimento em indivíduos frequentadores dos cuidados de saúde e não da população geral.

Habitualmente estes inquéritos assentam em componentes de entrevista, onde a informação é obtida por auto-reporte, pelo que determinadas características da população poderão comportar um viés de medição (exemplo hipertensão, peso e altura, consumo de tabaco). Assim, a conjugação da informação auto-reportada com informação objetiva obtida por exame físico ou análises laboratoriais a produtos biológicos aumenta significativamente a validade interna destes indicadores de saúde, bem como a utilidade desta informação na tomada de decisão em saúde pública.

O Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico (INSEF) consiste na avaliação do estado de saúde da população Portuguesa através de um inquérito com componentes de exame físico, entrevista geral de saúde e colheita de amostras de sangue para análises clínicas e constituição de um biobanco (1). Tal inquérito foi realizado de acordo com os procedimentos do Inquérito Europeu com Exame Físico, o que permite uma harmonia na recolha de informação em saúde em vários países europeus (2). Neste contexto, o INSEF é instrumental para o desenvolvimento de planos e políticas de saúde em Portugal e na Europa.

Um exemplo de um indicador de saúde cuja frequência foi estimada através do INSEF é a diabetes. O INSEF estimou, em 2015, que a prevalência de diabetes na população residente em Portugal, com idades compreendidas entre os 25 e os 74 anos de idade, era 9,9%. Esta foi mais elevada no sexo masculino (12,1%) do que no feminino (7,8%) e em grupos de idade mais avançada (19% entre os 55 e os 64 anos e 23,8% entre os 65 e os 74 anos). A prevalência da diabetes era tanto menor quanto mais elevado o nível de educação, variando entre 16,5% em indivíduos com o primeiro ciclo do ensino básico ou sem qualquer escolaridade até 4,1% em indivíduos com o ensino superior. A prevalência de diabetes era menor nos indivíduos empregados (5,3%) do que nos desempregados (8,8%) ou do que nos indivíduos sem atividade profissional (20,6%). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na prevalência da diabetes entre áreas rurais e urbanas (9,8% e 9,9%, respetivamente) (3).

Em relação às pessoas com diabetes, a grande maioria era hipertensa (74,1%), possuía o colesterol elevado (76,1%), encontrava-se em excesso de peso (36,6%), era obesa (55,2%) ou tinha obesidade abdominal (94,2%)[3].

Entre os participantes do INSEF com diabetes, 87,1% haviam sido previamente diagnosticados com diabetes, enquanto 12,9% dos indivíduos desconheciam esta sua doença. De entre os indivíduos diagnosticados, 79,7% declararam tomar medicamentos antidiabéticos prescritos por um médico. No grupo das pessoas diagnosticadas com diabetes, 63,2% tinham os níveis de HbA1c controlados. No entanto, em 71,9% e 59,0%, os níveis de LDL e pressão arterial, respetivamente não estavam controlados (3).

Em relação à monitorização da glicemia, 77,7% dos indivíduos previamente diagnosticados com diabetes relataram ter realizado o seu último teste laboratorial de glicemia nos cinco meses anteriores. Um número reduzido de indivíduos diagnosticados com diabetes (4,3%) realizou o último teste laboratorial de glicemia há mais de 12 meses antes da entrevista (4).

O valor da prevalência de diabetes estimada pelo INSEF (9,9%) foi superior à estimativa mundial (8,8%) e ao valor estimado para a Europa (7,3%) (5). As estimativas do INSEF foram também superiores às estimativas de diabetes auto reportadas obtidas pelo Inquérito Nacional de Saúde por entrevista em 2014 (9,9% vs 8,8%) (6), apoiando a necessidade dos inquéritos de saúde com exame físico para a obtenção de estimativas com maior validade, através dos quais os parâmetros de saúde são avaliados de forma objetiva e não auto reportados, necessários ao planeamento de programas de saúde.

A prevalência de diabetes estimada através do INSEF (9,9%) foi menor do que a prevalência encontrada pelo estudo PREVADIAB de 2010 (11,7%), sublinhando-se que ambas apontam consistentemente para uma elevada prevalência de diabetes em Portugal (7).

Atualmente, verifica-se a existência de um programa nacional de saúde prioritário especificamente dedicado à diabetes, o qual possibilitou a melhoria do diagnóstico de diabetes através do rastreio de grupos com maior risco de desenvolver diabetes e formação específica de profissionais dos cuidados primários de saúde (8). Os resultados obtidos pelo INSEF relativos à prevalência de diabetes inserem-se no âmbito desse programa e visam melhorar o planeamento em saúde e o estabelecimento de metas que possam, de futuro, ser monitorizadas através de inquéritos de base populacional.

Importa, por isso, criar as condições para realizar o INSEF com a periodicidade desejável de cerca 5 anos, mantendo a sua base populacional e amostragem probabilística e representativa a nível regional. Assim poderemos dispor dos indicadores necessários à monitorização e avaliação das

medidas implementadas, clínicas e de saúde pública, e dispor dos dados e materiais biológicos para desenvolver investigação nesta matéria que apoie a tomada de decisão.

Referências bibliográficas:

- (1) Nunes B, Barreto M, Gil AP, et al. The first Portuguese National Health Examination Survey (2015): design, planning and implementation. *J Public Health (Bangkok)* 2018; 1–7.
- (2) Tolonen H. EHES Manual Part B. Fieldwork Procedures. *Helsinki Natl Inst Heal Welf* 2013.
- (3) Barreto M, Kislaya I, Gaio V, et al. Prevalence, awareness, treatment and control of diabetes in Portugal: Results from the first National Health examination Survey (INSEF 2015). *Diabetes Res Clin Pract* 2018; 140.
- (4) Barreto M, Kislaya I, Gaio V, et al. Prevalence, awareness, treatment and control of diabetes in Portugal: Results from the first National Health examination Survey (INSEF 2015). *Diabetes Res Clin Pract* 2018; 140: 271–8.
- (5) International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas Eighth Edition 2017.*, 2017.
- (6) Instituto Nacional de Estatística. *Inquerito Nacional de Saúde 2014*. Lisboa: INE, 2016.
- (7) Gardete-Correia L, Boavida JM, Raposo JF, et al. First diabetes prevalence study in Portugal: PREVADIAB study. *Diabet Med* 2010; 27: 879–81.
- (8) Direção Geral da Saúde. *Programa Nacional para a prevenção e controlo da diabetes*. Lisboa, 2008.

Oito anos de consumo de bebidas açucaradas em crianças Portuguesas dos 6 aos 8 anos de idade: COSI Portugal 2008 – 2016

Eight years of sugar-sweetened beverages consumption among Portuguese children aged 6 to 8 years old: COSI Portugal 2008 – 2016

Sofia Mendes¹, Margarida Bica¹, Joana Baleia¹, Francisco Goiana-da-Silva^{2,3}, Ana Rito^{1,4}

ana.rito@insa.min-saude.pt

(1) Centro de Estudos e Investigação em Dinâmicas Sociais e Saúde (CEIDSS), Lisboa, Portugal.

(2) Centre of Health Policy, Institute of Global Health Innovation, Imperial College of London, Londres, Reino Unido.

(3) Liderança e Gestão de Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal.

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

_Resumo

A obesidade é uma das doenças mais prevalentes entre as crianças portuguesas e, neste contexto, o consumo de bebidas açucaradas é apontado como um dos fatores que pode contribuir para o ganho ponderal em crianças. Estudos sugerem que a disponibilidade destas bebidas está a aumentar e, em Portugal, 22% das crianças com idade inferior a 10 anos consome pelo menos uma bebida açucarada por dia. O presente trabalho pretendeu avaliar o consumo de bebidas açucaradas em crianças e a sua disponibilidade nas escolas do 1º Ciclo do Ensino Básico entre 2008 e 2016. Dados da primeira e quarta ronda (2008 e 2016) do estudo COSI Portugal, referentes à frequência de consumo alimentar e à disponibilidade de bebidas açucaradas no ambiente escolar, foram obtidos e comparados através da análise descritiva dos Questionários Família e Escola. Apesar da prevalência de excesso de peso infantil (incluindo obesidade) em Portugal ter diminuído significativamente de 37,9% em 2008 para 30,7% em 2016, os resultados obtidos revelaram um aumento do consumo de bebidas açucaradas em crianças de 66,4% em 2008 para 80,1% em 2016. Também a disponibilidade destas bebidas nos recintos escolares aumentou neste período. Deste modo, este trabalho reflete a necessidade de monitorização contínua, tanto do estado nutricional como do consumo alimentar infantil, de forma a adaptar e/ou criar estratégias que incentivem a adoção de hábitos alimentares saudáveis.

_Abstract

Obesity is one of the most prevalent diseases among Portuguese children and one of the factors that may lead to weight gain during childhood is the intake of sugar-sweetened beverages. Some studies suggest that the availability of this type of drinks is increasing. In addition, in Portugal, 22% of the children under 10 years old drink at least one sugar-sweetened beverage per day. The present study aimed to assess the intake of sugar-sweetened beverages among children and their availability on Primary Schools between 2008 and 2016. Data from the first and fourth round (2008 and 2016) of the COSI Portugal study concerning the food consumption frequency and the availability of sugar-sweetened beverages on school environment, was collected and compared through the analysis of the Family and School Questionnaires. The prevalence of overweight (including obesity) in Portugal has significantly decreased from 37,9% in 2008 to 30,7% in 2016. Nonetheless, the results showed

an increase of the consumption of sugar-sweetened beverages among children, from 66,4% in 2008 to 80,1% in 2016. The availability of these drinks also increased at school level during this period. In conclusion, the present study reflects the need of continuous monitoring, both of the children's nutritional status and food consumption, in order to adapt or create strategies that promote the adoption of healthy eating habits.

_Introdução

A obesidade é uma das doenças mais prevalentes entre as crianças portuguesas. Atualmente, uma em cada três crianças apresenta excesso de peso e uma em cada dez é obesa ⁽¹⁾.

Hábitos alimentares inadequados são dos fatores modificáveis que mais contribuem para o desenvolvimento de doenças crónicas não transmissíveis, entre estas a obesidade, constituindo um dos principais fatores de risco para a mortalidade precoce em Portugal ⁽²⁾. Neste contexto, o consumo de bebidas açucaradas tem vindo a ganhar notoriedade como um dos fatores que pode contribuir para o ganho ponderal em crianças ⁽³⁾.

Diversos estudos reforçam que o consumo deste tipo de bebidas está associado ao excesso de peso e obesidade, tanto em idade pediátrica como adulta ⁽⁴⁻⁶⁾ e, consequentemente, ao risco de desenvolvimento de doenças crónicas associadas ⁽⁷⁻¹⁰⁾, já que o elevado teor de açúcares simples presentes na sua composição conduz, por um lado, a um aporte energético exagerado (sem qualquer valor nutricional) e, por outro, a baixa saciedade ⁽¹¹⁾. Acrescenta-se ainda, que apesar da literatura ser limitada e pouco consen-

sual, a mesma sugere que os refrigerantes *diet* ou *light* (com edulcorantes) possam ter igualmente um papel no aumento de peso (12-14).

Segundo um estudo Europeu sobre dados de consumo, a disponibilidade de bebidas açucaradas no contexto familiar tem vindo a aumentar sobretudo nos países do Norte e na Europa Ocidental (Portugal inclusive), contribuindo para uma menor disponibilidade de frutas e hortícolas (15). Em Portugal, no período de 1990 a 2012, o consumo de bebidas açucaradas duplicou (16) e, segundo o Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física (IAN-AF) de 2016/2017, 22% das crianças com idade inferior a 10 anos consomem pelo menos uma bebida açucarada por dia ($\geq 220\text{g}/\text{dia}$), dos quais 13% correspondem ao consumo de refrigerantes ($\geq 220\text{g}/\text{dia}$) (17).

Neste contexto, os sistemas de vigilância do estado nutricional infantil e do consumo alimentar, são essenciais para sustentar decisões ao nível da implementação de novas estratégias de promoção da saúde infantil e para avaliar o impacto dessas intervenções. O estudo *Childhood Obesity Surveillance Initiative* (COSI) da Organização Mundial de Saúde (OMS)/Europa permite monitorizar a evolução da prevalência de excesso de peso e obesidade infantil em vários países Europeus a cada 2-3 anos (18), designado a nível nacional por COSI Portugal. Este estudo permite ainda recolher informação relativa à frequência de consumo alimentar infantil e à oferta de produtos alimentares no ambiente escolar, no qual se insere o consumo de bebidas açucaradas.

_Objetivo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o consumo de bebidas açucaradas em crianças e a sua disponibilidade nas escolas do 1º Ciclo do Ensino Básico entre a primeira e quarta ronda (2008 e 2016) do estudo COSI Portugal.

_Metodologia

COSI Portugal

O estudo COSI Portugal é coordenado cientificamente e conduzido pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge em articulação com a Direção-Geral da Saúde. É implementa-

do a nível regional pelas Administrações Regionais de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, Alentejo, Algarve, Centro e Norte e ainda pela Direção Regional de Saúde dos Açores e da Madeira (IASaúde, IP-RAM).

Recolha de dados e amostra analisada

Os dados foram recolhidos seguindo a metodologia desenvolvida pela OMS/Europa comum a todos os países participantes (19). O estudo contempla três questionários: Escola (QE), Criança (QC) e Família (QF). O QC compreende a avaliação antropométrica, onde são registadas as medidas de peso e estatura da criança. O QF é auto-preenchido pelos Encarregados de Educação e permite recolher informação relativa à frequência do consumo alimentar, incluindo a frequência do consumo de bebidas açucaradas. A disponibilidade de bebidas açucaradas dentro do recinto escolar, incluindo nas máquinas de venda automática, bufetes e cantinas/refeitórios, no ambiente escolar, foi recolhida através do QE.

As amostras representativas nacionais de crianças com idades compreendidas entre os 6 e 8 anos incluíram, em 2008 (1ª ronda), 3765 participantes ($n=1871$ raparigas e $n=1894$ rapazes) de 181 escolas do Ensino Básico (EB) e em 2016 (4ª ronda), 6745 crianças ($n=3399$ raparigas e $n=3346$ rapazes) de 230 escolas selecionadas do EB.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada com recurso ao *software* estatístico *IMB SPSS Statistics*, versão 23.0. O teste Qui-quadrado (χ^2) foi utilizado para comparar as variáveis qualitativas entre a primeira e a quarta ronda. Para determinar diferenças estatisticamente significativas utilizou-se o valor $p<0,05$. Para associar o consumo de refrigerantes ao estado nutricional das crianças foi utilizado o *Odds Ratio* (OR) e respetivo Intervalo de Confiança (IC) a 95%.

_Resultados

A prevalência de excesso de peso infantil (incluindo obesidade) diminuiu significativamente de 37,9% em 2008 para 30,7% em 2016 ($p<0,001$), bem como a prevalência de obesidade na qual se verificou uma redução de 15,3% em 2008 para 11,7% em 2016.

Na **Tabela 1** estão apresentadas as frequências de consumo de refrigerantes e refrigerantes diet ou light das crianças participantes do estudo COSI Portugal, em 2008 e 2016, respetivamente.

Verificou-se que o consumo de refrigerantes, no geral, aumentou de 66,4% (2008) para 80,1%, em 2016. O número de crianças que reportou consumir refrigerantes em “a maioria dos dias por semana” e “todos os dias” diminuiu de 2008 (20,0%) para 2016 (14,8%). A **Tabela 1** demonstra ainda uma diminuição da percentagem de crianças que reportaram nunca consumir refrigerantes, de 33,6% em 2008 para 19,9% em 2016. De referir que todas estas diferenças não apresentaram significado estatístico ($p > 0,05$).

No que respeita ao consumo de refrigerantes *diet* ou *light*, as tendências entre rondas são semelhantes às descritas para o consumo de refrigerantes e não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as duas rondas ($p > 0,05$) (**Tabela 1**).

Comparando a disponibilidade de bebidas açucaradas nas escolas analisadas (**Tabela 2**), verifica-se um aumento entre a ronda de 2008 e 2016, especialmente nos sumos de fruta com açúcar. No entanto, as diferenças observadas não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

Analisando os dados de 2016, não foram encontradas diferenças no consumo de refrigerantes entre as crianças que apresentavam excesso de peso e as que não apresentavam (OR= 1,054; intervalo de confiança (IC) 95% 0,920; 1,208; no total; OR= 1,089, IC 95% 0,901; 1,318; nas raparigas; OR= 1,019; IC 95% 0,839; 1,239; nos rapazes).

Tabela 2: Disponibilidade de refrigerantes e sumos de fruta no ambiente escolar na primeira ronda (2008) e na quarta ronda (2016) do estudo COSI Portugal.

	Ambiente escolar-disponibilidade de refrigerantes		
	COSI 2008 % (n)	COSI 2016 % (n)	p
Refrigerantes <i>diet</i> ou <i>light</i>	1,7 (n=3)	4,7 (n=10)	0,409
Refrigerantes c/ açúcar	2,8 (n=5)	3,7 (n=8)	1,000
Sumos de fruta c/ açúcar	5,6 (n=10)	16,1 (n=34)	0,639

_Discussão e conclusão

No presente estudo concluiu-se que houve um aumento geral (+13,7%) no consumo de refrigerantes pelas crianças portuguesas dos 6 aos 8 anos, entre 2008 e 2016, o que pode ser parcialmente explicado pelo facto do consumo nulo (“nunca consumia”) ter igualmente decrescido de 33,6% para 19,9%. No entanto, o consumo quase diário (“maioria dos dias da semana” e “todos os dias”) também diminuiu, embora o decréscimo tenha sido menos expressivo (-5,2%).

A nível internacional, alguns estudos revelaram resultados semelhantes aos encontrados no presente trabalho, verificando-se uma tendência crescente do consumo destas bebidas em crianças (20, 21). Por outro lado, um estudo realizado na Noruega demonstrou um decréscimo no consumo de bebidas açucaradas, incluindo refrigerantes, em crianças entre 2001 e 2008 (22). Segundo o estudo Norueguês, os resultados positivos podem ser derivados de iniciativas nacionais que limi-

Tabela 1: Consumo de refrigerantes na primeira ronda (2008) e na quarta ronda (2016) do estudo COSI Portugal.

	Frequência alimentar										
	COSI 2008					COSI 2016					p
	n	Nunca % (n)	Alguns dias por semana % (n)	A maioria dos dias da semana % (n)	Todos os dias % (n)	n	Nunca % (n)	Alguns dias por semana % (n)	A maioria dos dias da semana % (n)	Todos os dias % (n)	
Refrigerantes	3039	33,6 (1022)	46,4 (1409)	10,0 (305)	10,0 (303)	6068	19,9 (1208)	65,3 (3962)	7,9 (479)	6,9 (419)	0,607
Refrigerantes <i>diet</i> ou <i>light</i>	2991	87,0 (2602)	9,3 (279)	2,0 (60)	1,7 (50)	6032	86,7 (5230)	10,8 (651)	0,7 (42)	1,7 (103)	0,381

tam o acesso a refrigerantes no ambiente escolar e facilitam o acesso a água fresca potável nas instalações, bem como devido ao aumento das taxas sobre bebidas açucaradas (22). Em Portugal, à semelhança de outros países, diversas iniciativas têm sido implementadas com o intuito de modificar a oferta alimentar e melhorar os hábitos alimentares da população. Um dos fatores descritos como influenciador do consumo de bebidas açucaradas é o seu preço reduzido (23). Medidas como a taxação influenciam o acesso a determinados produtos e ambicionam desencorajar o consumo dos mesmos. Desta forma o estudo COSI Portugal e os dados apresentados sobre o consumo alimentar de refrigerantes entre 2008 e 2016, pelas crianças portuguesas, constituíram um suporte essencial de evidência científica à implementação do Imposto sobre Bebidas Açucaradas (24). Este imposto, em vigor em Portugal desde janeiro de 2017, visou o aumento de preço das bebidas consoante o nível de açúcar, nomeadamente: bebidas com menos de 80 g/L ficam sujeitas a um imposto de 8,22 € por 100L e as que contêm mais do que 80g/L são tributadas a 16,69 € por 100L (24). Sabe-se, atualmente, que esta importante medida resultou na reformulação dos teores de açúcar destes produtos e num decréscimo das suas vendas e consumo (25-27). Importa assim perceber agora se, nas rondas futuras do estudo COSI Portugal, a implementação da referida taxa, irá refletir-se nas respetivas alterações nos padrões de consumo pelas crianças.

No âmbito da oferta escolar, a Direção-Geral da Educação (DGE) lançou em 2012 um documento orientador com especificidades nutricionais e aspetos de organização e funcionamento do bufete escolar (28). Segundo este documento, “os refrigerantes, incluindo as bebidas com cola, *ice tea*, águas aromatizadas, preparados de refrigerantes, bebidas energéticas e bebidas desportivas” são considerados géneros alimentícios a não disponibilizar e, portanto, devem ser eliminados dos bufetes escolares. Adicionalmente, estes produtos não podem ser disponibilizados nas máquinas de venda automática.

Em 2013, a DGE publicou a Circular nº 3, atualizada em 2018, relativa a “Orientações sobre ementas e refeitórios escolares” (29,30). Esta indica que nos refeitórios escola-

res a água é a única bebida servida e que não é permitido o consumo de qualquer outra bebida nestes espaços. Considerando estas orientações nacionais, onde as bebidas açucaradas não devem fazer parte da oferta alimentar escolar, seria exatável um decréscimo de 2008 para 2016 da disponibilidade de bebidas açucaradas nos recintos escolares, contrariamente aos resultados observados no presente estudo. Tal fenómeno poderá estar associado aos níveis de fiscalização do cumprimento das orientações emanadas pela DGE e pelo seu carácter indicativo, e em muitos casos não vinculativo.

Em suma, o presente estudo reflete a necessidade de monitorização contínua, tanto do estado nutricional como do consumo alimentar infantil, de forma a adaptar e/ou criar estratégias que incentivem a adoção de estilos de vida saudáveis.

Referências bibliográficas:

- (1) Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. (Factsheet) Childhood Obesity Surveillance Initiative. COSI Portugal - 2019. 2019. Disponível em: http://www.ceidss.com/wp-content/uploads/2019/07/COSI-2019_-FactSheet.pdf
- (2) Direção-Geral da Saúde, Institute for Health Metrics and Evaluation. Portugal: The Nation's Health 1990 – 2016: An overview of the Global Burden of Disease Study 2016 Results. 2016
- (3) Ludwig DS, Peterson KE, Gortmaker SL. Relation between consumption of sugar-sweetened drinks and childhood obesity : a prospective, observational analysis. *The Lancet*. 2001;357:505–8.
- (4) Malik VS, Pan A, Willett WC, Hu FB. Sugar-sweetened beverages and weight gain in children and adults: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2013;98:1084–102.
- (5) Te L, Mallard S, Mann J. Dietary sugars and body weight: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials and cohort studies. *BMJ*. 2012;7492(January):1–25.
- (6) Bray GA, Popkin BM. Dietary Sugar and Body Weight: Have We Reached a Crisis in the Epidemic of Obesity and Diabetes? *Diabetes Care*. 2014;37(April):950–6.
- (7) Malik VS, Popkin BM, Bray GM, Després J-P, Willett WC, Hu FB. Sugar-Sweetened Beverages and Risk of Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2010;33(11).
- (8) Vartanian LR, Schwartz MB, Brownell KD. Effects of Soft Drink Consumption on Nutrition and Health: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Public Health*. 2007;97(4):667–75.
- (9) Malik VS, Hu FB. Fructose and Cardiometabolic Health: What the Evidence from Sugar-Sweetened Beverages Tells Us. *J Am Coll Cardiol*. 2016;66(14):1615–24.
- (10) Kosova EC, Auinger P, Bremer AA. The Relationships between Sugar-Sweetened Beverage Intake and Cardiometabolic Markers in Young Children. *J Acad Nutr Diet*. 2014;113(2):219–27.
- (11) DiMaggio D, Mattes R. Liquid versus solid carbohydrate : effects on food intake and body weight. *Int J Obes*. 2000;794–800.
- (12) Foreyt J, Kleinman R, Brown RJ, Lindstrom R. The Use of Low-Calorie Sweeteners by Children: Implications for Weight Management. *J Nutr*. 2012;142(6):1155–62.

- (13) Malik VS, Popkin BM, Bray GM, Després J-P, Willett WC, Hu FB. Sugar-Sweetened Beverages and Risk of Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2010;33(11).
- (14) Burke M V, Small DM. Physiological mechanisms by which non-nutritive sweeteners may impact body weight and metabolism. *Physiol Behav*. 2016;152(0 0):381–8.
- (15) Naska A, Bountziouka V, Trichopoulou A. Soft drinks: time trends and correlates in twenty-four European countries. A cross-national study using the DAFNE (Data Food Networking) databank. *Public Health Nutr*. 2010;13(9):1346–55.
- (16) Instituto Nacional de Estatística. *Balança Alimentar Portuguesa (1990-2012)*. 2014.
- (17) Lopes C, Torres D, Oliveira A, Severo M, Alarcão V, Guiomar S, Mota J, Teixeira P, Rodrigues S, Lobato L, Magalhães V, Correia D, Carvalho C, Pizarro A, Marques A, Vilela S, Oliveira L, Nicola P, Soares S, Ramos E. *Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física, IAN-AF 2015-2016: Relatório de resultados*. Universidade do Porto, 2017. ISBN: 978-989-746-181-1. Disponível em: www.ian-af.up.pt.
- (18) World Health Organization Regional Office for Europe. WHO European Childhood Obesity Surveillance Initiative (COSI) [Internet] Disponível em: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/activities/who-european-childhood-obesity-surveillance-initiative-cosi>
- (19) World Health Organization Regional Office for Europe. WHO European Childhood Obesity Surveillance Initiative. Data collection procedures, version October 2016. Copenhagen: World Health Organization Regional Office for Europe. 2016. Disponível em: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/activities/who-european-childhood-obesity-surveillance-initiative-cosi/cosi-publications>
- (20) Lasater G, Piernas C, Popkin BM. Beverage patterns and trends among school-aged children in the US, 1989-2008. *Nutr J*. 2011;10(1):103.
- (21) Ng SW, Mhurchu CN, Jebb SA, Popkin BM. Patterns and trends of beverage consumption among children and adults in Great Britain, 1986 – 2009. *Br J Nutr*. 2012;108:536–51.
- (22) Stea TH, Øverby NC, Klepp K-I, Bere E. Changes in beverage consumption in Norwegian children from 2001 to 2008. *Public Health Nutr*. 2011;15(3):379–85.
- (23) Public Health England. Sugar Reduction: The evidence for action. Annexe 4: An analysis of the role of price promotions on the household purchases of food and drinks high in sugar. Public Health England. 2015. Disponível em: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/470175/Annexe_4_Analysis_of_price_promotions.pdf
- (24) Assembleia da República [AR]. Lei n.º 42/2016, de 28 dezembro: Orçamento do Estado para 2017. *Diário da República* [Internet]. 2016;4875–5107. Disponível em: <https://dre.pt/application/file/a/105630354>
- (25) Impacto do Imposto Especial sobre o Consumo de Bebidas Açucaradas e Adicionadas de Edulcorantes – Relatório do Grupo de Trabalho (Despacho nº 2774/2018). [Internet]. 2018. Disponível em: <https://www.sns.gov.pt/wp-content/uploads/2018/09/Relatorio-final-IABA.pdf>
- (26) Goiana-da-Silva F, Nunes A, Miraldo M, Bento A, Breda J, Araújo, F. Fiscalidade e saúde pública - experiência na Tributação das Bebidas Açucaradas. *Acta Médica*; 2018;31(4):191-95. doi.org/10.20344/amp.10222.
- (27) Goiana-da-Silva F, Cruz-e-Silva D, Gregório MJ, Miraldo M, Darzi A, Araújo F. The future of the sweetened beverages tax in Portugal. *The lancet*; 3(12): 562.
- (28) Ladeiras L, Lima RM, Lopes A. *Bufetes Escolares – Orientações*. Lisboa: Ministério da Educação e Ciência - Direção-Geral da Educação. 2012. Disponível em: http://www.alimentacaosaudavel.dgs.pt/activeapp/wp-content/files_mf/1444900121BufetesEscolares.pdf
- (29) Direção-Geral da Educação. Circular n.º.:3/ DSEEAS/DGE/2013 - Orientações sobre ementas e refeitórios escolares 2013/2014 [Internet]. 2013. Disponível em: https://www.dgeste.mec.pt/wp-content/uploads/2014/01/ASE_circular_3.pdf
- (30) Direção-Geral da Educação. Circular n.º 3097/DFE/2018 - Orientações sobre ementas e refeitórios escolares. [Internet]. 2018. Disponível em: <http://www.dge.mec.pt/sites/default/files/Esauade/oere.pdf>

Etapas iniciais de um estudo piloto de Health Impact Assessment em Portugal: o caso da redução de sal no pão

Health Impact Assessment: Initial phases of a pilot study in Portugal: the case of salt reduction in bread

Paula Braz¹, Joana Santos¹, Joana Alves², Luciana Costa³, Alexandra Costa³, Mariana Santos⁴, Roberto Brazão⁴, Teresa Caldas de Almeida³

paula.braz@insa.min-saude.pt

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

(2) NOVA National School of Public Health, Public Health Research Centre, Universidade NOVA de Lisboa.

(3) Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

(4) Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P.

_Resumo

Os estudos de HIA, utilizam técnicas quantitativas, qualitativas e participativas, para identificar, prever e avaliar alterações na saúde da população que decorram da implementação de um programa, plano ou política. Portugal está a desenvolver um programa de treino em HIA para melhorar as competências nacionais na implementação desta metodologia. Neste contexto, o objetivo deste artigo é descrever de forma sucinta duas das fases de desenvolvimento de um estudo piloto de HIA, aplicado a um protocolo nacional que promove a redução de sal no pão dos atuais 1,4 gramas de sal por cada 100 gramas de pão para 1 grama em 2021. A fase de *Screening* mostrou que a aplicação do protocolo pode promover ganhos em saúde, em especial para alguns grupos mais vulneráveis. Na fase de *Scoping* foi construída uma cadeia causal para determinar os potenciais efeitos na população e priorizar os impactos a estudar: efeito da redução do sal na tensão arterial; redução dos custos de tratamento da hipertensão; mudança dos hábitos alimentares. As fases subsequentes deste estudo piloto são a análise dos potenciais impactos identificados e as recomendações finais suportadas pelos resultados. Espera-se que este estudo piloto contribua para a capacitação de equipas nacionais especialistas em HIA.

_Abstract

Health Impact Assessments (HIA) aim to identify, predict and evaluate changes in populations' health that result from the implementation of a program, plan or policy, with the support of quantitative, qualitative and participatory techniques. In this context, the purpose of this paper is to describe two of the phases of a pilot HIA, applied to a national protocol that promotes the reduction of salt in bread from the current 1.4 grams of salt per 100 grams of bread to 1.0 grams by 2021. The screening phase showed that the protocol could be beneficial especially for some more vulnerable groups. In the scoping phase, a causal chain was drawn to determine the potential effects on the population and prioritize the impacts to be studied: effect of salt reduction on blood pressure; on hypertension treatment costs; changes in eating habits. Following phases will focus on estimating the effects and provide recommendations that are adequate to maximize positive effects of the protocol. In addition, it is expected that this pilot study provide this national team with the appropriate skills to develop future HIA.

_Introdução

O consumo excessivo de sal é um fator de risco para a hipertensão aumentando a probabilidade das doenças cardiovasculares (DCV) pelo que a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda uma ingestão diária de sal até 5 gramas por dia e por pessoa (1). Nestas patologias estima-se que, em 2016, os custos dos sistemas de saúde europeus ascendessem a 24 biliões de euros, sendo que 52% estavam associados a internamentos hospitalares e 25% a medicação (2). Em Portugal, dados do Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física (IAN-AF) sugerem que a ingestão diária de sal é de 7,3 gramas por pessoa, em média, sendo o pão o alimento que mais contribui para a ingestão de sal (3). Para reduzir a ingestão de sal através do consumo de pão, foi assinado um Protocolo entre a indústria panificadora, o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) e a Direção Geral da Saúde (4). A meta é reduzir os atuais 1,4 gramas de sal por cada 100 gramas de pão para 1 grama em 2021. Os estudos de impacto em saúde (HIA), utilizando técnicas quantitativas, qualitativas e participativas, permitem identificar, prever e avaliar as alterações, positivas e negativas, individuais ou coletivas, que possam decorrer da implementação de um programa, plano ou política (5). A sua finalidade é dotar os decisores políticos da informação necessária à tomada de decisão relacionada com o planeamento e a implementação de intervenções de âmbito público. Em Portugal, no âmbito do Acordo de Colaboração Bienal (BCA) entre a OMS e o Ministério da Saúde, o INSA, com o apoio de técnicos da OMS, desenvolve um programa de treino em HIA

para melhorar competências de equipas nacionais utilizando uma abordagem *Learn By Doing*. Neste contexto, é objetivo deste artigo descrever sucintamente as fases iniciais de um estudo piloto de HIA, aplicando esta metodologia ao protocolo para a redução de sal no pão em Portugal até 2021.

_Metodologia

Foi utilizado o Guia Irlandês para realização de um HIA (6), e descritas as fases de *Screening* e de *Scoping*. A fase de *Screening* permite estabelecer que relevância tem para a saúde da população uma política ou programa e a pertinência dos resultados do HIA para parceiros e decisores políticos. Esta fase identifica os grupos mais vulneráveis para as medidas previstas. A fase de *Scoping* delimita o âmbito do estudo, as populações afetadas, a equipe do HIA, os parceiros a envolver e quais as suas responsabilidades, fontes de dados disponíveis, métodos a serem usados e alternativas a considerar.

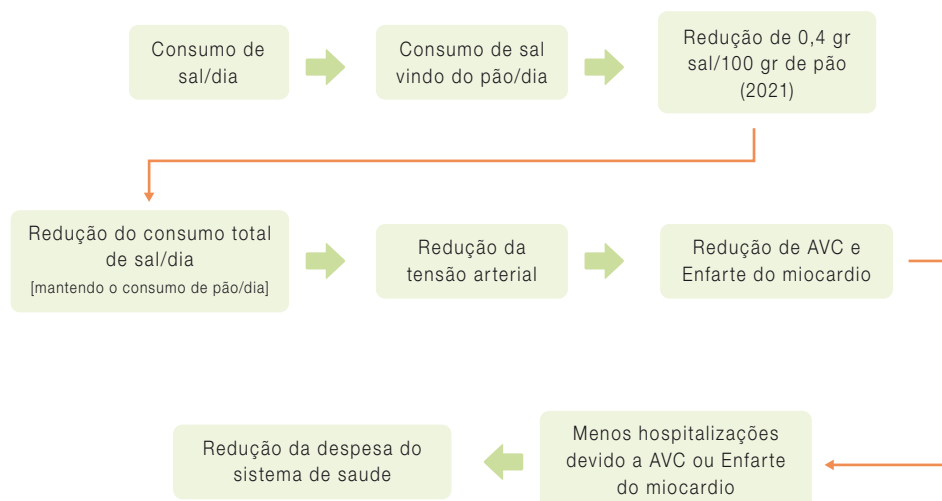
_Resultados

Na fase de *Screening* considerou-se que o protocolo a implementar pode promover potenciais ganhos em saúde para a população portuguesa, porque a redução do consumo de sal poderá ter um impacto direto nos valores da tensão arte-

rial (7). Considerando os dados do IAN-AF, espera-se que os homens e os idosos sejam os grupos mais vulneráveis e aqueles onde se vai observar uma maior redução da tensão arterial, assim como os indivíduos com nível de escolaridade até ao ensino básico, desempregados, aposentados e donas de casa (3). Como os hábitos alimentares são diferentes nas várias regiões, a área de residência será um determinante importante a ser analisado. Sendo provável que ocorram impactos na saúde e, levando em consideração as questões levantadas no processo de triagem, decidiu-se prosseguir com o HIA.

Na fase de *Scoping* foram selecionados os parceiros e estabelecido o plano da sua participação nas fases posteriores do HIA (8). Em colaboração com as indústrias panificadoras e do sal e os peritos da OMS, foi construída uma cadeia causal. Esta revelou-se fundamental para determinar os potenciais efeitos do protocolo na população e priorizar os impactos a estudar (Figura 1). Para a avaliar estes impactos, decidiu-se que: 1) na saúde será analisado o efeito da redução do sal na tensão arterial e no risco cardiovascular; 2) no setor económico foi ponderado estudar o efeito nas vendas de pão, sal e emprego destes setores tendo os parceiros desvalorizado um potencial efeito negativo. Assim, optou-se por estimar a redução do custo de tratamento da população com hipertensão, caso se observe que a redução do sal no pão promo-

Figura 1: Cadeia causal: redução de sal no pão e potenciais efeitos na saúde e economia.



ve uma diminuição da tensão arterial; 3) no sector da educação importa aferir um potencial impacto nos comportamentos e hábitos alimentares, em relação ao consumo de pão, das crianças e jovens em idade escolar (6-18 anos) e suas famílias. Para a implementação das 3 estratégias de análise a realizar na fase seguinte (*Risk Appraisal*), estabeleceu-se que seriam utilizados dados de dois inquéritos nacionais: o Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física e Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico, realizados em 2015 (9). A análise será estratificada por sexo, grupo etário, nível educacional e região. Na área económica, será utilizada a informação da base de dados das altas hospitalares em Portugal das doenças relacionadas com a hipertensão, valorizados de acordo com as portarias de preços em vigor. Na área da educação será aplicado um questionário de acesso e resposta online, para aferir o nível de conhecimento e atitudes face à quantidade de pão consumido, em casa e na escola, e identificar eventuais mudanças de hábitos no consumo de pão causados pela introdução do protocolo.

_Conclusão

As fases subsequentes deste estudo piloto são a análise dos potenciais impactes identificados e os resultados suportarão as recomendações finais que serão discutidas com base na evidência recolhida. Espera-se assim apoiar os decisores políticos no desenvolvimento de medidas legislativas apropriadas e sensibilizar a população para os potenciais ganhos em saúde resultantes da redução do sal no pão. Este processo tem-se revelado essencial na capacitação de equipas nacionais, na área da saúde, com conhecimentos para desenvolver estudos de HIA.

Agradecimentos

Trabalho desenvolvido no âmbito do Programa de Treino em Health Impact Assessment nos termos do Acordo de Colaboração Bienal entre a Organização Mundial da Saúde e o Ministério da Saúde de Portugal, coordenado pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

Referências bibliográficas:

- (1) WHO Salt Reduction: Key facts. [Acedido em 01/10/2019]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salt-reduction>
- (2) Allender, S., Scarborough, P., Peto, V., et al. European cardiovascular disease statistics. *European Heart Network*, 3, 11-35. 2008
- (3) Lopes C, Torres D, Oliveira A, Severo M, Alarcão V, Guiomar S, Mota J, Teixeira P, Rodrigues S, Lobato L, Magalhães V, Correia D, Carvalho C, Pizarro A, Marques A, Vilela S, Oliveira L, Nicola P, Soares S, Ramos E. Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física, IAN-AF 2015-2016: Relatório de resultados. Universidade do Porto, 2017. ISBN: 978-989-746-181-1
- (4) Secretaria-Geral do Ministério da Saúde. Protocolo de Colaboração entre a Direção-Geral da Saúde, o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P., a Associação dos Industriais de Panificação, Pastelaria e Similares de Lisboa, a Associação dos Industriais de Panificação, Pastelaria e Similares do Norte e a Associação do Comércio e da Indústria de Panificação, Pastelaria e Similares. 2017
- (5) WHO. Health Impact Assessment. Promoting health across all sectors of activity. <https://www.who.int/hia/en/> [Acedido em 01/10/2019]
- (6) Abrahams, D., Broeder, L. d., Doyle, C., et al. Policy health impact assessment for the European Union: final project report. 2004
- (7) Caldas de Almeida et al. Pilot study: Reduction of salt (sodium) in bread and its contribution to the decrease of cardiovascular diseases Health Impact Assessment of the introduction of new legislation – Screening Report. National Institute of Health Doutor Ricardo Jorge, I.P. Lisbon, Portugal. 2018 (aguarda publicação)
- (8) Caldas de Almeida et al. Pilot study: Reduction of salt (sodium) in bread and its contribution to the decrease of cardiovascular diseases Health Impact Assessment of the introduction of new legislation - Terms of Reference. National Institute of Health Doutor Ricardo Jorge, I.P. Lisbon, Portugal. 2018 (aguarda publicação)
- (9) Barreto M, Gaio V, Kislava I, Antunes A, Rodrigues AP, Silva AC, Vargas P, Prokopenko T, Santos AJ, Namorado S, Gil AP, Alves CA, Castilho E, Cordeiro E, Dinis A, Nunes B, Dias CM. 1º Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico (INSEF 2015): Estado de Saúde. Lisboa: INSA IP, 2016.

Health Impact Assessment aplicado à Nutrição: simulação de cenários de redução gradual do teor de sal no pão em Portugal

Health Impact Assessment applied to Nutrition: scenarios simulation of gradual reduction of salt content in bread in Portugal

Mariana Santos¹, Roberto Brazão¹, Ricardo Assunção¹, Luciana Costa², Alexandra Costa², Paula Braz³, Joana Santos³, Ana Guerreiro⁴, Isabel Lopes⁵, Joana Alves⁶, Teresa Caldas de Almeida²

mariana.santos@insa.min-saude.pt

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

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

(3) Departamento de Epidemiologia (DEP), Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

(4) Administração Regional de Saúde do Algarve (ARS Algarve).

(5) Direção-Geral da Educação (DGE).

(6) NOVA National School of Public Health, Public Health Research Centre, Universidade NOVA de Lisboa.

_Resumo

O Plano de Ação de 2013-2020 da Organização Mundial da Saúde (OMS) na área da Alimentação e Nutrição sugere estratégias na área da redução da ingestão de sal como uma das melhores abordagens ("best buys" - baixo custo e elevada eficácia) para a prevenção das doenças não transmissíveis na população europeia. De acordo com os dados do último Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física realizado em Portugal (IAN-AF 2015/2016), o pão e seus produtos, pelo seu consumo elevado (18%), foram considerados um dos principais alimentos a contribuir para a ingestão de sal. Deste modo, o pão tem sido alvo de preocupação, sobretudo pela relação entre as quantidades ingeridas e o desenvolvimento da Hipertensão Arterial, um dos maiores riscos de saúde pública em Portugal. Face às recomendações da OMS e da União Europeia (UE), e enquadrado na Estratégia Integrada para a Promoção da Alimentação Saudável (EIPAS), foi assinado um protocolo entre entidades governamentais do Ministério da Saúde, as associações industriais do sector da panificação e a Associação do Comércio e da Indústria de Panificação, Pastelaria e Similares, com o objetivo de reduzir, até 2021, o teor de sal no pão. O presente estudo pretende fazer a simulação de cenários de redução gradual do teor de sal no pão, com base nos resultados do IAN-AF (2015-2016), e estimar o consumo médio de sal para as metas de redução previstas no Protocolo. Os diferentes cenários simulados evidenciaram uma redução gradual na contribuição do pão para a ingestão média diária de sal de aproximadamente 5%, em 2021. Os resultados obtidos vão permitir suportar um estudo piloto utilizando a metodologia de *Health Impact Assessment* (HIA) para avaliar o potencial impacto da redução do teor de sal no pão na pressão arterial (PA) e nas doenças cardiovasculares (DCV).

_Abstract

The European Food and Nutrition Action Plan 2013–2020 suggests strategies in the area of reducing salt intake as one of the best approaches ("best buys" - low cost and high efficacy) for the prevention of Non-Communicable Diseases in the population in Europe. According to the data from the last National Food Survey and Physical Activity, IAN-AF (2015/2016), held in Portugal, bread and its byproducts, for its high

consumption (18%), were considered one of the main foods to contribute to the ingestion of salt. Thus, bread has been a subject of concern, especially due to the relationship between the quantities ingested and the development of arterial hypertension, one of the greatest public health risks in Portugal. In view of the recommendations of the WHO and the EU, and framed under the integrated strategy for the promotion of healthy eating (EIPAS), a protocol was signed between different entities, namely Government, industrial associations of the bakery sector and the Association of Trade of the bakery, pastry and similar industry, with the aim of reducing the salt content of bread by 2021. The present study intends to determine the intake of salt by the Portuguese population, considering the bread consumption data reported under the IAN-AF and the goals for reduction salt in bread under the Protocol. The different simulated scenarios showed a gradual reduction in the contribution of bread to the average daily intake of salt of approximately 5%, in 2021. The results obtained will support a pilot study using the Health Impact Assessment (HIA) methodology to evaluate the potential impact of reducing salt content on bread in blood pressure.

_Introdução

Em 2017, os hábitos alimentares inadequados dos portugueses foram o terceiro fator de risco que mais contribuiu para a perda de anos de vida saudável. As doenças metabólicas (67.931 DALYs; 2,2% do total), as doenças do aparelho circulatório (189.447 DALYs; 6,0% do total) e as neoplasias (41.700 DALYs; 1,3% do total) foram as principais causas identificadas nestes resultados. Em Portugal, cerca de 300.000 anos de vida saudável poderiam ser poupados se os portugueses melhorassem os seus hábitos alimentares (1).

Os dados do último Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física, IAN-AF (2015/2016), realizado em Portugal, evidenciam o pão e seus subprodutos (18%), a sopa (8%), a charcutaria e as carnes processadas (7%) como os principais alimentos a contribuir para a ingestão de sal dos portugueses (2).

Deste modo, o pão pelo seu consumo elevado, tem sido alvo de preocupação, sobretudo pela relação entre as quantidades ingeridas e o desenvolvimento da Hipertensão Arterial (HT), um dos maiores riscos de saúde pública em Portugal e aquele que mais contribui para a perda de anos de vida saudáveis (3).

O Plano de Ação de 2013-2020 da Organização Mundial da Saúde (OMS) na área da Alimentação e Nutrição, sugere estratégias na área da redução da ingestão de sal como uma das melhores abordagens (“best buys” - baixo custo e elevada eficácia) para a prevenção das doenças não transmissíveis na população europeia (4).

A OMS e a Comissão Europeia (CE) recomendam a implementação de estratégias nacionais de alimentação e nutrição baseadas numa abordagem de intervenção multissetorial, para inverter o crescimento deste tipo de doenças (5).

Face às recomendações da OMS e da CE, foi aprovada a Estratégia Integrada para a Promoção da Alimentação Saudável (EIPAS) com o objetivo de 1) modificar a oferta alimentar de determinados alimentos, em particular os que apresentam elevado teor de açúcar, sal e gordura; 2) incentivar ações de reformulação nutricional dos produtos alimentares através de uma ação articulada com a Indústria Alimentar, Distribuição Alimentar e ainda com a Indústria da Prestação de Serviços de Alimentação e Bebidas e; 3) capacitar os cidadãos e profissionais que trabalham ou influenciam o consumo de alimentos para as escolhas alimentares saudáveis (6).

Tendo em consideração que o pão é um dos principais alimentos que mais contribuem para a ingestão de sal pelos portugueses, foi assinado um protocolo entre entidades governamentais (Direção-Geral da Saúde e o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge) e associações industriais do sector da panificação (Associação dos Industriais de Panificação, Pastelaria e Similares de Lisboa, a Associação dos In-

dustriais de Panificação, Pastelaria e Similares do Norte) e a Associação do Comércio e da Indústria de Panificação, Pastelaria e Similares) com o objetivo de reduzir, até 2021, o teor de sal no pão (7).

Este protocolo foi escolhido para a realização de um estudo piloto utilizando a metodologia de *Health Impact Assessment* (HIA). O HIA combina procedimentos e métodos que permitem analisar os potenciais impactes de projetos, programas ou políticas, na saúde da população e sua distribuição. Assim, quando devidamente integrado nos processos de planeamento estratégico, pode contribuir para a implementação de “Políticas Saudáveis” tal como definido num dos quatro eixos do Plano Nacional de Saúde. Apesar da sua importância, em Portugal esta ferramenta ainda não é aplicada de modo sistemático.

_Objetivos

O presente estudo pretende fazer a simulação de cenários de redução gradual do teor de sal no pão, estimando o consumo médio de sal para as metas de redução previstas no Protocolo, de forma a avaliar potenciais impactes na saúde através de um estudo piloto de HIA.

_Materiais e métodos

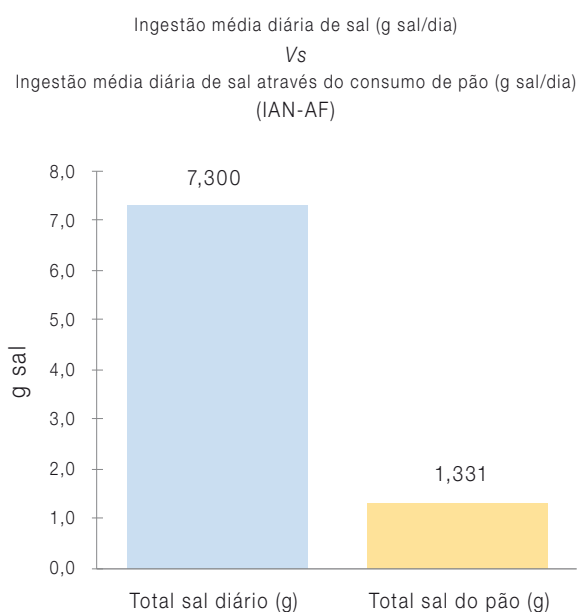
Para a realização deste estudo, foram simulados cenários anuais da contribuição do consumo do pão para a ingestão média diária de sal pela população portuguesa, em conformidade com os valores máximos de sal neste alimento, previstos no Protocolo, respetivamente: 1,3 g de sal/100 g em 2018, 1,2 g de sal/100 g de pão em 2019 e 1,1 de sal/100 g de pão em 2020 e 1,0 g de sal/100 g de pão em 2021.

Deste modo, foi avaliada a variação na ingestão média diária de sal, no horizonte temporal previsto no protocolo (2018-2021), com base nos resultados do consumo de pão e dos seus subprodutos, do IAN-AF (2015-2016), considerando que este se mantém inalterado ao longo do período em análise.

_Resultados e discussão

Verificou-se que em média os portugueses ingerem diariamente cerca de 7,3 g sal/dia. O consumo de pão contribui em 18% para a ingestão diária de sal, correspondendo a cerca de 1,3 g sal/dia (Figura 1).

Figura 1: Ingestão média diária de sal versus ingestão média diária de sal através do consumo de pão.



Os diferentes cenários definidos (Figura 2) evidenciaram uma redução gradual na contribuição do consumo de pão para a ingestão média diária de sal. Esse decréscimo corresponde a aproximadamente 5%, em 2021, face ao valor determinado no Cenário 1, onde se considerou o teor de sal máximo legalmente admitido no pão (1,4 g sal/100 g) e a 3,5% se considerarmos a realidade atual (1,3 g sal/100 g) (Cenário 2) (Figura 1).

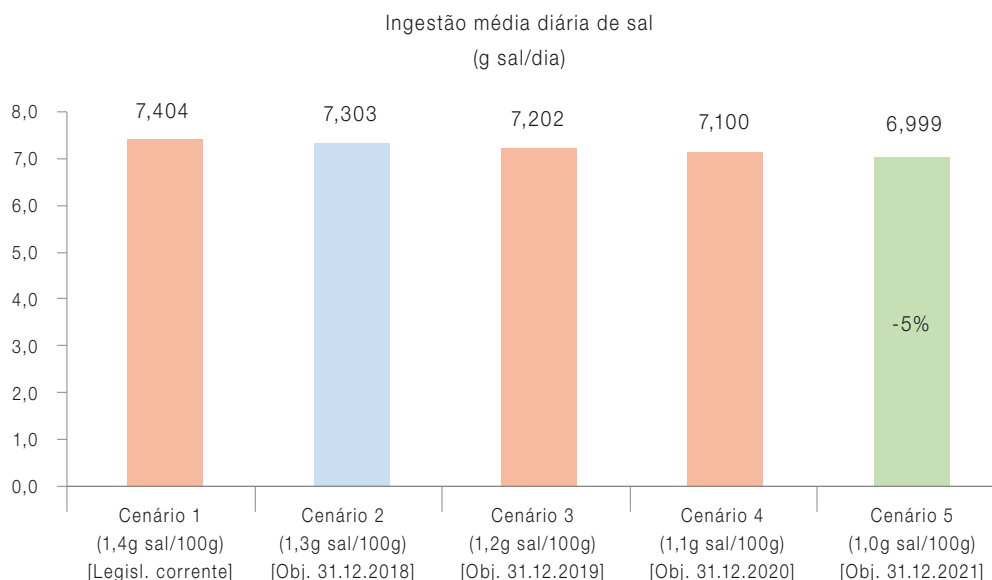
Os resultados evidenciam um decréscimo na quantidade diária de sal consumida, através da redução de sal no pão. No entanto, um efeito positivo na saúde da população dependerá dos alimentos adicionados ao pão e seus produtos, assim como da quantidade de sal na sua composição.

_Conclusão

Os diferentes cenários apontam para uma redução gradual na contribuição do pão para a ingestão média diária de sal de aproximadamente 5%, em 2021, resultante da redução da adição de sal no processo de fabrico deste alimento, promovido pelas metas instituídas pelo Protocolo.

Tendo como referência a recomendação da OMS, de um consumo máximo diário de sal *per capita* próximo de 5 g em 2020, será importante alargar esta avaliação às categorias de

Figura 2: Ingestão média diária de sal face aos diferentes cenários definidos, considerando uma redução gradual dos níveis de sal no pão.



alimentos identificadas no relatório do IAN-AF, e determinar a ingestão média diária de sal através do consumo destes alimentos.

Conhecidos os possíveis níveis de ingestão de sal atribuídos ao consumo de pão em Portugal, com base em cenários traçados no âmbito de um HIA, poderá ser determinado o impacto da redução do consumo de sal na HT. Assim, o recurso à metodologia de HIA constitui uma importante ferramenta de suporte à decisão baseada na evidência e na definição de políticas públicas, podendo ser amplamente utilizada no apoio à definição de protocolos ou legislação que promovam a redução da quantidade de sal noutros alimentos.

Agradecimentos

Este trabalho foi desenvolvido no âmbito do Programa de Treino em Health Impact Assessment nos termos do Acordo de Colaboração Bienal (BCA) entre a Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Ministério da Saúde de Portugal, coordenado pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA).

Referências bibliográficas:

- (1) Portugal. Ministério da Saúde. Direção-Geral da Saúde. PROGRAMA NACIONAL PARA A PROMOÇÃO DE ALIMENTAÇÃO SAUDÁVEL Lisboa: Direção-Geral da Saúde, 2019.
- (2) Lopes C, Torres D, Oliveira A, et al. Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física, IAN-AF 2015-2016: relatório de resultados - Parte II (versão atualizada v.1.5 setembro 2017). Universidade do Porto, 2017. <https://ian-af.up.pt/resultados>
- (3) Instituto Nacional de Estatística. Inquérito Nacional de Saúde 2014. Lisboa: INE, 2016. www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=263714091&PUBLICACOESmodo=2
- (4) Graça P. Relatório: Estratégia para a redução do consumo de sal na alimentação em Portugal. Direção-Geral da Saúde (DGS). 2013.
- (5) World Health Organization, 2014. European Food and Nutrition Action Plan 2015-2020. World Health Organization, Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark.
- (6) Diário da República. 2.ª série — N.º 249 — 29 de dezembro de 2017. Despacho n.º 11418/2017. Estratégia Integrada para a Promoção da Alimentação Saudável. 2017.
- (7) Secretaria-Geral do Ministério da Saúde (2017). Protocolo de Colaboração entre a Direção-Geral da Saúde, o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P., a Associação dos Industriais de Panificação, Pastelaria e Similares de Lisboa, a Associação dos Industriais de Panificação, Pastelaria e Similares do Norte e a Associação do Comércio e da Indústria de Panificação, Pastelaria e Similares.

_Teor de sal e de gordura em produtos de pasteleria sem glúten e/ou sem lactose: contributo para o estudo do panorama Português

Salt and fat content in gluten-free and/or lactose-free pastries: a contribution to the study of the Portuguese panorama

Regina Capelas¹, Helena S. Costa^{1,2}, M. Beatriz P.P. Oliveira², Tânia Gonçalves Albuquerque^{1,2,3}

tania.albuquerque@insa.min-saude.pt

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

(2) REQUIMTE-LAQV/Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

(3) Instituto Universitário Egas Moniz

_Resumo

Há uma tendência crescente, nos últimos anos, por parte dos consumidores, para adquirirem alimentos sem glúten e/ou sem lactose. As alterações necessárias à formulação destes alimentos, podem levar a impactos significativos na qualidade nutricional, nomeadamente no que diz respeito aos teores em sal e gordura total. Para avaliar esta questão, foram adquiridos e analisados 12 produtos de pasteleria, sendo 8 sem glúten e 4 sem glúten e sem lactose. O teor de gordura total foi determinado por extração em Soxhlet com éter de petróleo, após hidrólise ácida. O teor de sal foi determinado por titulação pelo método de Charpentier-Volhard. Avaliou-se também o contributo da ingestão dos alimentos analisados, tendo por base os valores de referência recomendados para os componentes analisados, e a sua adequação considerando as metas fixadas pela Estratégia Integrada para a Promoção da Alimentação Saudável (EIPAS). O teor de gordura total nas amostras analisadas variou entre 7,05 e 28,4 g/100 g. Uma das amostras com o menor teor de gordura, foi aquela em que se observou o maior teor de sal (1,22 g/100 g). De acordo com a EIPAS, pretende-se atingir um teor de sal inferior a 0,3 g/100 g. Verificou-se que entre os alimentos analisados existem produtos que têm um elevado teor de gordura e sal, como tal, devem ser tomadas medidas para oferecer opções mais saudáveis aos consumidores.

_Abstract

In recent years, there has been an increasing trend in the demand for gluten-free and/or lactose-free foods. The changes necessary for the formulation of these foods can have a significant impact on their nutritional quality, in particular with regard to salt and fat contents. For this study, 12 pastry products (8 gluten-free, and 4 gluten-free and lactose-free) were purchased and analysed. The total fat content was determined using acid hydrolysis followed by extraction in Soxhlet with petroleum ether, and the salt content was determined by titration using the Charpentier-Volhard method. The contribution of these foods to the daily reference intake of the analysed components and their adequacy based on the goals set by the Integrated Strategy for the Promotion of Healthy Eating (EIPAS) were evaluated. The total fat content in the analysed samples varied between 7.05 and 28.4 g/100 g. One of the samples with the lowest fat content was the one with the highest salt content (1.22 g/100 g). According to EIPAS, it is intended to achieve a salt content of less than 0.3 g/100 g. It was found that among the analysed foods there are products that have a high fat and salt content, therefore measures must be taken to offer healthier choices to consumers.

_Introdução

A alimentação tem um papel fulcral na nossa vida. Além de ser uma necessidade básica, a alimentação é um dos fatores ambientais que mais afeta a saúde dos indivíduos. Para ser saudável, a alimentação deve ser completa, equilibrada e variada. Frequentemente, o consumidor faz escolhas alimentares que não se adaptam às necessidades e características específicas.

Cada vez mais surge uma maior variedade de produtos sem lactose para que os intolerantes à mesma possam consumir laticínios, sem ocorrência de perturbações. O mesmo se verifica para os produtos sem glúten, existindo uma enorme diversidade no mercado, para que indivíduos com doença celíaca ou sensibilidade ao glúten possam continuar a ter uma dieta variada sem comprometer o seu bem-estar.

A lactose é um dissacárido presente no leite dos mamíferos, sendo o principal hidrato de carbono do leite (1). A má absorção de lactose é uma condição comum causada pela redução da expressão ou atividade da enzima lactase no intestino delgado (2). A doença celíaca é uma doença autoimune que danifica o aparelho digestivo, nomeadamente o intestino delgado e interfere com a absorção de nutrientes do alimento (3,4). O glúten está presente em cereais, como o trigo, cevada e centeio. A sensibilidade ao glúten tem sido muito debatida nos últimos anos. Neste caso os indivíduos apresentam melhorias com uma dieta isenta de glúten, embora não preencham os critérios de diagnóstico de doença celíaca.

Produtos alimentares sem lactose e/ou sem glúten podem fornecer nutrientes essenciais aos consumidores que são intolerantes à lactose e ao glúten. Contudo, as alterações

necessárias à formulação deste tipo de alimentos podem ter um impacto significativo na sua qualidade nutricional e segurança. Algumas publicações científicas sugerem que uma alimentação isenta de glúten pode apresentar défices do ponto de vista nutricional, nomeadamente em termos de fibra alimentar, vitaminas e minerais (5).

_Objetivo

Avaliar os teores de sal e gordura total, de alimentos sem lactose e/ou sem glúten e estimar a sua adequação, tendo por base as metas fixadas na Estratégia Integrada para a Promoção da Alimentação Saudável (EIPAS) (6), de forma a possibilitar ao consumidor uma escolha mais saudável, consciente e informada.

_Material e métodos

Foram adquiridos, em 2019, 12 produtos de pastelaria (“Bolachas tipo Maria”, “Bolachas tipo digestivas”, “Bolachas recheadas com creme de leite”, “Bolachas tipo waffers baunilha”, “Bolachas tipo crackers”, “Bolachas areadas com nata e cacau”, “Bolachas recheadas com creme de cacau”, “Croissants pré-cozinhados”, “Madalenas”, “Biscoitos tipo champanhe”, “Bolachas tipo waffers cacau”, “Bolachas areadas cobertas com chocolate de leite”), dos quais 8 sem glúten, e 4 sem glúten e sem lactose.

O teor de gordura total foi determinado por extração em Soxhlet com éter de petróleo 40-60°, após hidrólise ácida, e o teor de sal foi determinado por titulação pelo método de Charpentier-Volhard (7,8). Avaliou-se ainda a contribuição desses alimentos para a ingestão diária de referência destes componentes (6 e 70 g/dia para sal e gordura, respetivamente), e a sua adequação tendo por base as metas fixadas pela EIPAS (6,9).

_Resultados e discussão

O teor de gordura total nas amostras analisadas variou entre 7,05 e 28,4 g/100 g, para os “biscoitos tipo champanhe” e as “Madalenas”, respetivamente (Figura 1). Todos os produtos de pastelaria sem glúten analisados apresentaram um teor de gordura superior a 15 g/100 g, exceto as “bolachas tipo crackers” ($14,1 \pm 0,1$ g/100 g) e os “biscoitos tipo champanhe” ($7,05 \pm 0,01$ g/100 g) (Figura 1). Considerando que a dose de referência para a ingestão de gordura, para um adulto, é de 70 g/dia (9), uma unidade de Madalenas (≈ 30 g) pode contribuir com 12% da dose de referência. A ingestão de alimentos ricos em gordura, nomeadamente em ácidos gordos saturados, está muitas vezes relacionada com um aumento do colesterol das lipoproteínas de baixa densidade e, conseqüentemente, com um aumento do risco de desenvolvimento de doença coronária. O seu consumo deve ser moderado (10).

O teor de sal dos produtos analisados variou entre 0,129 e 1,22 g/100 g (Figura 2). Uma das amostras com o menor teor de gordura, “bolachas tipo crackers”, foi a amostra com maior teor de sal (1,22 g/100 g). O consumo excessivo de alimentos ricos em sal está relacionado com o aumento do risco para desenvolvimento de doenças crónicas, tais como a hipertensão arterial (11). Neste sentido, têm decorrido iniciativas para diminuir o teor de sal dos alimentos.

De acordo com a EIPAS, «para os produtos alimentares, pretende-se atingir os valores definidos pelo Regulamento (CE) n.º 1924/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 20 de dezembro de 2006, relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos, que define um alimento com baixo teor de sal quando este não contiver mais de 0,3 g de sal por 100 g ou 100 ml» (6). Das amostras avaliadas neste trabalho de investigação, 83% têm um teor de sal superior a 0,3 g/100 g (Figura 2).

Figura 1: Teor de gordura (g/100 g) dos produtos sem glúten e/ou sem lactose analisados.

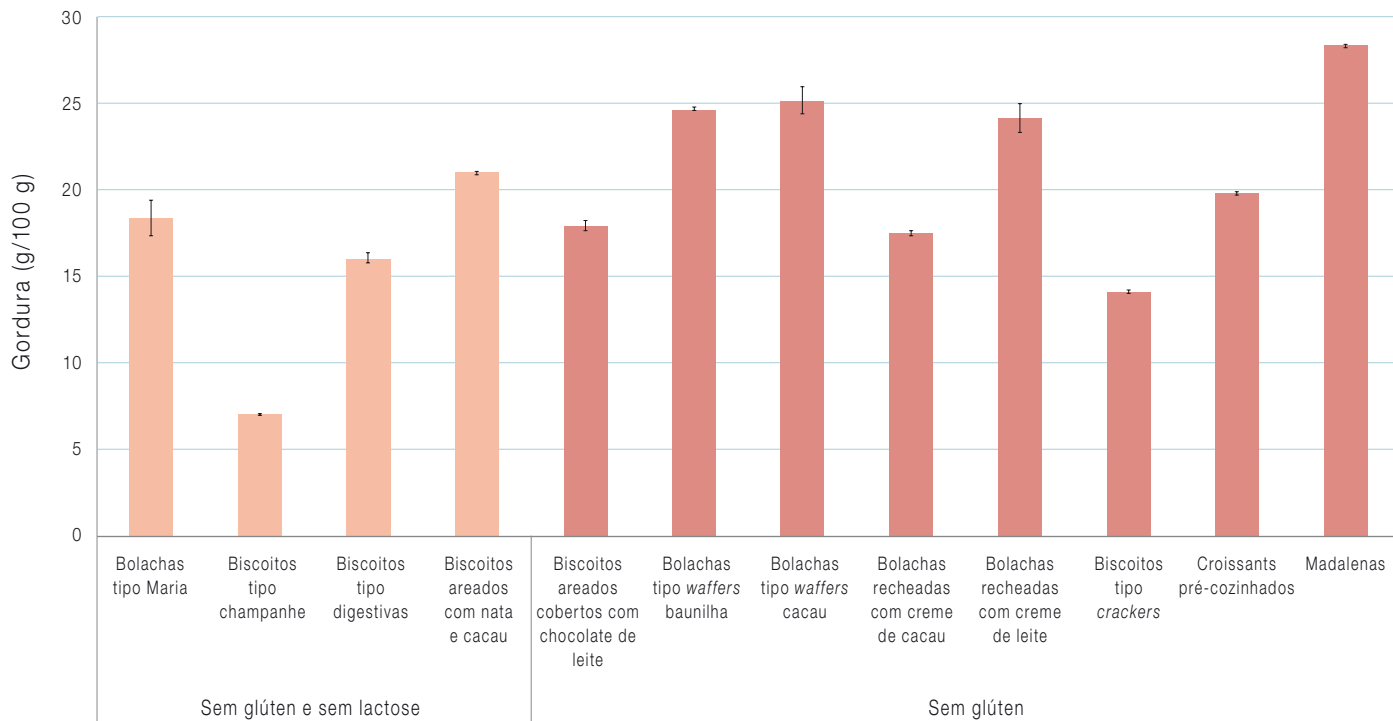
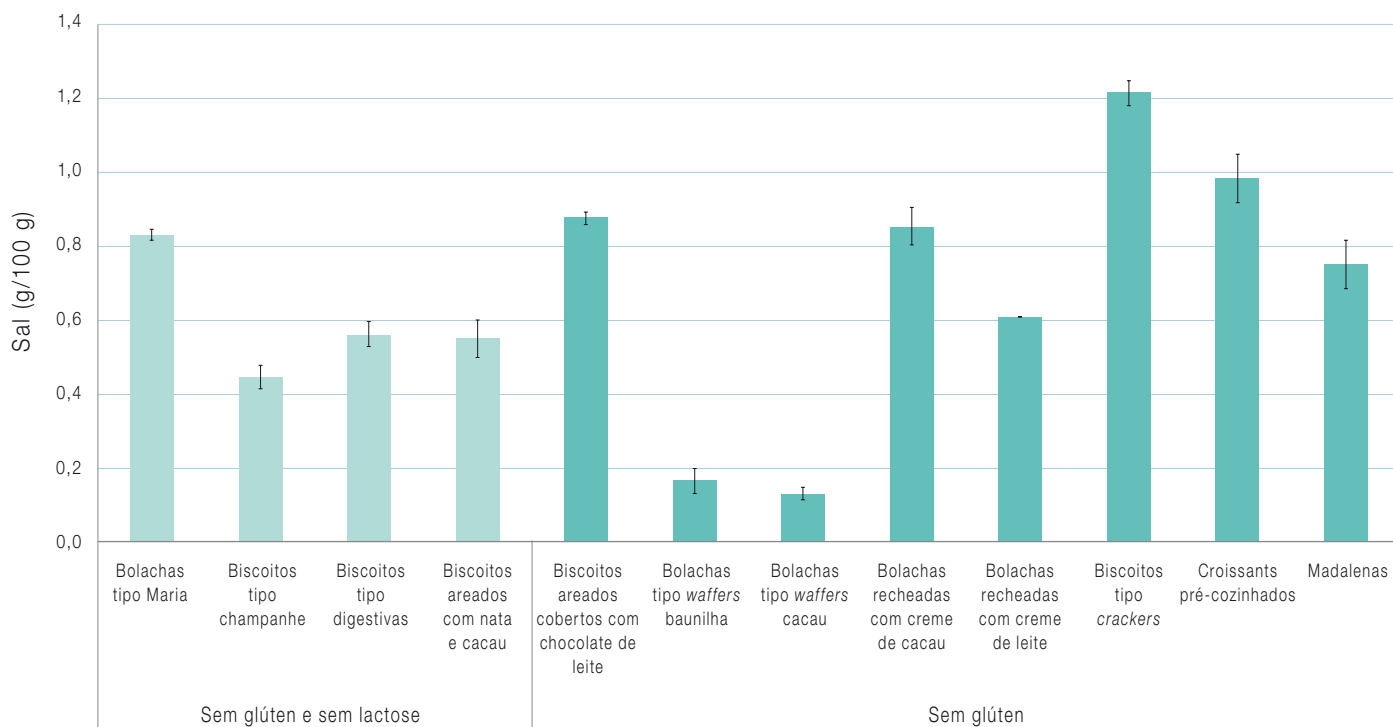


Figura 2: Teor de sal (g/100 g) dos produtos sem glúten e/ou sem lactose analisados.



Conclusões

De forma semelhante ao que acontece com os produtos de pastelaria, produtos sem glúten e/ou sem lactose têm um elevado teor de gordura e sal. Neste trabalho verificou-se que existe uma tendência para os alimentos com menor teor de gordura terem maior teor de sal e vice-versa. A ingestão exagerada destes componentes alimentares pode contribuir para o desenvolvimento de doenças crónicas.

Sendo este grupo de alimentos apreciado pela maioria das faixas etárias, especialmente pelas faixas etárias mais jovens, é importante definir estratégias para a reformulação destes alimentos, sobretudo porque frequentemente são considerados mais saudáveis pelo consumidor, por serem isentos de glúten e/ou lactose.

Por outro lado, iniciativas (como a EIPAS) no sentido de diminuir os teores de sal e gordura nos alimentos, devem continuar a ser desenvolvidas. Em suma, as organizações nacionais e internacionais devem promover a oferta de opções mais saudáveis aos consumidores, promovendo a redução dos teores de gordura saturada e sal.

Referências bibliográficas:

- (1) Mattar R, de Campos Mazo DF, Carrilho FJ. Lactose intolerance: diagnosis, genetic, and clinical factors. *Clin Exp Gastroenterol*. 2012;5:113-121.
- (2) Branquinho VSF. Alergias e Intolerâncias Alimentares: Leite e Trigo Alimentos Complexos? Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. 2016.
- (3) Balakireva AV, Zamyatnin AA. Properties of gluten intolerance: gluten structure, evolution, pathogenicity and detoxification capabilities. *Nutrients*. 2016;8(10):644.
- (4) Shewry PR, Halford NG, Belton PS et al. The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2002;357(1418):133-142.
- (5) Thompson T, Dennis M, Higgins LA, et al. Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium and grain foods? *J Hum Nutr Diet*. 2005;18(3):163-169.
- (6) Despacho n.º 11418/2017. Estratégia Integrada para a Promoção da Alimentação Saudável (EIPAS). Disponível em: <https://dre.pt/pesquisa/-/search/114424591/details/normal?!=1>
- (7) Albuquerque TG, Sanches-Silva A, Santos L, et al. An update on potato crisps contents of moisture, fat, salt and fatty acids (including *trans*-fatty acids) with special emphasis on new oils/fats used for frying. *Int J Food Sci Nutr*. 2012;63(6):713-717.
- (8) Albuquerque TG, Santos J, Silva MA, et al. An update on processed foods: Relationship between salt, saturated and trans fatty acids contents. *Food Chem*. 2018; 267:75-82.
- (9) Comissão Europeia. Regulamento (UE) n.º 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 25 de outubro de 2011, relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios. JO. 22.11.2011: L 304/18-63. <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/1169/oj>
- (10) Nettleton JA, Brouwer IA, Geleijnse JM, et al. Saturated fat consumption and risk of coronary heart disease and ischemic stroke: A science update. *Ann Nutr Metab*. 2017;70(1):26-33.
- (11) Polónia J, Martins L, Pinto F, et al. Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension and salt intake in Portugal: changes over a decade. *J Hypertens*. 2014;32(6):1211-1221.

Exposição da população Portuguesa a micotoxinas: o contributo da biomonitorização humana

Exposure of the Portuguese population to multiple mycotoxins: The contribute of human biomonitoring

Carla Martins^{1,2,3,4}, Arnau Vidal⁵, Marthe De Boevre⁵, Sarah De Saeger⁵, Carla Nunes^{2,4}, Duarte Torres^{6,7}, Ana Goios^{6,7}, Carla Lopes^{6,8}, Ricardo Assunção^{1,3}, Paula Alvito^{1,3}

carla.martins@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Avenida Padre Cruz, 1649-016, Lisboa, Portugal.

(2) Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa, Avenida Padre Cruz, 1600-560, Lisboa, Portugal.

(3) Centro de Estudos do Ambiente e do Mar, Universidade de Aveiro, Campus Universitário de Santiago, 3810-193, Aveiro, Portugal.

(4) Centro de Investigação em Saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa, Avenida Padre Cruz, 1600-560, Lisboa, Portugal.

(5) Centre of Excellence in Mycotoxicology and Public Health, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ghent University, Ottergemsesteenweg 460, B-9000, Ghent, Belgium.

(6) Unidade de Investigação em Epidemiologia, Instituto de Saúde Pública, Universidade do Porto, Rua Das Taipas 135, 4050-091, Porto, Portugal.

(7) Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Faculty of Nutrition and Food Sciences, Universidade do Porto, Rua Dr. Roberto Frias, 4200-465, Porto, Portugal.

(8) Departamento de Saúde Pública e Ciências Forenses, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Alameda Prof. Hernâni Monteiro, 4200-319, Porto, Portugal.

_Resumo

As micotoxinas constituem um grupo de contaminantes alimentares que poderão provocar vários efeitos tóxicos na saúde humana, entre eles efeitos estrogénicos, imunotóxicos, nefrotóxicos e teratogénicos. É por isso importante avaliar a exposição humana a estes compostos, através da análise direta dos seus biomarcadores em amostras biológicas. Em Portugal existem poucos dados disponíveis de exposição a micotoxinas obtidos em estudos de biomonitorização humana. Face a esta ausência de informação, o presente estudo teve como objetivo determinar os biomarcadores de exposição a micotoxinas em amostras de urina de 24 horas, colhidas no âmbito do Inquérito Nacional de Alimentação, Nutrição e Atividade Física da População Geral Portuguesa (2015-2016), e avaliar o risco associado a esta exposição. A determinação analítica destes compostos foi efetuada por cromatografia líquida com deteção por espectrometria de massa permitindo a deteção e quantificação simultânea de 37 biomarcadores de exposição a micotoxinas presentes na urina. Os dados obtidos foram utilizados para estimar a Ingestão Diária Provável e caracterizar o risco através da determinação do Quociente de Perigo. Os resultados obtidos revelaram a exposição da população portuguesa a zearalenona, desoxinivalenol, ocratoxina A, alternariol, citrinina e fumonisina B₁. Os dados de caracterização de risco revelaram uma potencial preocupação, considerando que os valores de referência de ingestão foram excedidos em alguns participantes. A micotoxina alternariol foi identificada e quantificada, pela primeira vez, em amostras de urina num país europeu; no entanto, a caracterização do risco não foi efetuada dado não existir um valor de referência estabelecido internacionalmente. Estes resultados confirmam que a população Portuguesa está exposta a micotoxinas, reforçando a necessidade de mais estudos sobre os determinantes desta exposição.

_Abstract

Mycotoxins constitute a relevant group of food contaminants with several associated health outcomes such as estrogenic, immunotoxic, nephrotoxic and teratogenic effects. In Portugal, few data are available regarding human biomonitoring studies of mycotoxins. The present study

concerned the analysis of mycotoxins in 24h urine samples from 94 participants enrolled within the scope of the National Food, Nutrition, and Physical Activity Survey of the Portuguese General Population (2015-2016). The urine samples were analyzed by liquid chromatography–mass spectrometry for the simultaneous determination of 37 urinary mycotoxins' biomarkers and the obtained data were used to estimate the probable daily intake as well as to characterize the risk applying the Hazard Quotient approach. Results revealed the exposure of the Portuguese population to zearalenone, deoxynivalenol, ochratoxin A, alternariol, citrinin and fumonisin B₁. Risk characterization showed a potential concern to some reported mycotoxins since the reference intake values were exceeded by some of the considered participants. Alternariol was identified for the first time in urine samples from a European country, despite the risk characterization was not performed due to lack of a reference dose, not yet internationally established. These results confirmed mycotoxins as part of the human exposome of the Portuguese population reinforcing the need for further studies regarding the determinants of exposure.

_Introdução

O ser humano está exposto, diariamente, a vários compostos químicos, sendo a alimentação uma das principais vias de exposição. As micotoxinas, metabolitos secundários produzidos por fungos, podem contaminar diferentes tipos de matrizes alimentares nas diversas etapas da sua produção. Estes compostos assumem particular importância em Saúde Pública, considerando os seus efeitos tóxicos nomeadamente, carcinogénicos, genotóxicos, nefrotóxicos, teratogénicos, estrogénicos e imunomoduladores (1,2). A contaminação de alimentos por micotoxinas constitui também um problema

económico, uma vez que uma grande diversidade de alimentos e matérias-primas podem ser afetados comprometendo, em algumas situações, a sua entrada na cadeia alimentar. Apesar de se conhecerem alguns casos bem documentados de intoxicações agudas por micotoxinas, a exposição crónica a baixas doses destas toxinas tem despertado a atenção de investigadores e gestores de risco dado o potencial carcinogénico destes compostos (3). Neste sentido, a *International Agency for Research on Cancer* (IARC) classificou algumas micotoxinas quanto à evidência científica que suporta o seu potencial carcinogénico em humanos, incluindo as aflatoxinas (AF) no grupo 1 (comprovada ação carcinogénica em humanos), ocratoxina A (OTA) e fumonisina B₁ (FB₁) no grupo 2 (possível ação carcinogénica em humanos) e as toxinas de oxinivalenol (DON), zearalenona (ZEN) e citrinina (CIT) no grupo 3 (não classificados quanto à sua carcinogenicidade em humanos) (3, 4). A micotoxina DON é também associada a efeitos gastrointestinais, a ZEN e algumas toxinas de *Alternaria* são disruptores endócrinos, a OTA e a CIT são nefrotóxicas, e as fumonisinas estão associadas a defeitos do tubo neural sendo também nefrotóxicas (4). A ocorrência de micotoxinas nos alimentos habitualmente consumidos em Portugal foi descrita por diferentes autores, caracterizando-se por ser frequente, diversificada em relação aos géneros alimentícios afetados, e ocorrendo em baixas concentrações (5-10). Sendo assim, a exposição da população Portuguesa a micotoxinas através da alimentação caracteriza-se sobretudo por ser uma exposição crónica. A avaliação do risco efetuada através da referida abordagem indireta apresenta algumas limitações nomeadamente a distribuição heterogénea das micotoxinas nos alimentos, a influência dos processamentos culinários, dado não estar habitualmente refletida na avaliação de risco, bem como as variações individuais na metabolização destes compostos (11). Assim, metodologias que permitam uma avaliação da exposição de forma direta, como acontece através dos estudos de biomonitorização humana, permitem avaliar com maior exatidão se os indivíduos estão expostos a determinada substância, qual a magnitude dessa exposição e ainda a sua variação ao longo do tempo (12). De entre as amostras biológicas utilizadas em programas de biomonitorização, a urina revela-se uma das mais frequentemente

te utilizadas justificando-se pela facilidade de colheita destas amostras. Existem já diversos estudos que avaliaram a exposição a micotoxinas pela determinação de biomarcadores em amostras de urina verificando-se a ocorrência de vários biomarcadores urinários de micotoxinas e a potencial co-exposição a diferentes toxinas (13-15).

Os dados obtidos a partir de estudos de biomonitorização humana permitem caracterizar a exposição da população a diversos contaminantes, sendo também importantes para a promoção, avaliação e demonstração da eficácia de medidas preventivas em Saúde Pública baseadas na evidência, conforme enunciado na Declaração de Parma (2010) (16).

_Objetivos

O presente estudo teve como objetivos i) avaliar, pela primeira vez, a exposição da população Portuguesa a micotoxinas através do desenvolvimento de um estudo de biomonitorização humana para a determinação de 37 biomarcadores urinários, utilizando amostras de urina de 24 horas; e ii) caracterizar o risco associado à exposição determinada em i) aplicando as abordagens de dosimetria reversa e quociente de perigo.

_Material e métodos

No âmbito do Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física 2015-2016 (IAN-AF) foi selecionada uma amostra de conveniência de 94 participantes para efetuar a colheita de amostra de urina de 24 horas (17). Este estudo foi aprovado pela Comissão Nacional de Proteção de Dados (Autorização nº 4940/2015) e pela Comissão de Ética do Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto (Decisão nº CE 16053). Os participantes formalizaram a sua participação no estudo através de Consentimento Informado e a colheita de dados decorreu sob a forma de pseudoanonimização (17).

A determinação analítica dos biomarcadores urinários de micotoxinas considerou i) um método de extração baseado em QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rough*); e ii) a análise por cromatografia líquida acoplado a espectrometria de massa (18). A metodologia utilizada considerou a determinação de 37 biomarcadores urinários de micotoxinas, numa

só corrida cromatográfica e com recurso a quantificação por método de padrão interno e curvas de calibração em matriz. A Ingestão Diária Provável (IDP) foi determinada através da abordagem de dosimetria reversa que permite estimar a exposição externa através da ingestão ($\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporal/dia) usando os dados de biomonitorização ($\mu\text{g}/\text{L}$), considerando que a exposição a micotoxinas ocorreu exclusivamente através da ingestão. Para tal, aplicou-se um método determinístico considerando a concentração do biomarcador urinário de micotoxina ($\mu\text{g}/\text{L}$), o volume urinário produzido em 24 horas (L), o peso corporal (kg), a taxa de excreção para cada micotoxina (%), e o rácio de massa entre a micotoxina e o respetivo metabolito (19-20). A IDP foi determinada individualmente para cada participante.

A caracterização do risco decorrente da exposição estimada foi efetuada através da determinação do Quociente de Perigo (QP), que consiste na razão entre os níveis de Ingestão Diária Provável (IDP) e os níveis de Ingestão Diária Tolerável (IDT) para cada micotoxina (se disponível). Se o valor do QP for inferior a 1, considera-se que a exposição não representa uma preocupação em Saúde Pública (20).

Com o objetivo de representar a variabilidade nos resultados de biomarcadores urinários de micotoxinas cujos níveis foram inferiores ao Limite de Detecção do método ($< \text{LD}$), recorreu-se à imputação múltipla baseada em 20 simulações, com um máximo de 100 000 iterações, por forma a imputar a esses resultados um valor entre zero e o respetivo LD. A análise estatística descritiva (medianas, percentis) foi efetuada após o processo de imputação múltipla. A normalidade dos dados foi avaliada através do teste de Shapiro-Wilk. A análise estatística foi efetuada com recurso ao *software* SPSS (versão 24).

_Resultados e discussão

A análise das amostras de urina de 24 horas dos 94 participantes neste estudo revelou a presença de 11, dos 37, biomarcadores urinários de micotoxinas determinados. Apenas cinco amostras (5.3 %) foram negativas para todos os biomarcadores analisados. A Tabela 1 resume os resultados obtidos na determinação de biomarcadores de micotoxinas em urinas de 24 horas.

Pela primeira vez, foi possível confirmar a exposição da população Portuguesa a micotoxinas no âmbito de um estudo de biomonitorização humana, sendo detetada a presença de DON (63%), ZEN (48%), AOH (29%), OTA (18%), FB_1 (7%) e CIT (2%) nas amostras de urina de 24 horas. Verificou-se que DON e os respetivos metabolitos apresentaram a maior frequência de biomarcadores de exposição nas amostras analisadas [DON 63%, deepoxi-desoxinivalenol (DOM-1) 41%, desoxinivalenol-15-glucuronido (DON-15-GlcA) 52%, desoxinivalenol-3-glucuronido (DON-3-GlcA) 44%]. Verificou-se ainda que 78% dos participantes estão expostos a esta micotoxina. Foi também possível confirmar pela primeira vez a exposição da população Portuguesa a desoxinivalenol-3-glucosídeo (DON-3G), com 20% das amostras positivas. O metabolito zearalenona-14-glucuronido (ZEN-14-GlcA) foi determinado em 16% das amostras analisadas, estando de acordo com estudos anteriores que indicam a ZEN-14-GlcA como um dos principais metabolitos da ZEN. É de realçar ainda que se identificou pela primeira vez em amostras biológicas na Europa a micotoxina AOH.

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos relativamente à determinação da Ingestão Diária Provável (IDP) da população considerada, tendo estes cálculos sido feitos individualmente para cada participante. As taxas de excreção consideradas foram obtidas em estudos de intervenção em humanos (18, 22, 28), com exceção da taxa de excreção para alternariol que foi obtida num estudo em que foram utilizados modelos animais (29). A utilização de taxas de excreção obtidas em estudos com poucos indivíduos ou em estudos decorrentes de experimentação animal está associada a uma considerável incerteza; no entanto, estes são os dados atualmente disponíveis e as determinações efetuadas permitem uma abordagem preliminar para a caracterização do risco associado à exposição a micotoxinas.

Relativamente à micotoxina DON, dependendo das taxas de excreção consideradas, foi determinada uma IDP de 0,19 - 0,21 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ pc/dia (mediana). Neste sentido, cerca de 10% dos participantes ultrapassaram a Ingestão Diária Tolerável estabelecida para esta micotoxina. Os resultados estão de acordo com outros estudos efetuados na Europa (15,30)

Tabela 1: ↓ Resultados de biomarcadores de exposição a micotoxinas determinados em amostras de urina de 24 horas (n=94) num estudo de biomonitorização humana em Portugal.

Biomarcadores	Mediana (µg/L)	P90 (µg/L)	P95 (µg/L)	Máximo (µg/L)	> LD (%; n)	> LQ (%; n)
DON	2,51	8,72	16,80	36,31	63%; 59	63%; 59
DOM-1	0,24	2,86	4,05	5,13	41%; 39	39%; 37
DON-3G	0,34	0,84	1,20	2,09	20%; 19	7%; 7
DON-3-GlcA	0,33	11,78	18,53	34,67	44%; 41	37%; 35
DON-15-GlcA	1,73	53,76	76,61	204,17	52%; 49	51%; 48
ZEN	0,17	1,51	2,93	3,98	48%; 45	26%; 24
ZEN-14-GlcA	0,17	5,13	8,78	25,70	16%; 15	16%; 15
OTA	0,006	0,045	0,060	1,23	18%; 17	17%; 16
AOH	0,28	3,81	6,73	24,55	29%; 27	23%; 22
CIT *	0,85	–	–	1,20	2%; 2	1%; 1
FB ₁ *	0,33	–	–	0,48	7%; 7	2%; 2

P90 = Percentil 90; P95 = Percentil 95; LD = Limite de Detecção; LQ = Limite de Quantificação; DON = Desoxinivalenol; DOM-1 = deepoxi-desoxinivalenol; DON-3G = Desoxinivalenol-glicosídeo; DON-3-GlcA = Desoxinivalenol-3-glucurónido; DON-15-GlcA = Desoxinivalenol-15-glucurónido; ZEN = Zearalenona; ZEN-14-GlcA = Zearalenona-14-glucurónido; OTA = Ocratoxina A; AOH = Alternariol; CIT = Citrinina; FB₁ = Fumonisina B₁

* Amostras positivas (> LD).

Tabela 2: ↓ Determinação da Ingestão Diária Provável (IDP) e caracterização do risco (Quociente de Perigo, QP) relativas ao estudo de biomonitorização humana em Portugal.

Micotoxinas	Taxa de Excreção			Ingestão Diária Provável (µg/Kg pc/dia)			VGI (IDT)	Quociente de Perigo (QP)			% de participantes com QP > 1
	Referência	Taxa de Excreção, %	Número de participantes	Mediana	P95	Máximo	(µg/Kg pc/dia)	Mediana	P95	Máximo	
DON	(18)	64%	20	0,21	1,58	3,62	1,00	0,21	1,58	3,62	10
	(25)	72,3%	35	0,19	1,40	3,20		0,19	1,40	3,20	
FB ₁ *	(26)	0,08%	22	7,69	9,18	9,52	1,00	7,69	9,18	9,52	–
	(27)	0,5%	8	1,15	1,38	1,43		1,15	1,38	1,43	
CIT*	(23)	14,75%	2	0,14	0,20	0,21	0,20	0,70	1,01	1,04	–
ZEN	(22)	9,6%	1	0,08	1,43	4,35	0,25	0,32	5,70	17,39	24
OTA	(28)	2,5%	1	0,01	0,04	0,60	0,12****	0,27	2,18	35,10	14
AOH**	(29)	8,3%	***	0,07	2,05	2,45	–	–	–	–	–

VGI = Valores Guia de Ingestão; P90 = Percentil 90; P95 = Percentil 95; DON = Desoxinivalenol; ZEN = Zearalenona; OTA = Ocratoxina A; CIT = Citrinina; FB₁ = Fumonisina B₁; AOH = Alternariol; IDT = Ingestão Diária Tolerável;

* Micotoxinas com percentagem de amostras positivas inferior a 10% - Ingestão Diária Provável e Quociente de Perigo determinado apenas para amostras positivas (CIT, n=2; FB₁, n=7). % de participantes que excederam IDT (QP > 1) não determinada.

** Quociente de Perigo não determinado por ausência de valor de referência.

*** Dados obtidos num estudo em modelo animal (ratos).

**** O valor de Ingestão Semanal Tolerável Provisória (0,12 µg/Kg pc/semana) foi dividido por 7 para efetuar cálculo do QP.

e são corroborados pela ocorrência de DON em diversos alimentos consumidos em Portugal (5,6).

A ingestão diária provável de ZEN determinada neste estudo foi 0,08 µg/Kg pc/dia (mediana). Considerando esta IDP, 24% dos participantes ultrapassaram a Ingestão Diária Tolerável estabelecida. Estes resultados são sugestivos de um padrão de exposição diferente dos restantes países europeus (31,32), sendo particularmente importante avaliar as possíveis consequências desta realidade, recomendando-se a sua reavaliação assim que estiverem disponíveis dados mais robustos de toxicocinética.

Relativamente à OTA foi determinada uma ingestão de 0,01 µg/Kg pc/dia (mediana) em que 14% dos participantes ultrapassaram a Ingestão Diária Tolerável. Apesar de se considerar que existe alguma incerteza na conversão de concentrações urinárias de OTA em ingestão, este padrão de exposição já tinha sido anteriormente reportado em Espanha e Itália (15,32).

Por ausência de valores de referência estabelecidos para a ingestão de AOH bem como de dados de toxicocinética obtidos em estudos de intervenção em humanos, a caracterização do risco decorrente da exposição a AOH não foi determinada. No entanto, e dado o potencial de disrupção endócrina reportado anteriormente (33,34), recomenda-se a reapreciação do risco associado a esta exposição.

Relativamente à CIT e FB₁, a determinação da IDP foi apenas efetuada para as amostras positivas (CIT, n=2; FB₁, n=7). Os resultados determinados para a ingestão diária de FB₁, considerando duas taxas de excreção diferentes, sugerem ambos uma exposição superior à Ingestão Diária Tolerável. No entanto, uma vez que a excreção urinária de FB₁ é baixa e com elevada variabilidade inter-individual, a interpretação destes resultados deverá ser feita com precaução. Relativamente à CIT, um dos participantes excede ligeiramente o QP (1,05), mas dado que a taxa de excreção foi determinada em apenas dois indivíduos e com elevada variabilidade, a incerteza associada deverá ser tida em conta na análise destes resultados.

_Conclusões

O presente estudo permitiu, pela primeira vez, avaliar a exposição da população Portuguesa a micotoxinas, através de um estudo de biomonitorização humana e com a determinação de 37 biomarcadores urinários de exposição a micotoxinas. Os resultados obtidos evidenciaram a exposição da população Portuguesa a seis micotoxinas (DON, ZEN, OTA, AOH, CIT e FB₁). Os resultados obtidos enfatizam a necessidade da avaliação das possíveis consequências da exposição às micotoxinas consideradas, tendo em conta que uma percentagem considerável dos participantes excede os valores guia disponíveis para uma ingestão considerada como tolerável relativamente a três micotoxinas (DON, OTA e ZEN). No entanto, e atendendo às diferentes fontes de incerteza associadas ao presente estudo, em especial no que concerne aos dados de excreção utilizados, os resultados deverão ser analisados com precaução e reavaliados assim que estejam disponíveis novos dados de toxicocinética.

O presente estudo contribui com dados que confirmam a exposição da população Portuguesa a micotoxinas, sendo imperativo esclarecer, em estudos futuros, quais os determinantes desta exposição.

Agradecimentos

São devidos agradecimentos à FCT/MCTES pelo apoio financeiro ao CESAM (UID/AMB/50017/2019) através de fundos nacionais. Este trabalho é financiado por fundos nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e Tecnologia, I.P., no âmbito do projeto earlyMYCO (PTDC/MED-TOX/28762/2017). O IAN-AF foi financiado por EEA Grants Program, Public Health Initiatives (PT06-000088SI3).

Resultados incluídos na publicação:

Martins C, Vidal A, De Boevre M, De Saeger S, Nunes C, Torres D, Goios A, Lopes C, Assunção R, Alvito P (2019) Exposure assessment of Portuguese population to multiple mycotoxins: The human biomonitoring approach. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 222(6):913–25. Doi: 10.1016/j.ijheh.2019.06.010

Referências bibliográficas:

- (1) Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16(3):497–516. Doi: 10.1128/CMR.16.3.497.
- (2) Marín S, Cano-Sancho G, Sanchis V, Ramos AJ. The role of mycotoxins in the human exposome: Application of mycotoxin biomarkers in exposome-health studies. *Food Chem Toxicol.* 2018;121:504–18. Doi: 10.1016/j.fct.2018.09.039
- (3) De Ruyck, K., De Boevre, M., Huybrechts, I., De Saeger, S., 2015. Dietary mycotoxins, coexposure, and carcinogenesis in humans: short review. *Mutat. Res.* 766, 32–41. Doi: 10.1016/j.mrrev.2015.07.003.
- (4) Alvito P. Alterações do estado de saúde associados à alimentação - contaminantes químicos – micotoxinas. 2014; Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, <http://hdl.handle.net/10400.18/2283>.
- (5) Abrunhosa, L., Morales, H., Soares, C., Calado, T., Vila-Chã, A.S., Pereira, M., Venâncio, A., 2016. A review of mycotoxins in food and feed products in Portugal and estimation of probable daily intakes. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 56, 249–265. Doi: 10.1080/10408398.2012.720619.
- (6) Assunção, R., Martins, C., Vasco, E., Jager, A., Oliveira, C., Cunha, S.C., Fernandes, J.O., Nunes, B., Loureiro, S., Alvito, P., 2018. Portuguese children dietary exposure to multiple mycotoxins – an overview of risk assessment under MYCOMIX project. *Food Chem. Toxicol.* 118, 399–408. Doi: 10.1016/j.fct.2018.05.040.
- (7) Martins, C., Assunção, R., Cunha, S.C., Fernandes, J.O., Jager, A., Petta, T., Oliveira, C.A., Alvito, P., 2018. Assessment of multiple mycotoxins in breakfast cereals available in the Portuguese market. *Food Chem.* 239, 132–140. Doi: 10.1016/j.foodchem.2017.06.088.
- (8) Alvito, P.C., Sizoo, E.A., Almeida, C.M.M., van Egmond H.P., 2010. Occurrence of aflatoxins and Ochratoxin A in Baby foods in Portugal. *Food Analytical Methods* 3, 1, 22-30 Doi: 10.1007/s12161-008-9064-x.
- (9) Barreira, M.J., Alvito, P.C., Almeida, C.M.M., 2010. Occurrence of patulin in apple-based-foods in Portugal. *Food Chemistry.* 121, 3, 653–658. Doi: 10.1016/j.foodchem.2009.12.085
- (10) Assunção, R., 2017. Children exposure to multiple mycotoxins through food consumption: a holistic approach for risk assessment. Tese Doutoramento, Universidade de Évora. <http://rdpc.uevora.pt/handle/10174/21305>
- (11) Heyndrickx, E., Sioen, I., Huybrechts, B., Callebaut, A., De Henauw, S., De Saeger, S., 2015. Human biomonitoring of multiple mycotoxins in the Belgian population: results of the BIOMYCO study. *Environ. Int.* 84, 82–89. Doi: 10.1016/j.envint.2015.06.011.
- (12) Choi, J., Mørck, T.A., Polcher, A., Knudsen, L.E., Joas, A., 2015. Review of the State of the Art of Human Biomonitoring for Chemical Substances and its Application to Human Exposure Assessment for Food. EFSA supporting Publication, pp. 321 2015:EN-724.
- (13) Duarte, S., Bento, J., Pena, A., Lino, C.M., Delerue-Matos, C., Oliva-Teles, T., Morais, S., Correia, M., Oliveira, M.B.P.P., Alves, M.R., Pereira, J.A., 2010. Monitoring of ochratoxin A exposure of the Portuguese population through a nationwide urine survey - winter 2007. *Sci. Total Environ.* 408, 1195–1198. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2009.11.048.
- (14) Ali, N., Blaszkewicz, M., Degen, G.H., 2015. Occurrence of the mycotoxin citrinin and its metabolite dihydrocitrinone in urines of German adults. *Arch. Toxicol.* 89, 573–578. Doi: 10.1007/s00204-014-1363-y.
- (15) Vidal, A., Cano-Sancho, G., Marín, S., Ramos, A.J., Sanchis, V., 2016. Multidetec-tion of urinary ochratoxin A, deoxynivalenol and its metabolites: pilot time-course study and risk assessment in Catalonia, Spain. *World Mycotoxin J.* 9, 597–612. Doi: 10.3920/WMJ2015.2006.
- (16) WHO, 2010. Parma Declaration on Environment and Health. Disponível em: http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0011/78608/E93618.pdf
- (17) Lopes, C., Torres, D., Oliveira, A., Severo, M., Guiomar, S., Alarcão, V., Ramos, E., Rodrigues, S., Vilela, S., Oliveira, L., Mota, J., Teixeira, P.J., Nicola, P.J., Soares, S., Andersen, L.F., 2018. National food, nutrition, and physical activity survey of the Portuguese general population (2015–2016): protocol for design and development. *JMIR Res. Protoc.* 7, e42. Doi: 10.2196/resprot.8990.
- (18) Vidal, A., Claeys, L., Mengelers, M., Vanhoorne, V., Vervaet, C., Huybrechts, B., De Saeger, S., De Boevre, M., 2018. Humans significantly metabolize and excrete the mycotoxin deoxynivalenol and its modified form deoxynivalenol-3-glucoside within 24 hours. *Sci. Rep.* 8, 5255. Doi: 10.1038/s41598-018-23526-9.
- (19) Horvat, M., Sarigiannis, D., Handakas, E., Karakitsios, S., Gotti, A., 2017. Report on the optimal methodology for exposure reconstruction from HBM data Deliverable Report WP 12 - from HBM to exposure. Available from: <https://www.hbm4eu.eu/deliverables/>.
- (20) Steckling, N., Gotti, A., Bose-O'Reilly, S., Chapizanis, D., Costopoulou, D., De Vocht, F., Garí, M., Grimalt, J.O., Heath, E., Hiscock, R., Jagodic, M., Karakitsios, S.P., Kedikoglou, K., Kosjek, T., Leondiadis, L., Maggos, T., Mazej, D., Polańska, K., Povey, A., Rovira, J., Schoierer, J., Schuhmacher, M., Špirić, Z., Stajniko, A., Stierum, R., Tratnik, J.S., Vassiliadou, I., Annesi-Maesano, I., Horvat, M., Sarigiannis, D.A., 2018. Biomarkers of exposure in environment-wide association studies – opportunities to decode the exposome using human biomonitoring data. *Environ. Res.* 164, 597–624. Doi: 10.1016/j.envres.2018.02.041.
- (21) EFSA, 2013. International frameworks dealing with human risk assessment of combined exposure to multiple chemicals. *EFSA J.* 11, 3313. Doi: 10.2903/j.efsa.2013.3313.
- (22) Warth, B., Sulyok, M., Berthiller, F., Schuhmacher, R., Krška, R., 2013. New insights into the human metabolism of the Fusarium mycotoxins deoxynivalenol and zearalenone. *Toxicol. Lett.* 220, 88–94. Doi: 10.1016/j.toxlet.2013.04.012.
- (23) Degen, G.H., Ali, N., Gundert-Remy, U., 2018. Preliminary data on citrinin kinetics in humans and their use to estimate citrinin exposure based on biomarkers. *Toxicol. Lett.* 282, 43–48. Doi:10.1016/j.toxlet.2017.10.006.
- (24) Gambacorta, S., Solfrizzo, H., Visconti, A., Powers, S., Cossalter, A.M., Pinton, P., Oswald, I.P., 2013. Validation study on urinary biomarkers of exposure for aflatoxin B1, ochratoxin A, fumonisin B1, deoxynivalenol and zearalenone in piglets. *World Mycotoxin J.* 6, 299–308. Doi: 10.3920/WMJ2013.1549.
- (25) Turner, P.C., White, K.L.M., Burley, V.J., Hopton, R.P., Rajendram, A., Fisher, J., Cade, J.E., Wild, C.P., 2010. A comparison of deoxynivalenol intake and urinary Deoxynivalenol in UK adults. *Biomarkers* 15, 553–562. Doi: 10.3109/1354750X.2010.495787.
- (26) Van Der Westhuizen, L., Shephard, G.S., Burger, H.M., Rheeder, J.P., Gelderblom, W.C.A., Wild, C.P., Gong, Y.Y., 2011. Fumonisin B1 as a urinary biomarker of exposure in a Maize intervention study among South African subsistence farmers. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 20, 483–489. Doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-1002.
- (27) Riley, R.T., Torres, O., Showker, J.L., Zitomer, N.C., Matute, J., Voss, K.A., Gelineau-van Waes, J., Maddox, J.R., Gregory, S.G., Ashley-Koch, A.E., 2012. The kinetics of urinary fumonisin B1 excretion in humans consuming maize-based diets. *Mol. Nutr. Food Res.* 56, 1445–1455. Doi: 10.1002/mnfr.201200166.
- (28) Studer-Rohr, I., Schlatter, J., Dietrich, D.R., 2000. Kinetic parameters and intrain-dividual fluctuations of ochratoxin A plasma levels in humans. *Arch. Toxicol.* 74, 499–510. Doi: 10.1007/s002040000157.
- (29) Puntischer, H., Hanelke, S., Tillmann, K., Attakpah, E., Braun, D., Kütt, M.-L., Del Favero, G., Aichinger, G., Pahlke, G., Höger, H., Marko, D., Warth, B., 2019. First insights into *Alternaria* multi-toxin in vivo metabolism. *Toxicol. Lett.* 301, 168–178. Doi: 10.1016/j.toxlet.2018.10.006.
- (30) Šarkanjan, B., Warth, B., Uhlig, S., Abia, W. a., Sulyok, M., Klapac, T., Krška, R., Banjari, I., 2013. Urinary analysis reveals high deoxynivalenol exposure in pregnant women from Croatia. *Food Chem. Toxicol.* 62, 231–237. Doi: 10.1016/j.fct.2013.08.043.
- (31) Ali, N., Degen, G.H., 2018. Urinary biomarkers of exposure to the mycoestrogen zearalenone and its modified forms in German adults. *Arch. Toxicol.* 92, 2691–2700. Doi: 10.1007/s00204-018-2261-5.
- (32) Solfrizzo, M., Gambacorta, L., Visconti, A., 2014. Assessment of multi-mycotoxin exposure in southern Italy by urinary multi-biomarker determination. *Toxins* 6, 523–538. Doi: 10.3390/toxins6020523.
- (33) Solfrizzo, M., 2017. Recent advances on *Alternaria* mycotoxins. *Curr. Opin. Food Sci.* 17, 57–61. Doi: 10.1016/j.cofs.2017.09.012.
- (34) Dellafiora, L., Warth, B., Schmidt, V., Del Favero, G., Mikula, H., Frohlich, J., Marko D., 2018. An integrated in silico/in vitro approach to assess the xenoestrogenic potential of *Alternaria* mycotoxins and metabolites. *Food Chem* 248:253–261. Doi: 10.1016/j.foodchem.2017.12.013.

Avaliação de impacto na saúde sobre a adoção de recomendações em matéria de operações urbanísticas na reconversão de áreas industriais com solos contaminados: resultados das fases de screening e scoping

Health Impact Assessment on the Adoption of Recommendations regarding Urban Operations in the Reconversion of Industrial Areas with Contaminated Soils: results from the screening and scoping phases

Sónia Namorado¹, Ausenda Machado¹, Cândida Pité², Lígia Ribeiro², Manuela Ferreira³, Vera Noronha²

sonia.namorado@insa.min-saude.pt

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

(2) Departamento de Saúde Pública, Administração Regional de Saúde Lisboa e Vale do Tejo

(3) Ordem dos Enfermeiros

_Resumo

Em 2017 foi produzido um conjunto de recomendações em matéria de operações urbanísticas na reconversão de áreas industriais com solos contaminados. Estas recomendações incluem várias fases de preparação de um projeto de planeamento urbano. A adoção plena destas recomendações nas operações de reconversão de áreas industriais em urbanas poderá ter impacto na saúde humana. Como tal, foi proposto uma avaliação de impacto na saúde (*Health Impact Assessment* - HIA) com o objetivo de analisar o impacto da adoção das recomendações nas operações de reconversão. Foi implementado um estudo urbanístico na reconversão de áreas industriais com solos contaminados. Este trabalho foi realizado no âmbito do Programa de Treino em *Health Impact Assessment* e descreve as etapas de *screening* e *scoping* que foram desenvolvidas utilizando as ferramentas propostas pelo Instituto de Saúde Pública da Irlanda. Foram realizados *focus groups* com elementos de instituições públicas da área da saúde humana para preencher as ferramentas. Com base numa revisão da literatura, foi desenvolvido um modelo conceptual de exposição para identificar as principais vias de exposição e os efeitos na saúde associados a serem avaliados no âmbito do HIA. A análise efetuada na fase de *screening*, realizada considerando os possíveis impactos na saúde, levou a que se continuasse o desenvolvimento deste HIA. O modelo conceptual de exposição desenvolvido na fase de *scoping* permitiu identificar como principal via de exposição da população residente a exposição por inalação de compostos voláteis.

_Abstract

In 2017 a set of recommendations regarding urban operations in the reconversion of industrial areas with contaminated soils were produced. These recommendations included several phases of preparation of the urban planning project. The full adoption of these recommendations in all reconversion operations from industrial into urban areas may have impacts on the human health. A Health Impact Assessment (HIA) was proposed with the aim to analyze the impact on human health of the adoption of these recommendations in urbanization operations in the reconversion of industrial areas with contaminated soils. The present work is included in a training programme in Health Impact Assessment and describes the screening and scoping phases developed using the tools proposed by the Institute of Public Health in Ireland. Several focus groups with elements

from public institutions with competences in the human health area were conducted to fill the screening and scoping tools. Based on a literature review, a comprehensive causal pathway was developed to identify main exposure routes and respective health effects to be evaluated in the HIA scope. Results from the screening, considering the possible health impacts, lead to the further development of the HIA. The conceptual exposure model developed in the scoping allowed to identify as main exposure pathway for the resident population the inhalation of volatile compounds.

_Introdução

No âmbito do 7º Programa de Ação para o Ambiente da União Europeia para 2020 ⁽¹⁾ em matéria de ambiente foram identificados mais de meio milhão de locais contaminados na União Europeia. Estes locais, até serem avaliados e remediados, poderão representar riscos com elevados impactos ambientais, económicos e sociais.

Em 2006, a Comissão Europeia propôs uma diretiva-quadro sobre o solo, ⁽²⁾ com o objetivo de prevenir a degradação do solo, preservar as respetivas funções e reabilitar os solos degradados. Tal diretiva surgiu da necessidade de abordar as questões da produtividade do solo, dos riscos para a saúde e para o ambiente, bem como da atenuação das alterações climáticas e adaptação às mesmas.

Decorrente desta diretiva nas últimas décadas tem vindo a ocorrer a reconversão de áreas industriais em áreas urbanas. Em Portugal o projeto legislativo relativo à Prevenção da Contaminação e Remediação dos Solos (Lei ProSolos) ⁽³⁾ pretende estabelecer o regime jurídico da prevenção da contaminação e remediação dos solos, com vista à salvaguarda

do ambiente e da saúde humana, fixando o processo de avaliação da qualidade e de remediação do solo, bem como a responsabilização pela sua contaminação, assente nos princípios do poluidor-pagador e da responsabilidade. Por outro lado, em 2017, foi produzido um conjunto de recomendações em matéria de operações urbanísticas na reconversão de áreas industriais com solos contaminados (4). Estas recomendações foram produzidas por uma Comissão Técnica integrando representantes das seguintes entidades: Agência Portuguesa do Ambiente (APA), Direção-Geral da Saúde (DGS), Autoridade de Saúde, Comissão de Coordenação e Desenvolvimento Regional de Lisboa e Vale do Tejo (CCDR LVT), Câmara Municipal de Lisboa (CML), Serviço Municipal de Proteção Civil (SMPC) e Inspeção-Geral da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território (IGAMAOT), a última na qualidade de observador. Estas recomendações aplicam-se a diversas fases: avaliação da qualidade do solo; processo de descontaminação (em caso de perigo para a saúde humana); avaliação contínua da qualidade da água e do ar, resíduos (incluindo resíduos aquosos) e saúde ocupacional durante a implementação da operação urbanística.

A adoção plena destas recomendações poderá ter impacto na saúde humana pelo que é importante avaliar o impacto de adotar estas recomendações utilizando uma estratégia de avaliação de impacto na saúde (HIA – *Health Impact Assessment*). Assim, este HIA tem como objetivo avaliar o impacto da adoção das recomendações emanadas pela Comissão Técnica em matéria de operações urbanísticas na reconversão de áreas industriais com solos contaminados.

_Material e Métodos

No âmbito de um Programa de Treino em *Health Impact Assessment* foi implementado um estudo de avaliação de impacto na saúde retrospectivo por uma equipa constituída por elementos da Administração Regional da Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Instituto Nacional de Estatística e Ordem dos Enfermeiros. Foram utilizados as ferramentas de *screening* e *scoping* propostas pelo Instituto de Saúde Pública da Irlanda para a realização de HIAs (5). Na fase de *screening*

foram realizadas 3 *focus groups* para o preenchimento da ferramenta de *screening*. Na fase de *scoping*, para além da identificação dos *stakeholders*, foram definidos os termos de referência e o plano do HIA recorrendo à ferramenta de *scoping* e à realização de 6 *focus groups*. Nesta fase foram ainda desenvolvidos um modelo conceptual de exposição e um modelo causal para o problema abordado neste HIA adaptado da literatura (6).

_Resultados

Na fase de *screening* foi identificada como relevante tanto a população residente como a população trabalhadora numa antiga área industrial reconvertida para urbana. Particular atenção deveria ser dada à população mais suscetível, nomeadamente grávidas, crianças e idosos. Seguidamente foram identificadas as condições mais prováveis de influenciar a saúde da população alvo, isto é, as que teriam maior impacto nos determinantes de saúde dessa população. Na área de acesso a serviços públicos foram identificados o acesso a atividades culturais ou desportivas e o acesso a serviços de saúde. Na área da residência e construção foram identificados as condições de habitação, construção, espaços verdes e outros espaços públicos. Na área do ambiente foram identificados a qualidade dos solos, ar e água. Como fatores socioeconómicos foram identificados a educação, emprego e rendimento, e como fatores comportamentais a coesão familiar, a interação na comunidade e a prática de atividades desportivas. Dado que os possíveis impactos na saúde foram considerados prováveis, foi decidido na fase de *screening* prosseguir com o HIA.

Na fase de *scoping* foi desenvolvido um modelo conceptual de exposição para caracterizar as possíveis vias de exposição num cenário de solos contaminados (Figura 1). De acordo com este modelo, a exposição pode ocorrer por inalação dos compostos voláteis presentes no ar, por ingestão de solo contaminado ou por contacto dérmico com o solo contaminado. No caso da população residente será pouco provável que ocorra exposição por ingestão ou por contacto dérmico com o solo contaminado, uma vez que durante as operações urbanísticas esta população não terá contacto direto com o

solo contaminado e que após a finalização das operações o solo contaminado não estará acessível. O modelo conceptual de exposição permitiu então identificar como principal via de exposição da população residente a exposição por inalação de compostos voláteis.

Nesta fase foi também desenhado um modelo causal adaptado ao problema abordado neste HIA, apresentado na **Figura 2**. Segundo o modelo proposto a qualidade do ar está relacionada com a ocorrência de doença respiratória e

cardiovascular (7-9); neoplasias (especialmente cancro de pulmão) (10); piores resultados reprodutivos (11); queixas e sintomas indefinidos, nomeadamente dor de cabeça (12); e pior saúde mental e bem-estar (13). Por outro lado, a prática de exercício físico está relacionada com uma redução da ocorrência de doença cardiovascular, e a saúde mental (14) e o bem-estar com fatores socioeconómicos e comportamentais, como é o caso da coesão familiar e da interação na comunidade (15).

Figura 1:  Modelo conceptual de exposição.

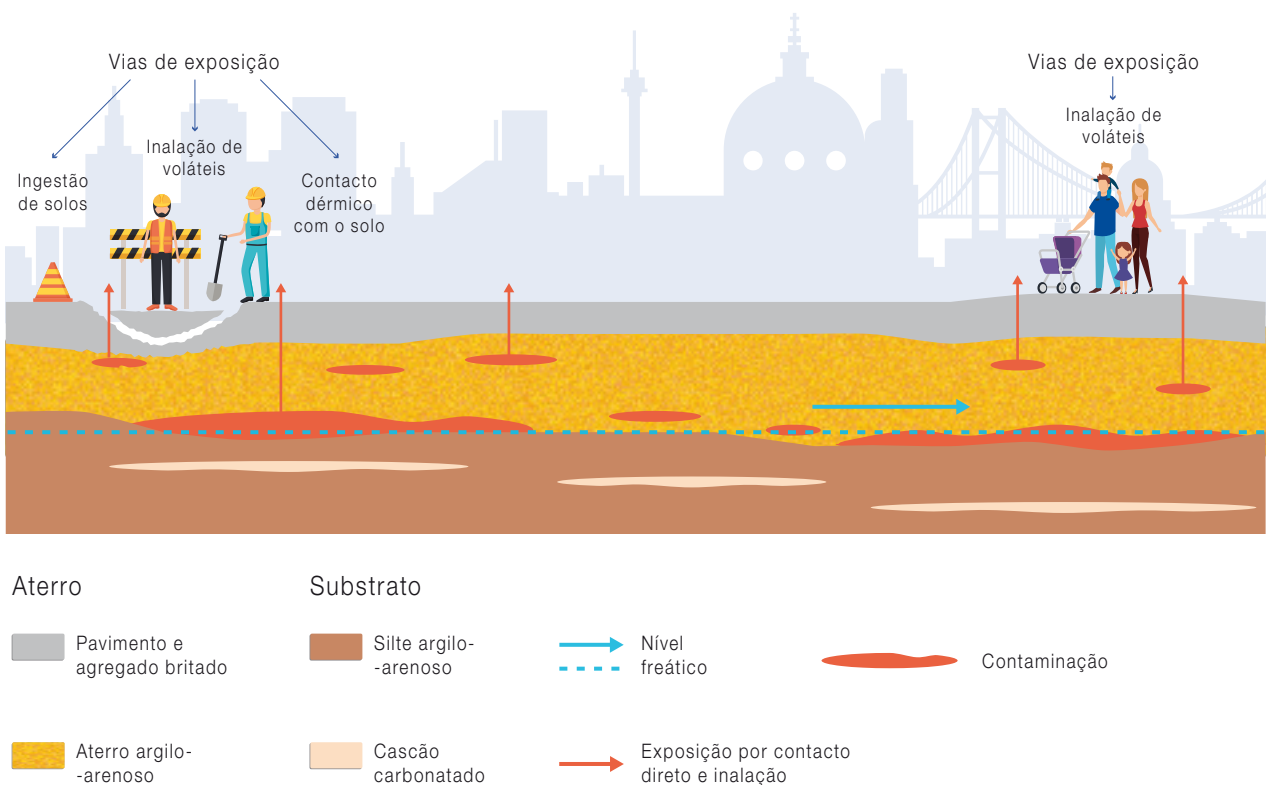
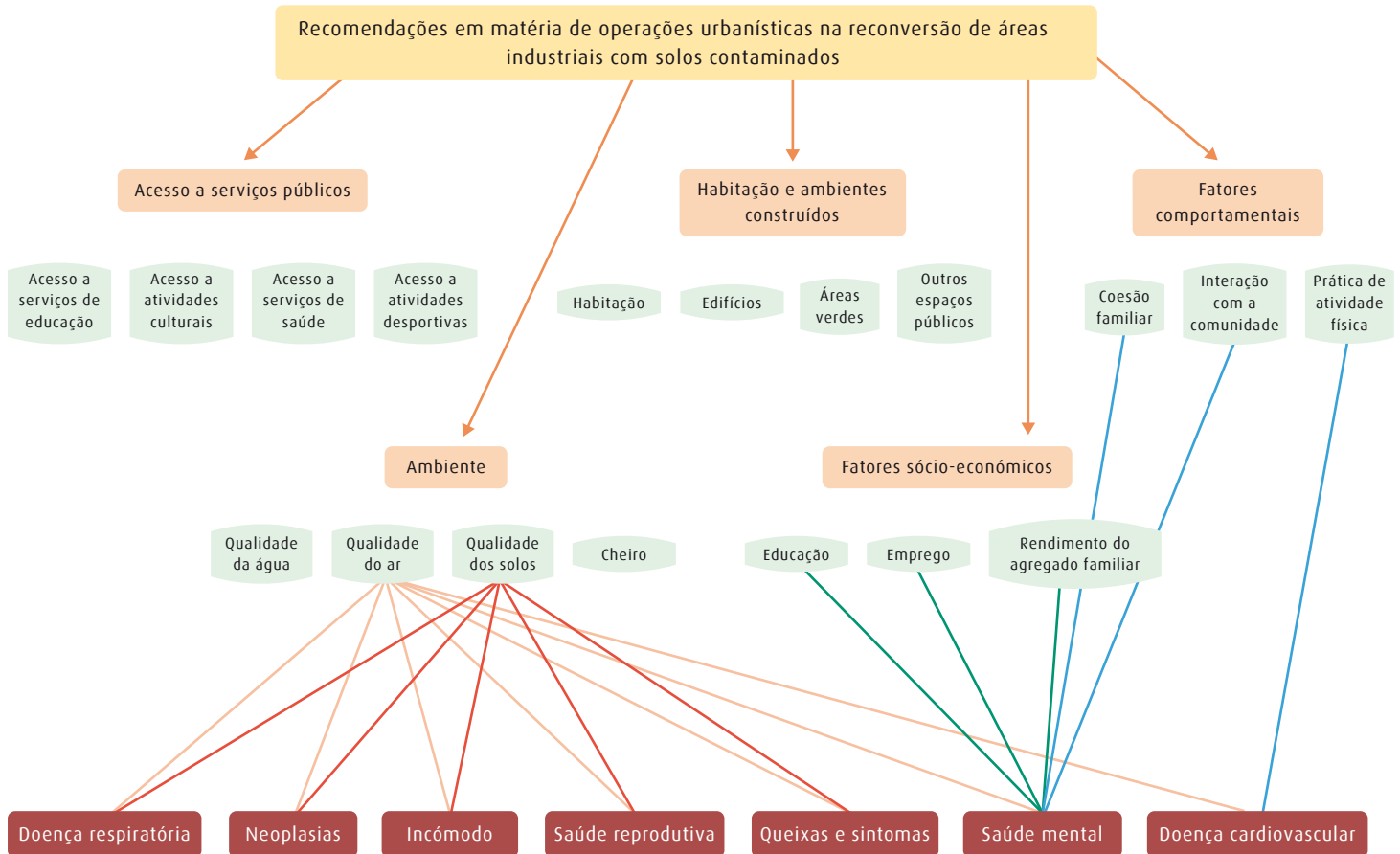


Figura 2: Modelo causal.



Conclusões

Da análise efetuada na fase de *screening* foi decidido continuar o desenvolvimento do HIA, embora tenham sido identificados condicionantes para a sua realização, nomeadamente no que respeita à disponibilidade de recursos humanos capacitados. O modelo causal adaptado ao problema abordado neste HIA será utilizado na fase seguinte de avaliação de risco.

Agradecimentos

Trabalho desenvolvido no âmbito do Programa de Treino em *Health Impact Assessment* nos termos do Acordo de Colaboração Bial (BCA) entre a Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Ministério da Saúde de Portugal, coordenado pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA).

Referências bibliográficas:

- (1) Decisão nº 1386/2013/UE do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de novembro de 2013; disponível em: http://www2.icnf.pt/portal/pn/biodiversidade/ei/resource/doc/estrategia-uniao-europ-eia/3-7-PAA_Decisao-1386_2013.pdf
- (2) COM(2006) 232 - Proposta de Directiva do Parlamento Europeu e do Conselho que estabelece um quadro para a protecção do solo e altera a Directiva 2004/35/CE; disponível em: <https://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/1/2006/PT/1-2006-232-PT-F1-1.pdf>
- (3) Projeto de Decreto-Lei sobre prevenção da contaminação e remediação dos solos.
- (4) Agência Portuguesa do Ambiente (2017). Medidas/Recomendações a Adotar em Matéria de Licenciamento, Acompanhamento da Execução, Fiscalização e Inspeção de Futuras Obras no Parque das Nações. Comissão Técnica, Lisboa, Portugal; disponível em: <https://apambiente.pt/index.php?ref=16&subref=1479&sub2ref=1481>.
- (5) Metcalfe O, Higgins C, Lavin T (2009). Health Impact Assessment Guidance. Institute of Public Health in Ireland, Dublin, Ireland.
- (6) Central Lincolnshire Joint Planning Unit, 2011, Integrated Impact Assessment Framework.
- (7) Schraufnagel DE, Balmes JR, Cowi CT et al (2019). Air Pollution and Noncommunicable Diseases: A Review by the Forum of International Respiratory Societies' Environmental Committee, Part 1: The Damaging Effects of Air Pollution. *Chest*. 2019 Feb;155(2):409-416. doi: 10.1016/j.chest.2018.10.042.
- (8) Mannucci PM, Harari S, Martinelli I, Franchini M (2015). Effects on health of air pollution: a narrative review. *Intern Emerg Med*. 2015 Sep;10(6):657-62. doi: 10.1007/s11739-015-1276-7.

artigos breves_ n. 9

- (9) Shah AS, Langrish JP, Nair H et al (2013). Global association of air pollution and heart failure: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2013 Sep 21;382(9897):1039-48. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60898-3.
- (10) Kim HB, Shim JY, Park B, Lee YJ (2018). Long-Term Exposure to Air Pollutants and Cancer Mortality: A Meta-Analysis of Cohort Studies. *Int J Environ Res Public Health*. 2018 Nov 21;15(11). pii: E2608. doi: 10.3390/ijerph15112608.
- (11) Guo LQ, Chen Y, Mi BB, Dang SN et al (2019). Ambient air pollution and adverse birth outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2019 Mar.;20(3):238-252. doi: 10.1631/jzus.B1800122.
- (12) Vodonos A, Novack V, Zlotnik Y, Ifergane G (2015). Ambient air pollution, weather and daily emergency department visits for headache. *Cephalalgia*. 2015 Oct;35(12):1085-91. doi: 10.1177/0333102415570300.
- (13) Gładka A, Rymaszewska J, Zatoński T (2018). Impact of air pollution on depression and suicide. *Int J Occup Med Environ Health*. 2018 Dec 20;31(6):711-721. doi: 10.13075/ijomeh.1896.01277.
- (14) Eijsvogels TM, George KP, Thompson PD (2016). Cardiovascular benefits and risks across the physical activity continuum. *Curr Opin Cardiol*. 2016 Sep;31(5):566-71. doi: 10.1097/HCO.0000000000000321.
- (15) Guo M, Li S, Liu J, Sun F. Family relations, social connections, and mental health among Latino and Asian older adults. *Res Aging*. 2015 Feb;37(2):123-47. doi: 10.1177/0164027514523298. Epub 2014 Feb 23. PubMed PMID: 25651554.

Caracterização da população bacteriana em barragens na bacia hidrográfica do Sado

Characterization of the bacterial population in water dams of the Sado watershed

Maria Sousa^{1,2}, Patrícia Morgado¹, João Rodrigues³, Rui Matias³, Isabel Nogueira⁴, Luísa Jordão¹

maria.jordao@insa.min-saude.pt

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

(2) Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa.

(3) Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

(4) Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, Microlab.

_Resumo

As barragens são fundamentais para a gestão dos recursos hídricos. Estas infraestruturas permitem regular os caudais e aproveitar a água para diversas atividades como a agricultura, pecuária, captação para consumo humano e turismo (p.e. praias fluviais e desportos aquáticos). Neste estudo, foi avaliada a flora bacteriana (planctónica e organizada em biofilmes) presente em 4 barragens da bacia hidrográfica do rio Sado. A caracterização da flora bacteriana presente para além de permitir a caracterização do ecossistema permite inferir sobre potenciais riscos para a saúde humana decorrentes dos diversos usos da água.

_Abstract

Water dams are crucial for water management. These infrastructures allow the control of water flows and usage of water for activities such as agriculture, livestock, for human consumption and tourism (e.g. beaches and aquatic sports). In this study, the bacterial flora present in four dams located at the hydrographic basin of Sado river was evaluated (planktonic and organized in biofilms). The characterization of the bacterial flora allows the characterization of the ecosystem and speculate about the potential risks for human health caused by water usage for different applications.

_Introdução

A água é um bem essencial à vida, contudo pode também veicular microrganismos patogénicos como por exemplo, o agente etiológico da cólera (1). Como tal, é fundamental assegurar a qualidade, não só da água para consumo humano, mas também de águas recreativas e ornamentais em ambiente natural ou humanizado. O controlo de qualidade da água deve ser realizado de acordo com o seu uso o que se reflete na legislação aplicável a cada tipo de água. No caso da água para consumo humano os parâmetros a analisar estão devidamente regulamentados pelo DL152/2017 de 7 de dezembro,

o mesmo sucede com águas recreativas como por exemplo piscinas (NP4542/ 2017) mas, por exemplo, no caso de águas ornamentais não existem quaisquer normativas embora estas também possam funcionar como reservatórios de microrganismos potencialmente patogénicos para o Homem.

Em Portugal, a bacia hidrográfica do rio Sado constituída por 8 barragens (Alvito, Odivelas, Campilhas, Fonte Serne, Monte da Rocha, Pego do Altar, Roxo e Vale do Galho) apresenta elementos de elevado valor patrimonial e paisagístico. Os seus 7692 km² de área fazem dela a bacia com maior área inteiramente portuguesa (2).

A água armazenada nestas barragens, nomeadamente nas quatro estudadas neste trabalho (Alvito, Odivelas, Monte da Rocha e Roxo), é utilizada para diversos fins como captação de água para abastecimento (público e industrial), atividades agrícolas como é o caso das barragens de Monte da Rocha e Roxo (3). A barragem do Alvito é também utilizada para fins recreativos (desportos náuticos). Pelo exposto, a avaliação periódica da qualidade da água é importante para salvaguardar o bem-estar da comunidade.

Para além de avaliar a flora planctónica é também importante pesquisar a presença de biofilmes. Os biofilmes são comunidades complexas formadas por microrganismos de diferentes espécies envolvidos numa matriz extracelular secretada pelos mesmos. Os biofilmes são uma estratégia de sobrevivência dos microrganismos que lhes permite resistir a diversos fatores de stress como exposição a elementos tóxicos e carências nutricionais. O seu estudo é relevante uma vez que estão associados a um aumento da resistência a antimicrobianos podendo originar infeções no Homem de difícil tratamento. A avaliação da presença de reservatórios ambientais de mi-

crorganismos potencialmente patogénicos para o Homem organizados em biofilmes é por isso relevante.

_Objetivos

Este trabalho tem como objetivo caracterizar a população bacteriana presente em 4 barragens localizadas na bacia hidrográfica do rio Sado. A eventual identificação de reservatórios de microrganismos potencialmente patogénicos para o Homem foi outro objetivo do trabalho.

_Metodologia

Amostragem

Em julho de 2016, foram colhidas amostras de água superficial e biofilmes como descrito anteriormente (4) em 4 barragens da bacia hidrográfica do rio Sado: Monte da Rocha (37°43'40.0"N 8°18'03.9"W, Barragem 1), Roxo (37°56'36.7"N 8°03'56.8"W, Barragem 2), Alvito (38°16'56.0"N 7°54'57.6"W, Barragem 3) e Odivelas (38°11'06.9"N 8°06'54.9"W, Barragem 4) (figura 1). Doravante as barragens serão representadas pelos respetivos números. A temperatura e o pH da água foram determinados no local da colheita.

Adicionalmente, foram recolhidas 2 amostras de sedimentos para estudo de biofilmes. O sedimento foi colocado em paraformaldeído a 4% em tampão fosfato (PFA 4%) no local da colheita.

Caracterização microbiológica das amostras

Foram filtrados 10 mL de água através duma membrana com poro de 0,45 µm. Os filtros foram transferidos para meio Drigalski e Muller Hinton agar e incubados a 30°C ou 37°C durante 24 horas. Os biofilmes foram dispersos em 10 mL de PBS e processados da mesma forma. As bactérias presentes nos meios de cultura foram identificadas utilizando o VITEK2 como descrito anteriormente (4).

Microscopia eletrónica de varrimento (SEM)

As amostras foram processadas para SEM como descrito anteriormente por Bandeira e colegas (5), com pequenas alterações. As amostras foram tratadas com tetróxido de ósmio a

1% em PBS durante 1 hora à temperatura ambiente, desidratadas com soluções de etanol de concentração crescente (30, 50, 70 e 95%) durante 30 minutos e com uma solução de etanol absoluto (3 vezes durante 30 minutos). Os sedimentos foram transferidos para um suporte com fita de carbono dupla e colocados num exsiccador até ficarem completamente secos. As amostras foram cobertas com um filme de carbono com 20 mm de espessura (Sputter Coater QISOT ES) e observadas num microscópio eletrónico de varrimento (JSM-7100F JEOL).

_Resultados e discussão

Este estudo consistiu na identificação de espécies bacterianas nas principais barragens pertencentes à bacia hidrográfica do rio Sado. As características físico-químicas e microbiológicas das amostras são apresentadas na tabela 1.

Em todos os casos, o pH da água estava próximo da neutralidade ou era neutro, tendo oscilado entre 6,6 (Barragem 1) e 7,1 (Barragem 3). A temperatura da água oscilou entre os 27°C (Barragem 1) e 33°C (Barragem 3). Os valores da temperatura podem ter sido influenciados pela hora a que foi efetuada a colheita; uma vez que as temperaturas registadas nas colheitas efetuadas no período da manhã foram inferiores às que se registaram no período da tarde.

Todas as amostras de água apresentavam uma elevada carga microbiana. Embora todas as amostras tenham sido consideradas como incontáveis (> 300 Unidades Formadoras de Colónias (UFC)/10 mL), o número de UFC nas amostras colhidas nas barragens 2 e 4 era mais elevado do que nas barragens 1 e 3. Este facto pode estar relacionado com uma maior eutrofização da água nas barragens 2 e 4, evidenciado pela presença de uma comunidade fitoplantónica muito abundante, como se pode observar na figura 2.

Independentemente, da carga microbiana presente, em todos os casos foram identificadas bactérias potencialmente patogénicas para o Homem. Estas bactérias foram isoladas tanto na forma planctónica (água) como na forma sésil organizadas em biofilmes. Contudo, como se pode observar na tabela 1, foram identificadas espécies distintas na água e nos biofilmes.

Tabela 1: Caracterização das amostras.

Local da colheita		Características físico-químicas da água		Análise microbiológica	
Identificação	Coordenadas GPS	Temperatura (°C)	pH	Água	Biofilme
Albufeira do Monte da Rocha (Barragem 1)	37°43'40.0"N 8°18'03.9"W	27	6,6	<i>Serratia marcescens</i> <i>Aeromonas veroni</i> <i>Aeromonas sobria</i>	<i>Citrobacter braakii</i> <i>Acinetobacter baumani complex</i>
Albufeira do Roxo (Barragem 2)	37°56'36.7"N 8°03'56.8"W	28	7,0	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	<i>Pseudomonas spp</i> <i>Delftia acidovorans</i> <i>Pseudomonas putida</i>
Albufeira do Alvito (Barragem 3)	38°16'56.0"N 7°54'57.6"W	33	7,1	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Aeromonas sobria</i>
Albufeira de Odivelas (Barragem 4)	38°11'06.9"N 8°06'54.9"W	30	6,8	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Enterobacter cloacae complex</i> <i>Acinetobacter baumanni complex</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Pseudomonas putida</i>	<i>Proteus vulgaris</i> <i>Enterobacter cloacae complex</i>

Figura 1: Distribuição geográfica das albufeiras.

Na figura, as barragens estão identificadas por números: 1 – Barragem do Monte da Rocha 2 – Barragem do Roxo 3 – Barragem do Alvito 4 – Barragem de Odivelas



Figura 2: Micrografia de sedimento colhido na barragem do Roxo (2).

O sedimento foi observado por microscopia eletrónica de varrimento tendo sido identificadas espécies de diversos grupos fitoplanctónicos. A barra da escala corresponde a 10 µm.

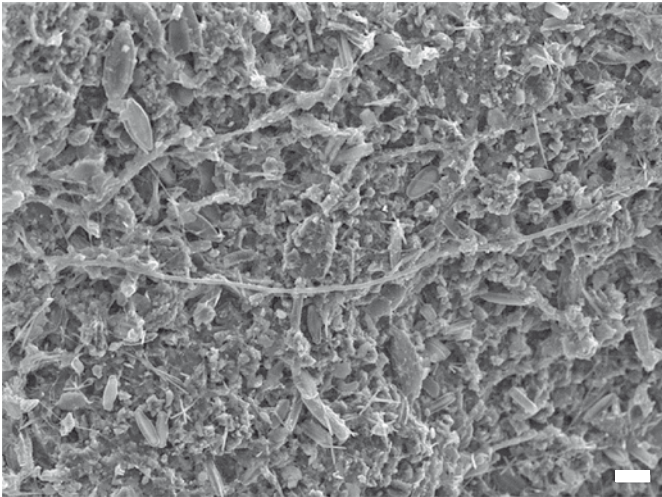


Figura 3: Imagem do local onde foi efetuada a colheita na barragem de Odivelas (4).

Na fotografia é visível um peixe em estado de decomposição avançada.



De seguida, tentamos relacionar a flora bacteriana presente nas amostras das diferentes barragens com outras características dos ecossistemas nomeadamente com existência de ligação entre as barragens. Como referido anteriormente, este estudo foi realizado em julho de 2016, menos de um

mês após a abertura da ligação à albufeira da barragem do Alqueva. Esta ligação é efetuada pela barragem 3, que por sua vez, está ligada à barragem 2 (3).

Ambas as barragens (2 e 3) são utilizadas para apoio à atividade agrícola e abastecimento, sendo que na barragem 3 é possível realizar atividades náuticas e recreativas. A ausência de microrganismos indicadores de contaminação fecal nas amostras analisadas foi um aspeto importante em termos de avaliação de risco. Contudo, existem alguns microrganismos identificados em ambas as barragens que são potencialmente patogénicos para o Homem (6,7). A *Aeromonas sobria*, isolada na barragem 2, faz parte da flora intestinal dos peixes e é responsável por infeções gastrointestinais no Homem, em populações imunodeprimidas (8,9). A presença de bactérias do género *Pseudomonas* e *Enterobacter* nas amostras da barragem 3 e 2, respetivamente, também captou a nossa atenção porque algumas espécies destes géneros são responsáveis por infeções associadas aos cuidados de saúde (10,11).

Na barragem 1 foram identificados microrganismos tipicamente associadas à colonização/infeção nos peixes (água) e distúrbios gastrointestinais no Homem. No biofilme realçamos a presença de *Acinetobacter baumani complex* que apresenta um risco para o consumo humano uma vez que é uma bactéria que está associada a infeções na pele e trato respiratório (8,9). A capacidade de formarem biofilme é também um fator que lhes confere maior resistência a fatores de stress, como por exemplo agentes antimicrobianos. Assim, a utilização desta água para fins de rega e/ou banhar pode constituir um problema para a saúde uma vez que o contacto com os microrganismos presentes na água pode causar infeções quer através da contaminação de produtos agrícolas que são consumidos sem serem cozinhados (ex: alfaces) quer através do contacto direto com o Homem (ingestão e contacto com a pele e mucosas). Por outro lado, como está prevista a ligação entre as barragens 1 e 2, tal poderá permitir a disseminação das bactérias da barragem 1 para a barragem 2 uma vez que o sentido da corrente seria de Sul para Norte (característica do rio Sado). Se a premissa se confirmar, a barragem 2 que é considerada uma barragem “protegida” apresentando muitas restrições de uso (pesca,

banhos, navegação recreativa), poderia registar um decréscimo na qualidade da água armazenada na albufeira (3).

As amostras (água e biofilmes) onde se verificou uma maior diversidade bacteriana foram as da barragem 4. Este facto poderá, em parte, estar associado à presença de peixes mortos nesta albufeira (figura 3) uma vez que as espécies bacterianas isoladas, nomeadamente *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas putida* e *Stenotrophomonas maltophilia*, estão associadas à putrefação e degradação de peixes (12). A identificação do coliforme fecal *Citrobacter freundii*, habitualmente presentes no trato intestinal dos animais, indicia a contaminação com matéria fecal recente. A presença de *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus vulgaris* associados a diversas infeções no Homem desaconselha igualmente o contacto com esta água (13,14). A monitorização periódica da qualidade desta água seria importante em termos de saúde pública, uma vez que esta área é usada para fins recreativos nomeadamente como praia fluvial.

Seria interessante e benéfico fazer um estudo posterior para verificar se ocorreu permuta de microrganismos entre as barragens ligadas entre si. Uma vez que a ligação no momento deste estudo era recente, não teria ainda ocorrido uma transferência significativa entre os vários ecossistemas o que se traduziu numa grande diversidade microbiológica entre as barragens que se encontram ligadas (2 e 3). Se este estudo fosse efetuado, seria de esperar uma maior homogeneidade na população bacteriana dos dois corpos de água.

Conclusão

Este trabalho contribuiu para aumentar o conhecimento relativamente aos ecossistemas estudados.

A caracterização da flora microbiana permitiu identificar a presença de bactérias potencialmente patogénicas para o Homem que não são alvo de pesquisa dedicada de acordo com a legislação em vigor em Portugal. A presença destas bactérias permite inferir sobre potenciais riscos para a saúde e recomendar uma monitorização periódica como forma de os minimizar e a inclusão de pesquisas dedicadas entre os parâmetros de análise como sucede noutros países (p. e. pesquisa de *Aeromonas* nos EUA).

Referências bibliográficas:

- (1) Cabral JP, (2010), Water microbiology. *Bacterial pathogens and water*, *Int J Environ Res Public Health*, 7(10):3657-703.
- (2) Agência Portuguesa do Ambiente, (2016), Plano de Gestão de Região Hidrográfica 2016/2021 Região Hidrográfica do Sado e Mira https://ambiente.pt/_zdata/Políticas/Agua/PlaneamentoGestao/PGRH/2016-2021/PTRH6/PGRH6_Parte2.pdf
- (3) Município de Aljustrel, (2019) <http://www.mun-aljustrel.pt/menu/526/barragem-do-roxo.aspx>
- (4) Fernandes V, Paulino S, Costa C, Rodrigues J, Reis L, Nogueira I, Carvalho P, Duarte A e Jordão L, (2015), Avaliação do risco para a saúde pública resultante do contacto com águas recreativas e ornamentais, *Observações_Boletim Epidemiológico* 13, 26-29
- (5) Bandeira M, Borges V, Gomes JP, Duarte A and Jordao L, (2017), Insights on *Klebsiella pneumoniae* biofilms assembled on different surfaces using phenotypic and genotypic approaches, *Pathogens* 3: 720-731; doi:10.3390/pathogens3030720.
- (6) Trust TJ, Bartlett KH, (1974), Occurrence of potential pathogens in water containing ornamental fishes, *Appl. Microbiol* 28, 35-40.
- (7) Smith KF, Schmidt V, Rosen GE, Amaral-Zettler L, (2012), Microbial diversity and potential pathogens in ornamental fish aquarium water, *PLoS ONE* 7, e39971.
- (8) Chopra AK, Houston CW, (1999), Enterotoxins in *Aeromonas*-associated gastroenteritis, *Microbes Infect* 1, 1129-1137.
- (9) Ghenghesh KS Ahmed SF, Cappuccinelli P, Klena JD, (2014), Genospecies and virulence factors of *Aeromonas* species in different sources in a North African country, *Libyan. J. Med*, 9, 25497-25502.
- (10) Kim SE, Park SH, Park HB, Park KH, Kim SH, Jung SI, Shin JH, Jang HC, Kang SJ, (2012), Nosocomial *Pseudomonas putida* Bacteremia: High Rates of Carbapenem Resistance and Mortality, *Chonnam Med J*, 48(2):91-5. doi: 10.4068/cmj.2012.48.2.91.
- (11) 1Davin-Regli A, Pagès JM, (2015), *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment, *Front Microbiol*, 18;6:392. doi: 10.3389/fmicb.2015.00392. eCollection.
- (12) Houicher A, Kuley E, Bendeddouche B and Ozogui F, (2013), Histamine and tyramine production by bacteria isolated from spoiled sardine (*Sardina pilchardus*), *Academic Journals* 12: 3290.
- (13) Peleg AY, Hooper DC, (2010), Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria. *N. Engl. J. Med.*, 362, 180421813.
- (14) Drzewiecka D, (2016), Significance and Roles of *Proteus* spp. Bacteria in Natural Environments, *Microb Ecol.*, 72(4):741-758.

_Fungos em areias e águas costeiras e interiores em Portugal – relevância para a saúde humana e bem-estar

Fungi in sand and coastal and inland waters in Portugal – relevance to human health and well-being

Sara Brito¹, Raquel Sabino², Cristina Veríssimo², Susana Silva³, Elisabete Valério¹, João Brandão^{1*}

joao.brandao@insa.min-saude.pt

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

(2) Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

(3) Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

*autor correspondente

_Resumo

Os fungos filamentosos e as leveduras são ubíquos na natureza, incluindo nas zonas balneares, e portanto, na areia. Contudo, certas espécies de fungos podem causar infeções ou alergias em humanos. Estudos anteriores mostraram que microrganismos patogénicos ou patogénicos oportunistas sobrevivem e crescem na areia. Uma vez que as zonas balneares são locais frequentados por um elevado número de pessoas, especialmente no verão, a qualidade microbiológica das areias e das águas balneares é particularmente importante. Assim sendo, o objetivo deste estudo é a recolha de dados sobre as espécies de fungos existentes em três zonas balneares, duas águas costeiras – Algarve e Lisboa e Vale do Tejo (LVT) e uma água de transição (LVT) A identificação dos isolados foi realizada através da observação de características morfológicas e através de métodos moleculares. Para isto, foram analisadas 18 amostras de areia e 18 amostras de água. Os isolados fúngicos detetados com maior frequência foram *Cladosporium* sp. (na praia costeira do Algarve e na de águas de transição) e *Sarocladium kiliense* (na praia costeira de LVT). Foram também isoladas algumas espécies responsáveis por causar alergias e infeções, tais como *Exophiala dermatitidis*, *Alternaria alternata*, *Trematosphaeria grisea* e *Aspergillus* secção *Nidulantes*, além de fungos potencialmente produtores de micotoxinas, nomeadamente *Aspergillus* secção *Fumigati*. Não foi possível identificar 19 das colónias isoladas (de 1005 no total, 1,9%). Os resultados obtidos permitiram identificar as espécies presente nos locais amostrados entre novembro de 2018 e junho de 2019, confirmando-se a presença de espécies com expressão clínica, que representam um potencial risco para a saúde dos utilizadores das praias e que deve passar a ser tido em conta na avaliação da qualidade da praia.

_Abstract

Filamentous fungi and yeast are ubiquitous in nature, including bathing areas and therefore, sand. However, certain fungal species can cause infections or allergies in humans. Previous studies have shown that there are opportunistic or pathogenic microorganisms that can survive and grow in sand. Since bathing areas are used by a large numbers of people, especially during the summer months, the microbiological quality of sand and bathing water is particularly important. Thus, the aim of this study is to collect data on the fungal species present in the three bathing areas under study (two coastal – one in Algarve and the other in Lisbon and Tagus Valley - and one with transition waters in Lisbon and Tagus Valley). The identi-

fication of the isolates was performed by observing morphological characteristics and by using molecular tools. For this purpose, 18 sand samples and 18 water samples were analysed. The most frequently isolated fungi were *Cladosporium* sp. (in Algarve at the transition waters beach) and *Sarocladium kiliense* (at the coastal beach of Lisboa and Tagus Valley). Some species causing allergies and infections, such as *Exophiala dermatitidis*, *Alternaria alternata*, *Trematosphaeria grisea* and *Aspergillus* section *Nidulantes*. Moreover, species potentially producers of mycotoxins were also isolated, namely members of *Aspergillus* section *Fumigati*. Nineteen of the isolates were not possible to identify (out of 1005, 1.9%). This project generated data on the fungal species isolated between November 2018 and June 2019 in the three sites sampled. The presence of fungi that may be associated with clinical cases was confirmed, thus revealing a potential health risk to beach users that must be taken into account in the beaches quality profile.

_Introdução

Os fungos são organismos eucariotas, heterotróficos e sem clorofila que estão dependentes dos nutrientes de origem externa. Assim, vivem como saprófitas, parasitas, ou em simbiose com plantas e animais, em praticamente todas as condições ambientais. O fenótipo destes organismos vai desde um aspeto unicelular a um aspeto dimórfico ou filamentoso (1).

Os fungos filamentosos e as leveduras são ubíquos na natureza como microrganismos que habitam o solo. Nas areias das praias também são encontrados. A temperatura e a disponibilidade de nutrientes são os principais fatores que determinam a composição da comunidade de leveduras. A água doce e os ambientes marinhos costeiros sujeitos a ações terrestres e a atividades humanas estão fortemente colonizados por fungos (2).



As areias das praias podem atuar como um elemento passivo da poluição cumulativa e podem ser contaminadas por lixo, dejetos de animais que são passeados nas praias ou pela própria água, que pode transportar microrganismos patogénicos, oportunistas e parasitas (3–5). A areia também pode atuar como um mecanismo de transmissão para agentes patogénicos oportunistas de origem não-fecal, como acontece com os dermatófitos, que podem ser levados pelos próprios utilizadores das praias (6). As leveduras, por outro lado, podem provocar infeções se entrarem em contacto direto com a pele.

Várias publicações têm reportado a existência de microrganismos patogénicos e oportunistas que sobrevivem e crescem na areia (2). Indivíduos com o sistema imunitário comprometido (transitoriamente ou cronicamente) são mais suscetíveis a adquirir infeções causadas por microrganismos encontrados na areia da praia (7).

Os fungos considerados como verdadeiramente patogénicos estão incluídos numa única ordem, quase em exclusivo – a Onygenales. Esta ordem contém os dermatófitos, como os do género *Trichophyton*, e os fungos dimórficos, como os géneros *Coccidioides* e *Histoplasma* (8).

O conjunto vasto de infeções causadas por fungos resulta da inalação de esporos fúngicos e de células vegetativas (hifas)

ou do contacto com células fúngicas. A ingestão de micotoxinas também poderá causar problemas de saúde graves. Em contraste com outras fontes alergénicas, os fungos são muito comuns no meio ambiente, e a exposição a esporos no ar é quase constante durante todo o ano (1,2).

As infeções fúngicas da pele e das unhas constituem o grupo mais numeroso e mais comum de todas as micoses (9). Os casos de dermatofitoses em humanos são, essencialmente, infeções fúngicas superficiais, dado que os dermatófitos invadem e espalham-se em tecidos queratinizados, como o cabelo, a pele e as unhas, podendo, contudo, afetar várias partes do corpo (10).

Os banhistas passam a maioria do seu tempo na areia e não na água. Atualmente existe já legislação para a qualidade das águas balneares, contudo a qualidade das areias é um tema ainda não contemplado na avaliação da segurança da utilização pública das praias (costeiras ou fluviais).

Tendo em consideração todas as questões enumeradas, julgamos que os fungos não devem ser negligenciados na avaliação da qualidade das praias e consequente utilização de zonas balneares, que deve ser integrada nas políticas de saúde pública com brevidade.

_Objetivos

O objetivo principal deste trabalho foi a caracterização das populações de fungos das microbianas em três zonas balneares como participação Nacional no projeto Europeu “*Exploring fungal contamination in the sand and water around the Mediterranean Sea and other water bodies of Europe – relevance to human health and wellbeing*”, da *European Confederation of Medical Mycology* (ECMM), apresentando-se os primeiros sete meses da contribuição de Portugal para este mesmo projeto. Pretende-se deste modo definir os perfis “normais” das praias, de maneira a facilmente identificar casos não conformes, associados a contaminações, ou casos atípicos que requeiram uma intervenção especial.

_Materiais e métodos

As colheitas decorreram entre o final de novembro de 2018 e junho de 2019 tendo sido recolhidas uma amostra de areia e uma amostra de água em cada campanha.

As amostragens ocorreram em três praias: duas de áreas costeiras em Lisboa e Vale do Tejo (LVT) e no Algarve, e uma de transição de LVT. Foram recolhidas sete amostras na praia costeira de LVT, sete amostras na praia de águas de transição, e quatro amostras na praia costeira do Algarve.

A recolha de areia foi feita em três pontos da praia, usando um único saco de plástico estéril. A colheita da areia foi efetuada na superfície do areal, utilizando luvas descartáveis para colocar a areia dentro do saco.

A colheita de água foi realizada num único ponto, com recurso a um frasco de plástico estéril, que se encheu com água na zona de rebentação.

Todas as amostras (de areia e de água) foram transportadas para o laboratório e conservadas a 4 °C (+/- 1°C), até ao seu processamento (máximo até 5 dias após colheita).

As amostras de areia foram processadas com extração de 40 g de areia com 40 mL de água destilada estéril por agitação orbital (100 rotações por minuto). Do sobrenadante da extração de cada amostra foram usados 200 µL para espalhamento em cada uma das placas de Petri, umas de agar de malte (contendo extrato de malte e cloranfenicol para cres-

cimento e identificação de fungos filamentosos e leveduras), outras em placas de Petri de Micosel agar (com actidiona e cloranfenicol para crescimento e identificação de dermatófitos). Realizaram-se 3 réplicas de cada inoculação por meio. A incubação fez-se a (27,5°C +/- 2,5°C), durante 5 a 7 dias para as placas de malte e 3 semanas para as de Micosel agar. De modo a caracterizar macroscopicamente cada um dos isolados, foram analisadas as seguintes características das colónias: cor do lado frontal, a cor do reverso, topografia, textura e o seu aspeto geral. A identificação microscópica realizou-se com recurso a coloração com azul de lactofenol e observação microscópica com ampliação de 400x.

A identificação molecular foi realizada com o propósito de identificar os isolados para os quais não foi possível obter identificação morfológica. Esta análise foi realizada em 51 colónias utilizando a sequenciação da região ITS1 (*Internal transcribed spacer*) dos genes do rDNA (11).

_Resultados

No total foram analisadas 36 amostras, tendo-se verificado que o número de colónias que cresceu nas amostras de areia foi superior ao que cresceu nas amostras de água, o que sugere um efeito de dispersão na água.

O maior número de isolados (576) foi obtido na praia de águas de transição, seguida pela praia costeira do Algarve (305 isolados), e pela praia Costeira de LVT (124).

O número de espécies, teve a mesma distribuição: em que na praia de águas de transição revelou o maior número de espécies (51), seguida pela praia do Algarve (33 espécies), e pela praia Costeira de LVT (28).


Na praia do Algarve, o número médio de isolados decresceu desde novembro até junho. No mês de novembro registou-se o maior número de isolados (265); em março registaram-se, em média, 107 isolados; em abril, o número médio de isolados foi 97; por fim, em junho, registou-se o menor número de isolados (84). O género mais abundante foi *Cladosporium* sp. – no total, foram encontrados 95 isolados deste género; as espécies/géneros menos abundantes foram *Didymella* sp., *Fusarium proliferatum*, *Penicillium glabrum*, *Phaeosphaeria*

spartinae, *Sarocladium strictum*, *Acremonium atrogriseum*, *Phialemoniopsis curvata*, *Acrostalagmus luteoalbus* e *Roussoella neopustulans* – para cada uma destas espécies, foi encontrado apenas um isolado. Registou-se o maior número de isolados no mês de novembro – o número médio de colónias na amostra de areia foi 200 e o número médio de colónias na amostra de água foi 65. O menor número de isolados foi registado no mês de junho – em média, cresceram 84 colónias na amostra de areia, ao passo que não cresceu nenhuma colónia na amostra de água.

Na praia costeira de LVT, a variação do número médio de isolados não ocorreu de forma decrescente durante o período do estudo. Em dezembro, registaram-se, em média, 10 isolados; em janeiro, o número médio de isolados foi 10; em fevereiro, o número médio de isolados foi 77; em março, registaram-se 89 isolados; em abril, registaram-se 7 colónias; em maio, o número médio de colónias foi 12; em junho, o número de colónias registadas foi quatro. A espécie mais abundante foi *Sarocladium kiliense* – no total, foram encontrados 21 isolados desta espécie. As espécies menos abundantes foram *Aspergillus* secção *Nidulantes*, *Phoma* sp. e *Trematosphaeria grisea*. Para além destas três espécies, houve mais quatro espécies que não foram possíveis de identificar que também fazem parte das espécies menos abundantes, pois para cada uma delas foi encontrado apenas um isolado. O maior número de isolados foi registado no mês de março - na amostra de areia, cresceram, em média, 67 colónias; na amostra de água, cresceram 22 colónias. O menor número de isolados foi registado no mês de junho – o número médio de colónias na amostra de areia foi quatro; não cresceu nenhuma colónia na amostra de água.

Na praia de águas de transição, tal como aconteceu na costeira de LVT, não se observou uma variação do número médio de isolados decrescente entre dezembro e junho. Em dezembro, registaram-se, em média, 55 colónias; em janeiro, o número médio de isolados foi 129; em fevereiro, o número de colónias registado foi 272; em março, registaram-se 64 colónias; em abril, registaram-se 159 colónias; em maio, o número médio de colónias foi 220; em junho, o número médio de colónias registado foi 64. O género mais abundante na areia

foi *Cladosporium* sp. – no total, estavam presentes 150 isolados. As espécies/géneros menos abundantes foram *Chrysosporium* sp., *Rhizopus arrhizus*, *Plectosphaerella plurivora*, *Peniophora quercina*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Aspergillus* secção *Nigri*, *Fusarium proliferatum*, *Acremonium vitellinum* e *Sarocladium glaucum* – para cada uma destas espécies, foi encontrado apenas um isolado. Registou-se o maior número de isolados no mês de fevereiro - cresceram, em média, 245 colónias na amostra de areia e 27 colónias na amostra de água. Em dezembro registou-se o menor número de isolados - na amostra de areia, o número médio de colónias foi 50; na amostra de água, o número médio de colónias foi 5. A [figura 1](#) mostra a distribuição por praia e por matriz (areia e água) para todo o período de estudo numa análise descritiva da contagem total de unidades formadoras de colónias por grama de areia (ufc/g). A [tabela 1](#) mostra a distribuição de ufc/g por praia, por matriz e por mês.

Figura 1:  Boxplot da Contagem total de unidades formadoras de colónias (por grama de areia) por praia e tipo de amostra (areia a laranja e água a azul).

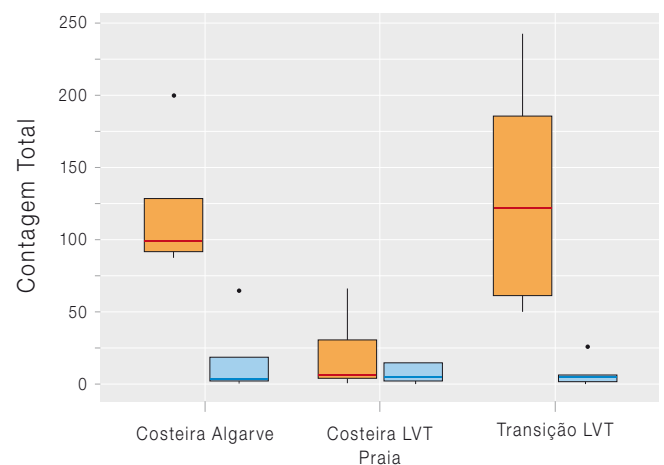


Tabela 1: Distribuição do número de unidades formadoras de colónias por grama de areia - por praia, por matriz (água/areia) e por mês. ND: não disponível.

		Areias			Águas		
		Costeira Algarve	Costeira LVT	Transição LVT	Costeira Algarve	Costeira LVT	Costeira LVT
Número de espécies identificadas		18	11	29	9	11	12
Contagem Total (mediana)		99,17	6,67	136,67	3,33	5,00	5,00
Contagem total por mês (mediana)	Nov/18	200,00	ND	ND	65,00	ND	ND
	Dez/18	ND	1,67	ND	ND	8,33	5,00
	Jan/19	ND	5,00	121,67	ND	5,00	6,67
	Fev/19	ND	55,00	245,00	ND	21,67	26,67
	Mar/19	105,00	66,67	60,00	3,33	21,67	3,33
	Abr/19	93,33	6,67	151,67	3,33	0,00	6,67
	Mai/19	ND	6,67	220,00	ND	5,00	0,00
	Jun/19	88,33	3,33	63,33	0,00	0,00	0,00

_Discussão e conclusões

Dos três grupos – leveduras; fungos filamentosos potencialmente patogénicos ou alergénicos; e dermatófitos – os fungos filamentosos potenciais patogénicos ou alergénicos foram os fungos com maior representação. Destes, o género *Aspergillus* foi o mais abundante. Os géneros *Chrysosporium* e *Scopulariopsis* foram os menos frequentes deste grupo – cada um deles foi detetado apenas numa amostra.

O número de espécies de leveduras presentes nas amostras foi inferior ao número de espécies de fungos filamentosos. No total, foram identificadas seis espécies de leveduras pertencentes a três géneros. Não foi encontrada nenhuma espécie de dermatófitos em nenhuma amostra das três praias.

É possível observar que algumas das espécies encontradas no presente trabalho são as mesmas que já foram anteriormente identificadas noutros estudos (7,12-16). Tendo em conta que estas espécies já tinham sido identificadas em algumas praias portuguesas, a presença destes fungos nas três praias em estudo pode indicar que eles estão distribuídos pela costa portuguesa, com as diferenças apontadas entre estudos anteriores e o atual.

Verificou-se a existência de diversas espécies, algumas das quais são responsáveis por causar infeções e alergias muito graves. As espécies *Trematosphaeria grisea*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Exophiala dermatitidis*, *Aspergillus* secção *Nidulantes*, *Aspergillus* secção *Nigri* e *Cladosporium* *cladosporoides* são exemplos de espécies presentes nas amostras deste estudo que podem causar alergias e infeções em humanos.

Verificou-se uma baixa frequência de *Candida albicans*, o que indica ausência de contaminação fecal nos locais em estudo (semelhante ao anteriormente descrito por Brandão *et al.* (12)). No geral observa-se que a abundância e diversidade encontrada é influenciada pelas características geológicas e circundantes das praias. As espécies fúngicas podem contextualizar a praia de que são isoladas, já que algumas das espécies são saprófitas vegetais revelando uma componente mais natural enquanto que fungos negros sugerem potencial contaminação com hidrocarbonetos, como combustíveis e plásticos que podem advir de atividades circundantes.

Julgamos importante divulgar os resultados obtidos neste estudo, no sentido de alertar as autoridades competentes a to-

marem medidas, de forma a melhorar a qualidade das areias, de forma idêntica ao que já é feito com as águas, uma vez que os banhistas passam a maioria do seu tempo na areia e não têm conhecimento dos microrganismos que aí habitam, o que faz com que não tenham consciência das doenças a que podem estar expostos quando visitam uma praia e consequentemente tomar medidas de higiene adequadas.

É importante realizar também campanhas de sensibilização ao público em geral para que os utilizadores das praias tenham consciência que devem ter atenção às atividades que podem provocar contaminações, principalmente dejetos de animais e lixo orgânico.

Agradecimentos

Os autores agradecem o financiamento interno do departamento de saúde ambiental que permitiu desenvolver este trabalho do qual resultou a tese de mestrado da autora Sara Brito e a Dr^a Lena Klingspor pelo apoio prestado relativamente à amostragem no Algarve.

Participação

Sara Brito e João Brandão realizaram as campanhas de amostragem. Sara Brito realizou as análises moleculares sob supervisão e apoio de Elisabete Valério, e as restantes sob orientação de João Brandão, Raquel Sabino e Cristina Veríssimo. Raquel Sabino e Cristina Veríssimo efetuaram otimização da metodologia molecular aplicada ao estudo e a confirmação da identificação de espécies (função laboratório de referência). Susana Santos validou e analisou os dados.

João Brandão desenhou o estudo em colaboração com os parceiros Europeus do Projecto Mycosands, incluindo Raquel Sabino e Cristina Veríssimo. Junto com Elisabete Valério, liderou a construção do artigo em igual participação.

Referências bibliográficas:

- (1) Simon-Nobbe, B., Denk, U., Pöll, V., Rid, R. & Breitenbach, M. The spectrum of fungal allergy. *International archives of allergy and immunology* 145, 58–86 (2008).
- (2) Efstratiou, M. A. Microorganisms in Beach Sand: Health Implications. in *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences* (Elsevier, 2018). doi:10.1016/b978-0-12-409548-9.10914-5
- (3) Ashbolt, N. J., Grohmann, G. S. & Kueh, C. S. W. Significance of Specific Bacterial Pathogens in the Assessment of Polluted Receiving Waters of Sydney, Australia. *Water Sci. Technol.* 27, 449–452 (1993).
- (4) Nix, P. G., Daykin, M. M. & Vilkas, K. L. Sediment bags as an integrator of fecal contamination in aquatic systems. *Water Res.* 27, 1569–1576 (1993).
- (5) Howell, J. M., Coyne, M. S. & Cornelius, P. L. Effect of sediment particle size and temperature on fecal bacteria mortality rates and the fecal coliform/fecal streptococci ratio. *J. Environ. Qual.* 25, 1216–1220 (1996).
- (6) Weiskerger, C. J. *et al.* Impacts of a changing earth on microbial dynamics and human health risks in the continuum between beach water and sand. *Water Research* 162, 456–470 (2019).
- (7) Sabino, R. *et al.* Pathogenic fungi: An unacknowledged risk at coastal resorts? New insights on microbiological sand quality in Portugal. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 1506–1511 (2011).
- (8) Hyde, K. D. *et al.* The world's ten most feared fungi. *Fungal Divers.* 93, 161–194 (2018).
- (9) Havlickova, B., Czaika, V. A. & Friedrich, M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses* 51, 2–15 (2009).
- (10) Coulibaly, O., L'Ollivier, C., Piarrou, R. & Ranque, S. Epidemiology of human dermatophytoses in Africa. *Med. Mycol.* 56, 145–161 (2018).
- (11) White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ and White TJ (editors). *PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications*. New York: Academic Press, Inc; 1990. pp. 315–322. 11.
White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ and White TJ (editors). *PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications*. New York: Academic Press, Inc; 1990. pp. 315–322.
- (12) Brandão, J. *et al.* Qualidade microbiológica de areias de praias litorais - Relatório Final. *Associação Bandeira Azul da Europa (ABAE) - Instituto do Ambiente (IA)* (2002).
- (13) Steele, C.W. Fungus Populations in Marine Waters and Coastal Sands of the Hawaiian, Line, and Phoenix Islands. *Pacific Sci.* 21, 317–331 (1967).
- (14) Dunn, P.H. & Baker, G.E. Filamentous fungal populations of Hawaiian beaches. *Pacific Sci.* 38, 232–248 (1984).
- (15) Pereira, E. *et al.* Microbiological and mycological beach sand quality in a volcanic environment: Madeira archipelago, Portugal. *Sci. Total Environ.* 461–462, 469–479 (2013).
- (16) Abreu, R. *et al.* Sediment characteristics and microbiological contamination of beach sand – A case-study in the archipelago of Madeira. *Sci. Total Environ.* 573, 627–638 (2016).

_Infeção assintomática por *Bordetella pertussis* na população adulta portuguesa, em 2015-2016

Asymptomatic Bordetella pertussis infection in the Portuguese adult population, 2015-2016

P. Palminha¹, I. Costa², S. Pinto³, R. Roquette³, B. Nunes³, S. Moura¹, R. Neves¹, T. Lourenço¹, C. Ribeiro¹, B. Pereira²

Paula.Palminha@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Av. Padre Cruz 1649-016, Lisboa, Portugal.

(2) Departamento de Doenças Infecciosas, Centro de Saúde Pública Dr. Gonçalves Ferreira, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Rua Alexandre Herculano, 321, 4000-055 Porto, Portugal.

(3) Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Av. Padre Cruz 1649-016, Lisboa, Portugal.

_Resumo

Introdução: Em Portugal e apesar da alta cobertura vacinal o número de casos de tosse convulsa notificados tem vindo a aumentar. A reemergência da tosse convulsa em países com elevadas coberturas vacinais tem tornado particularmente relevante a avaliação da infeção por *Bordetella pertussis* em adultos, descrita como assintomática ou ligeiramente sintomática, pela possibilidade de transmissão da bactéria aos grupos etários mais jovens com esquema vacinal incompleto. **Objetivo:** Estimar a proporção de adultos assintomáticos com contacto recente com *Bordetella pertussis* na população residente em Portugal entre 2015-2016. **Material e Métodos:** Na realização deste estudo foi utilizada uma amostra de base populacional constituída por 1628 indivíduos assintomáticos distribuídos igualmente por ambos os sexos, com idade superior a 19 anos e divididos em quatro grupos etários. A determinação da concentração de IgG antitoxina pertússica foi efetuada utilizando reagentes comerciais. Os resultados obtidos foram expressos em UI/mL segundo critérios definidos internacionalmente, em que soros com IgG <40 UI/mL devem ser interpretados como não existindo evidência de contacto recente com *Bordetella pertussis* enquanto soros com concentrações ≥100 UI/mL indicam contacto recente com a bactéria. Os soros com resultados entre os 40 e as 99 UI/mL devem ser considerados inconclusivos. A análise estatística consistiu na determinação de frequências absolutas e relativas, ponderadas para a população portuguesa, com um nível de significância de 5%. **Resultados:** Os resultados mostraram que 1,0% (n=17) dos indivíduos assintomáticos estudados, possuíam uma concentração de IgG ≥100 UI/mL o que evidenciava uma infeção recente por *Bordetella pertussis*. Estes encontravam-se distribuídos por todas as regiões NUTS II sendo, contudo, mais frequentes entre 20 e os 44 anos. No entanto, 4,8% dos indivíduos estudados (n=78), igualmente distribuídos por todos os grupos etários, possuíam uma concentração de IgG entre 40-99 UI/mL o que não permite excluir um contacto recente com a bactéria. **Discussão/Conclusão:** Os resultados deste estudo indicam que, em Portugal, a infeção assintomática por *Bordetella pertussis* em adultos, embora não elevada, existe em todas as regiões e em todos os grupos etários. Esta evidência é consistente com vários autores que consideram que, em países com alta cobertura vacinal e reemergência da tosse convulsa, a infeção assintomática em adultos é a possibilidade mais relevante de transmissão a lactentes. Os resultados deste estudo também apoiam a introdução, no Programa Nacional de Vacinação em 2017, da vacinação contra a tosse convulsa na grávida a fim de reduzir o risco desta doença a recém-nascidos e crianças com vacinação incompleta.

_Abstract

Background: In Portugal, the pertussis vaccine was introduced in the National Immunization Program (PNV) in 1966 which led to a significant decrease in the number of reported whooping cough cases. However, in recent years the number of reported pertussis cases has increased despite high vaccination coverage. **Aims:** Determination of the prevalence of *Bordetella pertussis* infection in asymptomatic adults in the resident population in Portugal between 2015-2016. **Material and Methods:** The population-based sample corresponds to 1628 asymptomatic individuals equally distributed by gender, older than 19 years-old and divided into four age groups. Pertussis antitoxin IgG was detected in sera using commercial tests kits. IgG concentrations ≥100 IU/mL should be interpreted as recent *Bordetella pertussis* infection while sera with concentrations between 40-99 IU/mL should be considered as a borderline result. Statistical analysis consisted in determination of absolute and relative frequencies weighted for Portuguese population with a significance level of 5%. **Results:** Study results showed that 1.0% of asymptomatic individuals with a distribution from all NUTS II regions and age groups had an IgG concentration ≥100 IU/mL, which corresponds to a recent *Bordetella pertussis* infection. The highest frequency was found between 20 to 44 years old. However a recent contact with the bacteria could not be excluded in 78 participants (4.8%), distributed by all age groups, which had IgG concentrations between 40-99 IU/ml. **Discussion and Conclusion:** Results showed that asymptomatic *Bordetella pertussis* infection in adults exists in Portugal in all regions. This evidence is consistent with what has been described by several authors from countries with a high vaccine coverage and whooping cough re-emergency. Asymptomatic infection in adults has been considered as the most relevant and probable cause of transmission to infants. Study results also support the introduction of pertussis vaccination in pregnant women into the National Immunization Program in 2017, in order to reduce the risk of whooping cough in infants and children with incomplete vaccination.

_Introdução

Bordetella pertussis é o agente etiológico da tosse convulsa (1). A transmissão da bactéria ocorre por via aérea, através de gotículas respiratórias de indivíduos infetados sendo a infeção adquirida ao nível do trato respiratório (2). Esta in-

feção é, contudo, descrita como sintomática ou ligeiramente sintomática em adultos (1).

Em Portugal, a vacina contra a tosse convulsa (vacina celular completa) foi introduzida no Programa Nacional de Vacinação (PNV) em 1966 (3, 4), tendo sido substituída pela vacina acelar em 2006 (5).

À semelhança do que se verificou noutros países, em Portugal, a administração universal da vacina contra a tosse convulsa levou a uma diminuição acentuada do número de casos, com 998 casos notificados em 1966 e 54 casos em 1985. Contudo, entre 2012 e 2016 o número de casos de tosse convulsa notificados aumentou, registando-se 563 casos em 2016, maioritariamente em crianças com idade inferior a 1 ano, apesar da elevada cobertura vacinal (6).

Acresce que a reemergência da tosse convulsa em países com elevadas coberturas vacinais, tem justificado a vigilância ativa da infeção por *Bordetella pertussis* na população adulta, face à possibilidade de transmissão a crianças com esquema vacinal incompleto (7).

_Objetivo

Estimar a proporção de adultos assintomáticos com infeção recente por *Bordetella pertussis* na população portuguesa, provenientes de uma amostra de base populacional (n=1628) cujo recrutamento dos participantes ocorreu nas 7 regiões NUTS II entre 2015-2016.

_Material e métodos

A deteção de imunoglobulina G (IgG) antitoxina pertússica foi efetuada numa amostra de base populacional constituída por 1628 adultos assintomáticos cujo recrutamento ocorreu nas 7 regiões NUTS II.

Os indivíduos incluídos neste estudo foram distribuídos por sexo, grupo etário e região NUTS II.

A concentração de IgG antitoxina pertússica (IgG-PT) foi determinada pelo método imunoenzimático ELISA utilizando reagentes comerciais (*SERION ELISA classic Bordetella pertussis Toxin IgG*). Os resultados foram expressos em UI/mL segundo critérios definidos internacionalmente (8).

Assim, soros com concentrações de IgG <40 UI/mL devem ser interpretados como não existindo evidência de contacto recente com *Bordetella pertussis*, enquanto que soros com concentrações superiores ≥ 100 UI/mL indicam contacto recente com a bactéria. Resultados entre 40 e 99 UI/mL devem ser considerados inconclusivos.

Neste estudo, as frequências absolutas e relativas foram ponderadas para a população portuguesa, com nível de significância de 5%, tendo sido calculados pesos amostrais por grupo etário, sexo e região NUTS II de recrutamento de forma a corrigir as diferenças entre a população planeada e a observada.

_Resultados

Dos adultos assintomáticos estudados, 1,0% (n=17) evidenciaram infeção recente por *Bordetella pertussis* (IgG ≥ 100 UI/mL). Contudo não foi possível excluir uma infeção recente em 4,8% dos indivíduos (n=78) em que a concentração de IgG variou entre 40-99 UI/mL (Tabela I).

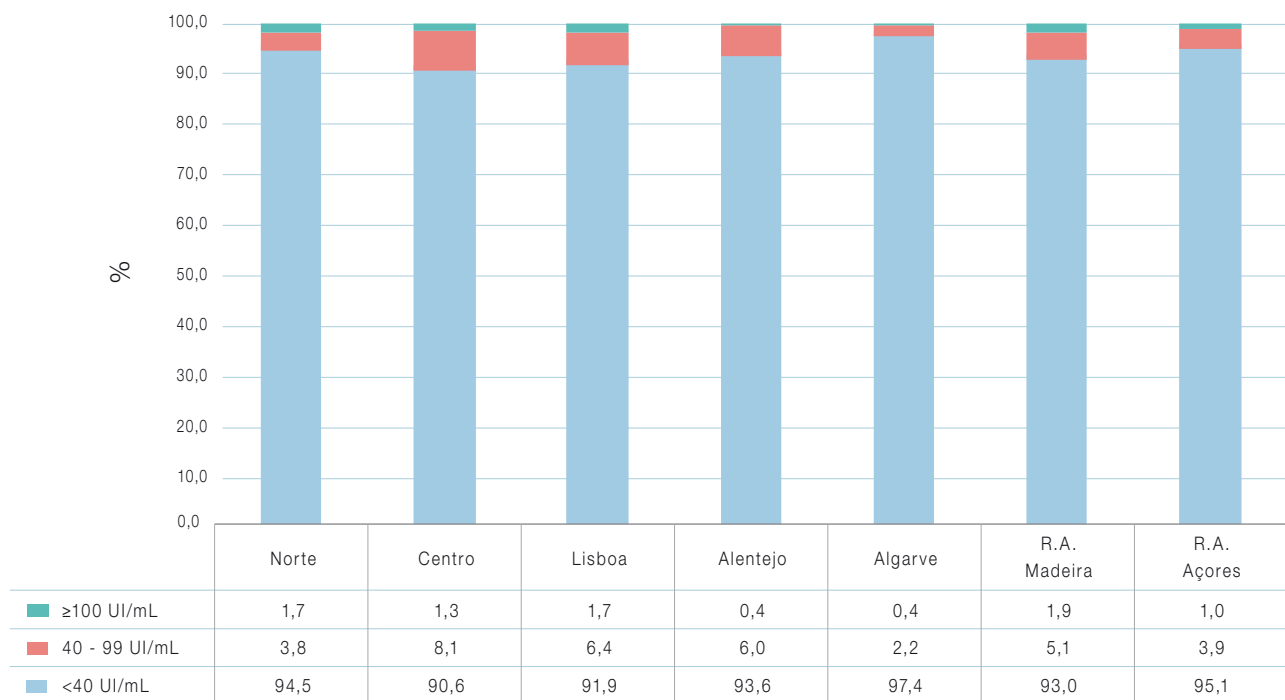
Tabela I: Concentração de anticorpos IgG para a toxina pertússica detetada nos adultos assintomáticos em estudo, 2015-2016.

Resultados	n	%	IC95%
<40 UI/mL	1533	94,2%	[91,8; 94,7]
40 - 99 UI/mL	78	4,8%	[4,1; 6,7]
≥ 100 UI/mL	17	1,0%	[0,8; 2,3]
Total	1628		

Relativamente à distribuição geográfica dos indivíduos estudados verificou-se que os casos de infeção recente por *Bordetella pertussis* (IgG-PT ≥ 100 UI/mL) ocorreram em todas as regiões NUTS II, sendo o Norte, Lisboa e Região Autónoma da Madeira as regiões com maior proporção de indivíduos infetados (Figura I).

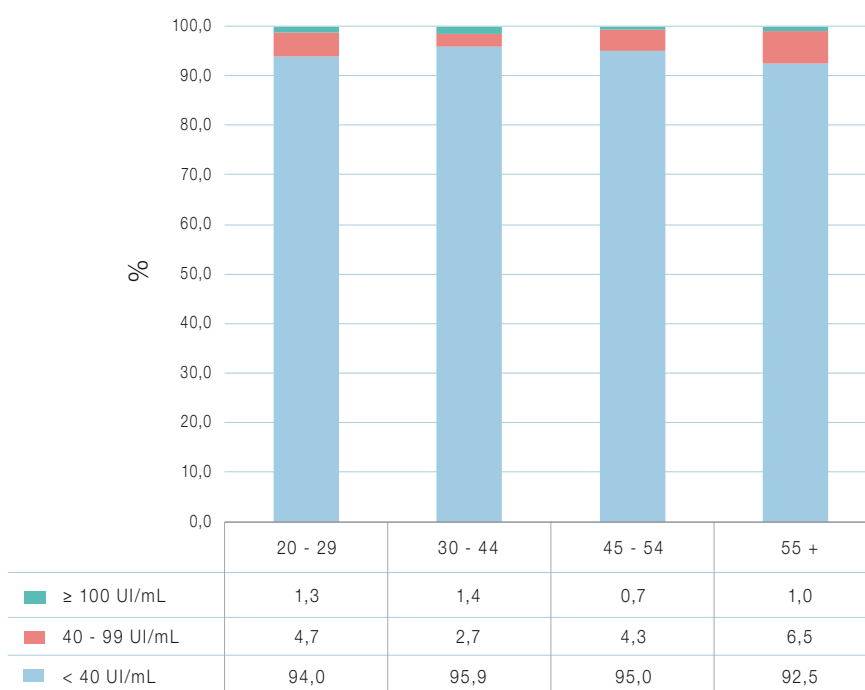
Os casos de infeção recente por *Bordetella pertussis* (IgG-PT ≥ 100 UI/mL) ocorreram em todos os grupos etários, sendo mais frequente entre os 20 e os 44 anos (Figura II).

Figura I: ▾ Concentração de anticorpos IgG para a toxina pertússica detetada nos adultos assintomáticos em estudo por NUTS II, 2015-2016.



NUTS II

Figura II: ▾ Concentração de anticorpos IgG para a toxina pertússica detetada nos adultos assintomáticos em estudo por grupo etário, 2015-2016.



Grupo Etário (anos)

_Discussão e Conclusão

Os resultados deste estudo indicam que, em Portugal, a prevalência da infeção assintomática por *Bordetella pertussis* em adultos não é elevada, mas verifica-se em todos os grupos etários e em todas as regiões NUTS II. Os resultados obtidos estão de acordo com o descrito por vários autores que apontam como sendo a infeção assintomática em adultos, a possibilidade mais provável de transmissão a lactentes (7). Os resultados deste estudo confirmam, ainda a importância da introdução, no Programa Nacional de Vacinação em 2017, da vacinação contra a tosse convulsa na grávida a fim de reduzir o risco desta doença em recém-nascidos e crianças com vacinação incompleta.

Agradecimentos

À Doutora Cristina Furtado pela revisão deste artigo.

Este estudo foi financiado pelo Programa de Iniciativas em Saúde Pública (PT06), no âmbito do Mecanismo Financeiro *EEA Grants* 2009-2014.

Referências bibliográficas:

- (1) Edwards KM, Decker MD, Pertussis vaccines In: Plotkin SA editors. Vaccines. 6th ed. Edinburgh: Elsevier/Saunders, 2013.p.352-387.
- (2) WHO. The Immunological Basis for Immunization Series Module 4: Pertussis Update 2009 WHO, Geneva, 2010.
- (3) Cabral Célia; Pina João R. – Cinquenta anos do programa nacional de vacinação em Portugal (1965-2015), Coimbra Centro de Estudos Interdisciplinares do Século XX (CEIS 20) – Grupo de História e Sociologia da Ciência e da Tecnologia, 2015 (16-18).
- (4) Gomes Manuel C.- História da Vacinação.
<http://webpages.fc.ul.pt/~mcgomes/vacinacao/historia/index.html#5> (acedido em Janeiro de 2017)
- (5) Direção-Geral da Saúde (Portugal). Programa Nacional de Vacinação. Lisboa: Direção-Geral da Saúde; 2017.
- (6) Direção-Geral da Saúde (Portugal). Boletim: Programa Nacional de Vacinação nº2 maio 2019. Lisboa: Direção-Geral da Saúde; 2019.
- (7) Pebody RG et al., The seroepidemiology of *Bordetella pertussis* infection in Western Europe, Epidemiol. Infect. 2005, 133, 159-171.
- (8) Guidance and protocol for the serological diagnosis of human infection with *Bordetella pertussis*, ECDC Technical Document, October 2001.

Estamos protegidos após a vacinação contra a gripe? Resposta imunitária para o vírus da gripe numa coorte de adultos vacinados na época de 2017/2018

Are we protected after seasonal influenza vaccine uptake? Immune response for influenza virus in a cohort of vaccinated adults during 2017/2018 season

Raquel Guiomar¹, Ana Paula Rodrigues², Inês Costa¹, Patrícia Conde¹, Paula Cristóvão¹, Pedro Pechirra¹, Paulo Estragadinho², Baltazar Nunes², Silva Graça³

raquel.guiomar@insa.min-saude.pt

(1) Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe e outros Vírus Respiratórios, Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P.

(2) Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P.

(3) Departamento de Saúde Ocupacional, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P.

_Resumo

A vacina contra a gripe é hoje a principal forma de prevenção da doença, reduzindo o risco e as complicações associadas à infeção. A vacinação anual é recomendada pela Direção Geral da Saúde (DGS) de acordo com a norma da vacinação contra a gripe. O Instituto Nacional de Saúde, I.P. (INSA) no âmbito da sua missão como laboratório de Estado, das suas competências específicas para a vigilância epidemiológica das doenças infecciosas, nas componentes laboratorial e epidemiológica e das competências no âmbito do Programa Nacional de Vigilância da gripe, implementou um estudo para avaliar a resposta imunitária à vacina contra a gripe. Foi efetuado o seguimento de uma coorte de 74 indivíduos que voluntariamente aceitaram tomar a vacina e realizar a avaliação da presença de anticorpos contra o vírus da gripe em três momentos: antes da toma da vacina, 30 dias e 6 meses após a vacinação. Foi avaliada a presença de anticorpos para os vírus da gripe contemplados na vacina sazonal do hemisfério norte, recomendada para a época de 2017/2018. Foi observado um aumento da seroprevalência e do título de anticorpos para os 3 vírus contemplados na vacina, 30 dias após a administração. Estes valores foram mais elevados para os vírus do tipo A. Para o subtipo A(H3N2), a seroprevalência e o título de anticorpos foram significativamente mais elevados nos indivíduos com idade superior a 50 anos; para o subtipo A(H1N1)pdm09 a seroprevalência foi significativamente mais elevada nos participantes que não se tinham vacinado nas duas épocas anteriores. A seroconversão foi significativamente mais frequente nos indivíduos que não se tinham vacinado nas duas épocas anteriores e com título de anticorpos mais baixo antes da toma da vacina. Nos 13 casos de síndrome gripal registados, apenas foi confirmado um caso de infeção pelo vírus da gripe do subtipo A(H3N2). Seis meses após a vacinação foi observada uma diminuição da seroprevalência e do título dos anticorpos para os 3 vírus vacinais, estando próximo dos valores observados no momento antes da toma da vacina. A vacinação contra a gripe promoveu a aquisição de imunidade indicando, no entanto que a idade e a vacinação anterior podem influenciar a resposta imunitária. A dinâmica de anticorpos contra a gripe observada neste estudo, vem suportar a necessidade da vacinação anual, no início de cada outono/inverno. O estudo pretende contribuir para a gestão e calendarização da campanha anual de vacinação contra a gripe recomendada pela DGS.

_Abstract

The flu vaccine is now one of the ways to prevent the disease, reducing the risk and complications associated with the infection. The annual influenza vaccine uptake is recommended by the General Directorate of Health (DGS) according to the recommendations for influenza vaccine uptake. The National Institute of Health, I.P. (INSA) in the scope of its mission as a State Laboratory, its specific competences for the epidemiological surveillance of infectious diseases, in the laboratory and epidemiology components and activities in the National Influenza Surveillance Program, implemented a study to evaluate the production of antibodies against influenza and the duration of immunity after influenza vaccine. During the study was followed a cohort of 74 participants who voluntarily agreed to uptake the vaccine and to be evaluated for influenza antibodies in three moments: before vaccine uptake, 30 days and 6 months after vaccination. Were assessed the antibodies against influenza viruses included in the 2017/2018 northern hemisphere seasonal vaccine. It was observed that the vaccine increased the seroprevalence and antibody titre for the 3 viruses included in the vaccine, 30 days after administration. These values were higher for influenza A viruses. The seroprevalence and antibody titre for subtype A (H3N2) were significantly higher in participants 50 years and older; for subtype A (H1N1)pdm09 seroprevalence was significantly higher in participants who hadn't been vaccinated in the previous two seasons. Seroconversion was significantly higher for the ones that hadn't been vaccinated in the two previous seasons and with lower antibody titre before vaccination. In the 13 reported influenza like symptoms cases, only one influenza A(H3N2) infection has been confirmed. At the end of the study (6 months after vaccination) a decrease in seroprevalence and on antibody titre was observed for the 3 vaccine viruses, being close to the values observed at the beginning of the study. Influenza vaccination elicited the acquisition of immunity, however, age and previous vaccination may influence the immune response. The observed antibody dynamics supports the need for annual vaccination at the beginning of each autumn/winter season. The data aim to contribute to the management and timing of the annual influenza vaccination campaign recommended at national level by the DGS.

_Introdução

A vacina contra a gripe é hoje uma das formas mais importantes de prevenção da doença, reduzindo o risco e as complicações associadas à infeção pelo vírus da gripe (1). Devido à natureza do vírus da gripe e à sua capacidade de evolução através da aquisição de mutações é necessário que a vacina seja reformulada anualmente para garantir uma maior proteção para os vírus que estão em circulação (2). A vacina pode ser administrada à população em geral com mais de 6 meses de idade e é especialmente recomendada para grupos de risco de acordo com as orientações da Direção Geral da Saúde, publicadas anualmente (3). A vacina trivalente contra a gripe é constituída por componentes antigénicos de três vírus: vírus da gripe dos subtipos A(H3N2) e A(H1N1)pdm09 e de uma das linhagens do vírus influenza B (4). Após a administração da vacina antigripal é induzida uma resposta imunitária para diferentes tipos/subtipos do vírus da gripe. De acordo com a literatura, a resposta imunitária poderá estar associada ao sexo, idade, história de infeções ou contactos com o vírus da gripe e também à toma da vacina em invernos anteriores (5)(6).

Em 2017, a Organização Mundial de Saúde (OMS) referiu que a realização de estudos serológicos é de elevada importância, contribuindo com informação para o melhor conhecimento dos determinantes do hospedeiro para a infeção, podendo assim suportar as decisões em saúde pública para a prevenção e controlo da gripe (7). O Instituto Nacional de Saúde, I.P. (INSA) no âmbito da sua missão como laboratório de Estado (8), das suas competências específicas para a vigilância epidemiológica das doenças infecciosas, nas componentes laboratorial e epidemiológica (9) e das competências no âmbito do Programa Nacional de Vigilância da Gripe (10), implementou um estudo para avaliar a resposta imunitária à vacina contra a gripe. O estudo envolveu o seguimento de uma coorte de indivíduos vacinados para avaliar a imunidade adquirida após a vacinação e acompanhar a dinâmica dos anticorpos ao longo do tempo, contribuindo desta forma para a avaliação e monitorização da resposta imunitária à vacina e à duração dos anticorpos produzidos. Estudos desta nature-

za pretendem contribuir para a determinação de estratégias e planeamento de programas de vacinação, bem como para a análise da efetividade da vacina antigripal (11).

_Objectivos

O estudo avaliou a produção de anticorpos para o vírus da gripe e a duração da imunidade conferida pela vacina antigripal recomendada para a época de 2017/2018. Pretendeu-se estudar a associação da idade e do estado vacinal, nas duas épocas anteriores, com a resposta imunitária após a toma da vacina.

_Material e métodos

Foi implementado um estudo de coorte, na época de 2017/2018. Os profissionais de saúde, funcionários do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA, Lisboa) foram convidados a participar no estudo durante a campanha anual de vacinação contra a gripe promovida pelo Departamento de Saúde Ocupacional (DSO) do INSA.

Participaram no estudo 74 indivíduos, com idade compreendida entre os 30 e 69 anos. Os participantes foram seguidos durante o período de outubro de 2017 a junho de 2018. A vacina antigripal (inativada, purificada, contendo 45 microgramas de antígeno da hemaglutinina por 0,5ml de suspensão injetável) foi disponibilizada e administrada no DSO do INSA.

Todos os registos foram centralizados no DSO para garantir o anonimato e confidencialidade da informação relativa aos participantes. Para cada indivíduo selecionado, foram registados os dados clínicos e demográficos (idade, sexo, comorbidades e vacinação antigripal nas duas épocas anteriores: 2015/2016 e/ou em 2016/2017 (Tabela I). Aos participantes foram colhidas 3 amostras de sangue: antes da toma da vacina (S_0), 30 dias após a vacinação (S_0+30d) e 6 meses após a vacinação (S_0+6m) (Figura 1).

As determinações laboratoriais dos títulos de anticorpos foram realizadas por metodologia padronizada, conforme o manual para diagnóstico laboratorial e vigilância virológica da gripe (2). Os soros foram pré-tratados para a remoção de

Tabela I: Características dos participantes no estudo de coorte de adultos aos quais foi administrada a vacina antigripal na época de 2017/2018.

Participantes	Total	n	%
		74	
Sexo	Feminino	59	79,7
	Masculino	15	20,3
Grupo Etário	30-49	34	45,9
	50-69	40	54,1
Vacinação anterior ^a nas épocas 2015/16 e/ou 2016/2017	não-vacinado	19	29,2
	1 vacina ^c	15	23,1
	2 vacinas ^d	31	47,7
Doenças crónicas	não	72	97,3
	desconhece	2	2,7
Síndrome Gripal ^e	Sim	13 ^b	17,6
	Não	61	82,4

^a desconhecido em 9 casos

^d vacinas de 2015/2016 e 2016/17

^b 1 positivo para A(H3)

^e definição caso (13)

^c vacina de 2015/2016 ou 2016/17

inibidores não específicos da hemaglutinação [com RDE (II) "SEIKEN"; Denka Seiken Co. Ltd.] e testados em diluições em série, 1:[10x2^k], começando em k=0. O título de anticorpos foi determinado pelo ensaio de inibição da hemaglutinação (HAI) e determinado como a maior diluição que inibe completamente o vírus. Os ensaios laboratoriais foram realizados em condições laboratoriais de nível 2 de biossegurança. Aos soros com título ≤ 10 foi atribuído o título de 5 para permitir o cálculo da média geométrica dos títulos de anticorpos (GMT). Títulos de anticorpos iguais ou superiores a 40 (HAI ≥ 40) foram considerados protetores (12).

Foi avaliada a presença de anticorpos para os vírus da gripe recomendados pela Organização Mundial de Saúde para a composição da vacina sazonal do hemisfério norte, em 2017/2018: A/Michigan/45/2015 - A (H1N1)pdm09, A/Hong Kong/4801/2014 - AH3N2 e B/Brisbane/60/2008 - linhagem B / Victoria (4).

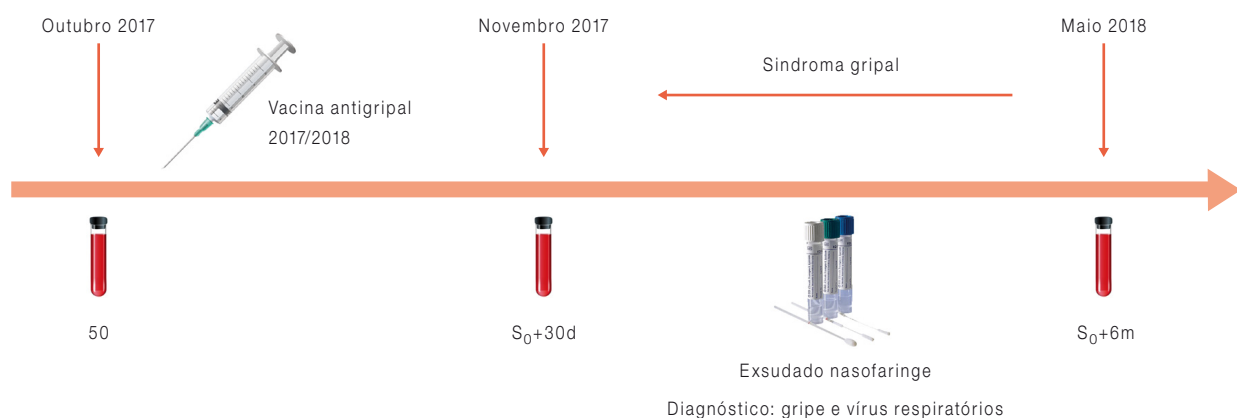
Durante o período de estudo, foi realizados aos participantes que apresentaram sinais e sintomas de síndrome gripal (13) o diagnóstico laboratorial da gripe e de outros vírus respiratórios (por métodos de biologia molecular – PCR em multiplex) para a deteção dos tipos/subtipos sazonais do vírus da gripe, das linhagens do vírus da gripe do tipo B e de outros vírus respiratórios (vírus sincicial respiratório, rinovírus, adenovírus, vírus parainfluenza, metapneumovírus e coronavírus).

A análise estatística efetuada incluiu a análise descritiva da população em estudo, o cálculo da seroprevalência (% HAI ≥ 40) e a média geométrica do título de anticorpos (GMT) com um intervalo de confiança de 95% (95%IC) nos três momentos de colheita de sangue. Foi determinada a seroconversão do título de anticorpos 30 dias após a vacinação, sendo considerada como o aumento de quatro vezes o título de anticorpos entre S₀ e S₀+30d. A análise estatística foi realizada com o programa v24; IBM SPSS, Chicago IL.

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

Todos os participantes assinaram um consentimento informado para a participação no estudo sendo garantido o anonimato não relacionável das amostras biológicas.

Figura I: Estudo de seguimento de uma coorte de adultos vacinados na época de 2017/2018.



_Resultados

Durante a época de vigilância da gripe de 2017/2018, 74 participantes foram voluntariamente vacinados e realizaram a colheita de 3 amostras de sangue. A idade média dos participantes foi de 50 anos (variou entre os 30 e os 69 anos). A maioria dos participantes eram mulheres, 80% (59/74). A história vacinal foi indicada para 65 dos participantes e 70% destes tinham sido vacinados pelo menos uma vez nos dois invernos anteriores ao estudo, sendo na sua maioria indivíduos com mais de 50 anos. Nenhum dos participantes referiu doença crónica. Durante o período de estudo, 18% (13/74) dos participantes declararam sinais e sintomas de síndrome gripal (Tabela I).

A avaliação dos anticorpos para o vírus da gripe mostrou que no início do estudo os participantes apresentavam anticorpos para os vírus vacinais. A seroprevalência antes da toma da vacina era mais elevada para o vírus do subtipo A(H3N2), A/Hong Kong/4801/2014 (42%; 95%IC: 31-53%), predominante em circulação na época anterior (2016/2017). A seroprevalência para o vírus B/Victoria, B/Brisbane/60/2008 foi de 32% (95%IC: 22-43%) e de 23% (95%IC: 13-33%) para o vírus A(H1N1), A/Michigan/45/2015. Os valores de GMT refletiram a seroprevalência observada (Figura 2).

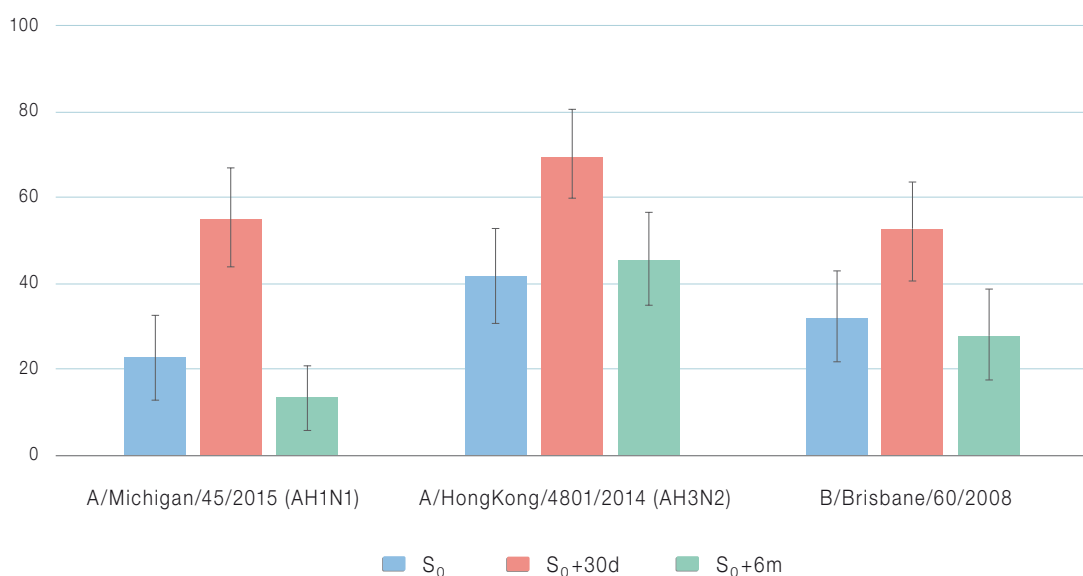
Trinta dias após a administração da vacina foi observado um aumento da seroprevalência e do GMT para os 3 vírus incluídos na vacina. Foi observado um aumento seroprevalência e valores de GMT para o subtipo A(H3N2) [70% (95%IC: 60-81%); GMT 49 (39-61)] comparativamente com a seroprevalência para os vírus A(H1N1) [55% (95%IC: 44-67%); GMT 36 (29-46)] e B/Victoria [53% (95%IC: 41-64%) e GMT 29 (25-34)].

Seis meses após a vacinação, foi observada uma diminuição da seroprevalência e dos valores de GMT para os 3 vírus vacinais, estando próximo dos valores observados no momento inicial do estudo (Figura 2). A seroprevalência mais baixa foi observada para o subtipo A(H1N1)pdm09, 14% (95%IC: 6-21%) e GMT 15 (13-17).

A análise da seroprevalência nos grupos etários 39-49 e 50-69 anos mostrou que os indivíduos com 50 ou mais anos apresentaram a seroprevalência e os valores de GMT para o subtipo A(H3N2) significativamente mais elevados antes e 30 dias após a vacinação.

Apesar da seroprevalência e dos valores de GMT antes da vacinação serem semelhantes nos grupos de indivíduos com ou sem vacinação nas épocas anteriores; 30 dias após a vacinação, foram significativamente mais elevados para o vírus do

Figura 1 : Estudo de seguimento de uma coorte de adultos vacinados na época de 2017/2018.



subtipo A(H1N1)pdm09 nos participantes que não se tinham vacinado nas duas épocas anteriores [84% (95%IC: 68-100); GMT 69 (45-106) nos não vacinados vs. 67% (95%IC: 43-91); GMT 46 (29-73) com uma vacina e 84% (95%IC: 68-100); GMT 69 (45-106) com duas vacinas; $p \leq 0,005$ seroprevalência e $p < 0,0001$ GMT] (Figura 3). No final da época esta diferença diminuiu, sendo a seroprevalência e os valores de GMT semelhantes aos observados nos participantes que declararam vacinação em épocas anteriores.

A seroconversão foi mais frequente para os vírus do tipo A, 22% para o subtipo A(H1N1) e 23% para o subtipo A(H3N2), comparativamente com o observado para o vírus do tipo B (14%) (Figura 4). A seroconversão foi significativamente mais frequente para os participantes que não se tinham vacinado nas épocas anteriores. A mesma situação foi observada para os indivíduos com títulos de anticorpos inferiores a 1:40 antes da toma da vacina.

Figura 3: Seroprevalência (% HAI \geq 40) e média geométrica do título de anticorpos (GMT) para os vírus que compõem a vacina antigripal trivalente de 2017/2018^a, antes da toma da vacina (S_0), 30 dias após a vacinação (S_0+30d) e 6 meses após a vacinação (S_0+6m) para a coorte dos em estudo (n=74 adultos vacinados). 74 adultos vacinados de acordo com a vacinação nas duas épocas anteriores (2015/2016 e 2016/2017). $P \leq 0,05$ -valor de significância estatística.

^a A/Michigan/45/2015 (AH1N1); A/Hong Kong/4801/2014 (AH3N2); B/Brisbane/60/2008 (B/Victoria).

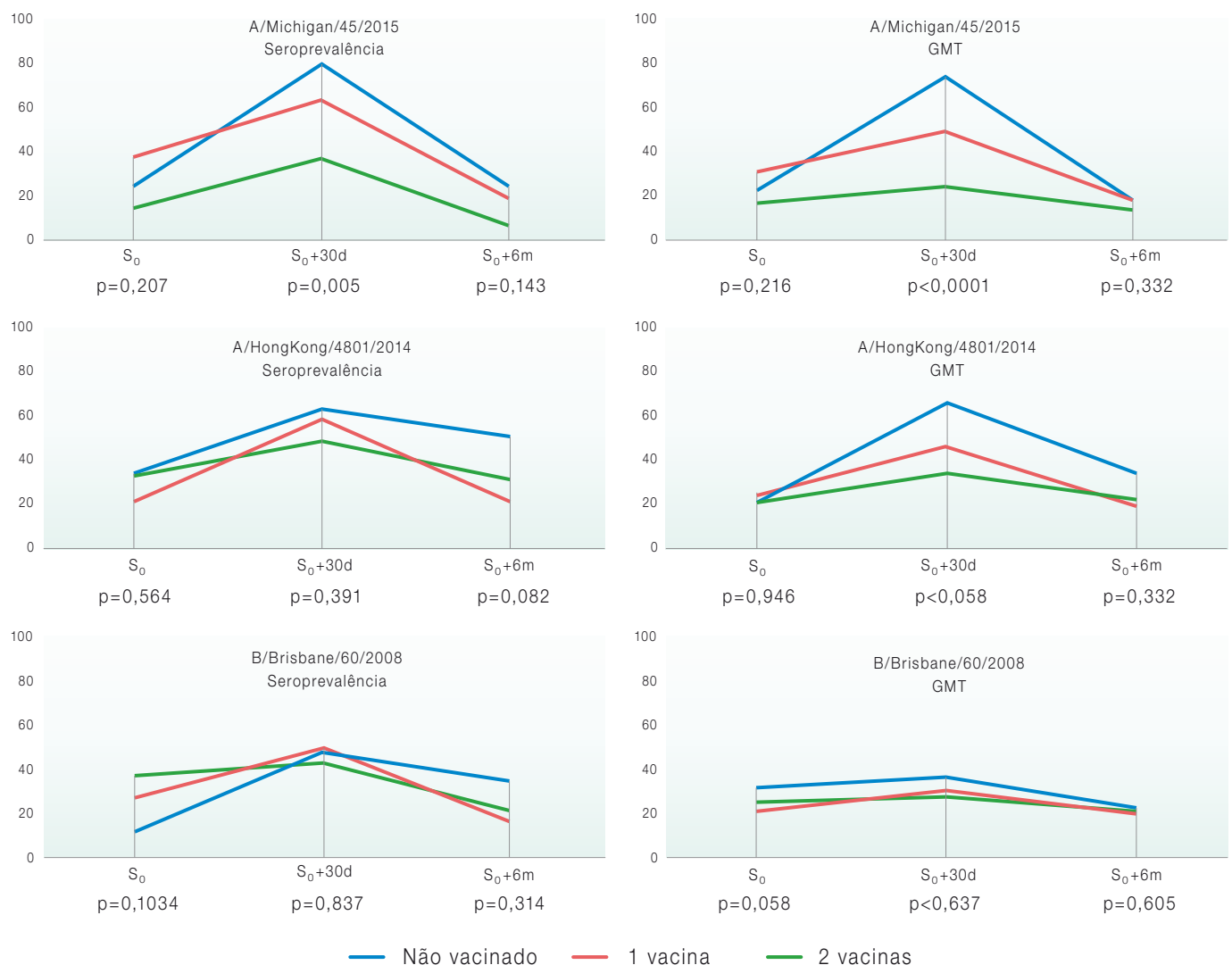
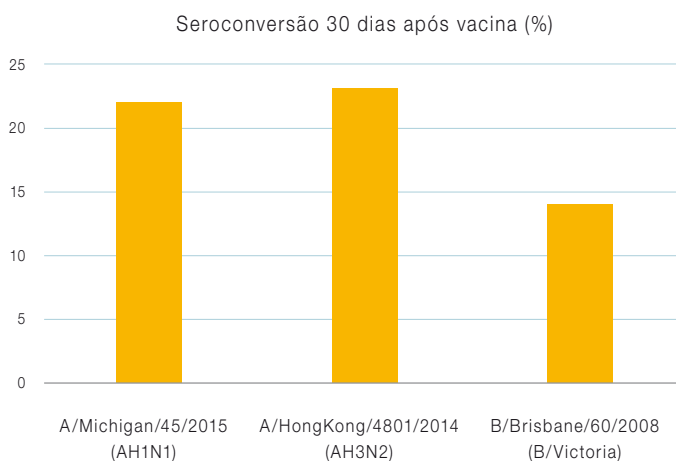


Figura 4: Seroconversão (aumento de 4 vezes o título de anticorpos 30 dias após a toma da vacina) para os vírus que compõem a vacina antigripal trivalente de 2017/2018^a.

^a A/Michigan/45/2015 (AH1N1); A/Hong Kong/4801/2014 (AH3N2); B/Brisbane/60/2008 (B/Victoria).



Foi observado um número reduzido de casos de síndrome gripal, declarados em 13 (18%) dos participantes (Tabela 1). Foi apenas confirmado laboratorialmente um caso de gripe associado ao subtipo A(H3N2) para o qual o indivíduo tinha um título de anticorpos $\text{HAI} < 40$, 30 dias após a vacinação. Em 6 casos foi confirmada a infeção por outros vírus respiratórios nomeadamente: 2 rinovírus, 1 vírus sincicial respiratório e 3 coronavírus.

_Discussão

Foi estudada a resposta imunitária conferida pela vacinação antigripal numa população de adultos saudáveis e trabalhadores ativos do INSA, grupo de profissionais de saúde para ao quais a vacinação está indicada pela norma da vacinação contra a gripe de 2017, da DGS. Foi igualmente avaliada a imunidade no final da época 2017/2018, 6 meses após a vacinação. O estudo permitiu avaliar a resposta imunitária para as variáveis: idade e toma da vacina nas duas épocas anteriores (2015/2016 e/ou em 2016/2017). Foi observado que a vacina trivalente administrada em 2017/2018 conferiu um au-

mento da seroprevalência, e do título dos anticorpos para os 3 vírus incluídos na vacina. Foi igualmente observada a seroconversão, 30 dias após a toma da vacina, para ambos os tipos e subtipos contemplados na vacina. A seroconversão foi significativamente superior nos indivíduos que não tinham efetuado a toma da vacina nas duas épocas anteriores. No início do estudo, antes da administração da vacina antigripal, a seroprevalência era mais elevada para o vírus do subtipo A(H3N2), resultado que poderá estar associado a uma maior exposição a este subtipo, que foi o detetado em 99% dos casos de gripe na época de 2016/2017 (14). Trinta dias após a vacinação, foi para os subtipos A(H1N1) e A(H3N2) que a seroprevalência, os valores de GMT e a seroconversão foram mais elevadas, comparativamente com o observado para o vírus da gripe do tipo B, este facto poderá estar associado a uma maior exposição aos vírus do tipo A ao longo da vida dos participantes no estudo (15) (16) (17).

_Conclusões

O estudo demonstrou que a vacinação antigripal promoveu a resposta imunitária, 30 dias após a vacinação, para os vírus contemplados na vacina trivalente de 2017/2018. A idade e a toma de vacinas nas 2 épocas anteriores podem influenciar a resposta imunitária à vacinação. Foi observada uma seroprevalência mais elevada para o subtipo A(H3N2), o vírus predominante na época anterior ao estudo, nos indivíduos com mais idade e com maior probabilidade de contacto anterior com este vírus. Os valores de seroprevalência e dos títulos de anticorpos foram tendencialmente mais elevados nos participantes que não se tinham vacinado nas duas épocas anteriores. São necessários mais estudos que permitam esclarecer esta possível associação. Foi observado que ao fim de 6 meses a seroprevalência e os valores de GMT diminuíram para valores próximos dos observados antes da vacinação, o que suporta a necessidade da vacinação anual, de acordo com a norma da vacinação contra a gripe da DGS (3) no início de cada outono/inverno. A especial recomendação da vacina à população de risco, com mais de 64 anos, e o aumento da cobertura vacinal neste grupo constitui um dos

e o aumento da cobertura vacinal neste grupo constitui um dos objetivos do Plano Nacional de Saúde 2020 (18) para ir ao encontro das recomendações para os países da União Europeia, e da meta estabelecida de 75% de cobertura vacinal na população de risco (idade superior a 64 anos) (19). O seguimento de coortes de indivíduos vacinados permitirá consolidar os resultados deste estudo e contribuir para o conhecimento da resposta imunitária à vacinação contra a gripe em cada época, em indivíduos frequentemente vacinados. O desenvolvimento de estudos serológicos pelo INSA, no âmbito da suas competências no Programa Nacional de Vigilância da Gripe (10) são hoje uma fonte de informação indispensável para fundamentar a escolha dos vírus recomendados para a composição da vacina contra a gripe do inverno seguinte, um contributo para a gestão das campanhas de vacinação no que diz respeito à identificação dos grupos prioritários e à calendarização da campanha anual de vacinação.

Agradecimentos

À Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

Aos Colegas do INSA que participaram no estudo.

À Dra. Isabel Picanço coordenadora dos TSACSP e aos Colegas TSACSP que realizaram as colheitas de sangue.

À Anabela Cordeiro do DSO pelo apoio administrativo.

Ao Laboratório de Referência da Gripe da Organização Mundial de Saúde (WHO collaborating centre) do Francis Crick Institute em Londres pelo fornecimento do vírus de referência.

Referências bibliográficas:

- (1) Petrie JG, Ohmit SE, Johnson E, Truscon R, Monto AS. Persistence of Antibodies to Influenza Hemagglutinin and Neuraminidase Following One or Two Years of Influenza Vaccination. 2015;212.
- (2) WHO. Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. World Health Organization, 2011;153.
- (3) Orientação nº 018/2017. Vacinação contra a gripe. Época 2017/2018. DGS, 2017.
- (4) (WHO) WHO. WHO recommendations on the composition of influenza virus vaccines.
- (5) Kleina SL, Marriott I, Fish EN. Sex-based differences in immune function and responses to vaccination. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2014;109(1):9–15.
- (6) Skowronski DM, Tweed SA, Serres G De. Rapid Decline of Influenza Vaccine – Induced Antibody in the Elderly : Is It Real , or Is It Relevant ? 2018;197(July).
- (7) WHO. WHO Public Health Research Agenda for Influenza. Organization WH, editor. Geneva;
- (8) Decreto - Lei nº 27/2012, Diário da República, 1ª série, de 8 de fevereiro de 2012
- (9) Portaria nº 162/2012, Diário da República, 1ª série, nº 99 de 22 de maio de 2012.
- (10) Decreto - Lei nº 307/1993, Diário da República, 1ª série, de 1 de setembro de 1993.
- (11) Epiconcept. Influenza monitoring of vaccine effectiveness (I-Move Project) [Internet]. [cited 2018 Sep 1]. Available from: <https://sites.google.com/site/epiflu/about-i-move/project-background>
- (12) Cox RJ. Correlates of protection to influenza virus, where do we go from here? Hum Vaccines Immunother. 2013;9(2):405–8.
- (13) Problems RH. COMMISSION IMPLEMENTING DECISION (EU) 2018/945 of 22 June 2018 on the communicable diseases and related special health issues to be covered by epidemiological surveillance as well as relevant case definitions. 2018;(2119):1–74.
- (14) Guiomar R, Pechirra P, Cristóvão P, Costa I, Conde P, Rodrigues AP, et al. Programa Nacional de Vigilância da Gripe.
- (15) Guerche-séblain C El, Cains S, Paget J, Vanhems P, Schellevis F. Epidemiology and timing of seasonal influenza epidemics in the Asia-Pacific region , 2010 – 2017: implications for influenza vaccination programs. 2019;1–10.
- (16) Cains S, Spreuwenberg P, Kuszniarz GF, Rudi JM, Owen R, Pennington K, et al. Distribution of influenza virus types by age using case-based global surveillance data from twenty-nine countries, 1999–2014. 2018;
- (17) Cains S, Alonso WJ, Séblain CE, Schellevis F, Paget J, Pasteur S. The spatiotemporal characteristics of influenza A and B in the WHO European Region: can one define influenza
- (18) Direção-Geral da Saúde. Plano Nacional de Saúde: revisão e extensão a 2020. 2015;38. Available from: <http://pns.dgs.pt/files/2015/06/Plano-Nacional-de-Saude-Revisao-e-Extensao-a-2020.pdf>
- (19) Report T. Seasonal influenza vaccination and antiviral use in EU / EEA Member States. 2018.

Contribuições do Departamento de Genética Humana do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge para o controlo das Doenças Raras

Contributions of the Human Genetics Department of the National Institute of Health Doutor Ricardo Jorge for the control of Rare Diseases

Glória Isidro, Hildeberto Correia, João Lavinha, João Gonçalves, Luís Vieira, Laura Vilarinho

gloria.isidro@insa.min-saude.pt

Departamento de Genética Humana do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

_Resumo

As doenças raras são caracterizadas por uma grande diversidade de sinais e sintomas que variam não só de doença para doença, mas também entre doentes que sofrem de uma mesma patologia. As doenças raras afetam não apenas os indivíduos doentes, mas também têm grande impacto nas famílias, amigos, cuidadores e na sociedade em geral. O diagnóstico precoce e o início de tratamento com base na evidência são fatores importantes para reduzir o impacto de uma doença rara na vida adulta. As doenças raras são um problema de saúde pública reconhecido pela Comissão Europeia e pela Organização Mundial da Saúde ⁽¹⁾⁽²⁾. O atraso no diagnóstico pode significar que se desperdiçou a oportunidade de uma intervenção atempada enquanto um diagnóstico correto poderá revelar a existência de uma doença rara subjacente não suspeitada. Neste trabalho pretende-se dar a conhecer as contribuições efetivas a nível nacional do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA, I.P.), para o Serviço Nacional de Saúde (SNS) na investigação, diagnóstico, prevenção e controlo das doenças raras, realizadas no Departamento de Genética Humana (DGH) desde 1975.

_Abstract

Rare diseases are characterized by a wide range of signs and symptoms that vary not only from disease to disease but also among patients suffering from the same clinical condition. Rare diseases not only affect sick individuals, but also have a major impact on families, friends, caretakers and society. Early diagnosis and evidence-based initiation of treatment are important factors in reducing the impact of a rare disease on adulthood. Rare diseases are a public health issue recognized by the European Commission and by the World Health Organization ⁽¹⁾⁽²⁾. A delay in diagnosis may represent that an opportunity was missed for a timely intervention whereas a correct diagnosis may reveal the existence of a rare unsuspected underlying disease. The aim of this work is to present the effective contributions of the National Institute of Health Doutor Ricardo Jorge to the National Health System in the context of research, diagnosis, prevention and control of rare diseases, which have been performed since 1975 in the Human Genetics Department.

_Introdução

As doenças raras são numerosas, de natureza heterogénea e geograficamente diferentes. Estas doenças são raramente evitáveis ou curáveis, a maioria tem uma evolução crónica e muitas resultam em morte prematura. Apesar da sua heterogeneidade, os doentes raros partilham pontos comuns relacionados com a raridade da doença, o que exige uma abordagem abrangente de saúde pública. Os desafios decorrentes da baixa prevalência, falta de conhecimento e escassez de especialização clínica e laboratorial, bem como a sua natureza crónica, degenerativa e com risco de vida, levaram as doenças raras a emergir como uma prioridade de saúde pública na Europa ⁽³⁾.

Na Europa, uma doença é considerada rara quando afeta menos do que uma em 2000 pessoas. No total os doentes raros perfazem cerca de 30 milhões de cidadãos da União Europeia, ou seja, 6% a 8% da população em que 50% destes são crianças.

Das mais de 6000 doenças raras, 80% são de origem genética sendo caracterizadas por uma grande diversidade de fenótipos e gravidade variável. Dada a sua natureza incapacitante, têm também forte impacto na família (por exemplo, a nível social, económico, reprodutor) e na sociedade exigindo apoios em múltiplas áreas (ensino, saúde, formação profissional, transportes, etc.). Um dos problemas do doente raro é a ausência de um diagnóstico ou um diagnóstico incorreto da sua doença, sendo que o diagnóstico e o tratamento precoces são fatores determinantes na redução do impacto da doença na vida adulta.

Em Portugal, a situação das doenças raras não é completamente conhecida dada a inexistência de um registo único

adequado a estas doenças, bem como o reduzido número e extensão dos estudos epidemiológicos realizados até à data.

Desde 1975 que o DGH do INSA, I.P., tem contribuído de forma efetiva em matéria de controlo das doenças raras no SNS através da investigação, formação, e de um investimento constante e progressivo na disponibilização de novos testes genéticos de apoio à clínica. Neste Departamento são realizados atualmente testes genéticos para mais de 500 doenças raras (Figura 1), assumindo-se como o maior Laboratório de Genética Humana do sector público nacional para o diagnóstico laboratorial de patologias genéticas. No âmbito da sua política de desenvolvimento e qualidade, é acreditado desde 2014 pelo Instituto Português de Acreditação (IPAC) no âmbito da norma NP EN ISO 15189 (4) para vários testes genéticos, assegurando assim uma oferta de elevada qualidade e de acordo com critérios e recomendações internacionais. O DGH é o laboratório de referência em Portugal da *International Society of Paediatric Oncology European Neuroblastoma* (SIOPEN) e do rastreio neonatal metabólico (através do Programa Nacional do Rastreio Neonatal - PNRN). Ainda no âmbito da qualidade, tem colaborado no desenvolvimento de legislação específica para o licenciamento de laboratórios que executam testes de genética médica em Portugal (5) de acordo com as melhores práticas, bem como na elaboração de orientações internacionais (6).

O objetivo primordial do diagnóstico é o tratamento específico e atempado, quando possível, e o aconselhamento genético do paciente e da família (Figura 2). Como exemplo, temos o PNRN cujo principal objetivo é o de rastrear e diagnosticar, nas primeiras semanas de vida, as patologias que fazem parte do painel das 26 doenças que, uma vez identificadas, permitem o tratamento precoce e evitam a ocorrência de atraso mental, de doença grave irreversível ou a morte da criança. Junto do DGH funcionam a Comissão Técnica Nacional e a Comissão Executiva do PNRN, a Comissão Coordenadora do Tratamento das Doenças Lisossomais de Sobrecarga e o Registo Português de Paramiloidose.

No campo das doenças raras é também importante consciencializar o público em geral, os profissionais de saúde e os tomadores de decisão sobre estas doenças e o seu impacto

social, além das consequências diretas na saúde dos próprios indivíduos afetados.

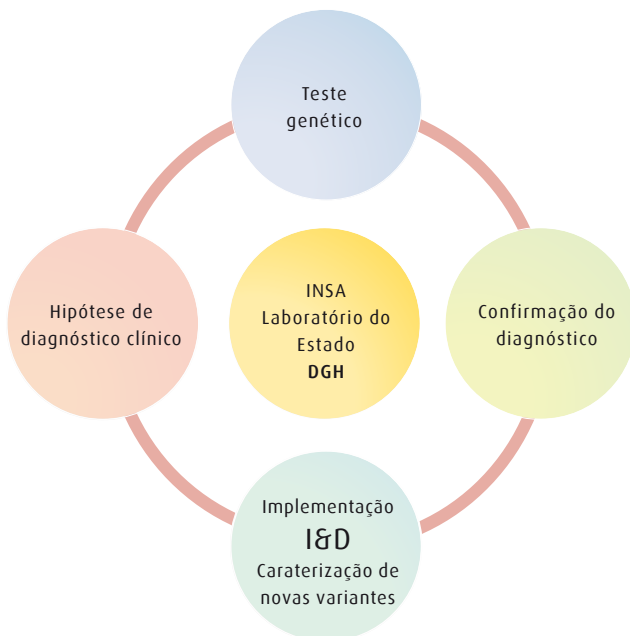
O doente raro, mas também os profissionais de saúde, enfrentam diversos problemas éticos estando estes geralmente relacionados com a disponibilidade de um diagnóstico clínico,

Figura 1: Testes genéticos em doenças raras.

Disponibilização de testes genéticos de:
Citogenética, incluindo citogenética molecular
Genética molecular
Genética bioquímica
Para >500 doenças raras, exemplos
■ Cancro hereditário (mama/ovário e colorretal)
■ Cancro raro (neuroblastoma)
■ Cromossomopatias
■ Doenças do desenvolvimento sexual
■ Doenças hemorrágicas hereditárias
■ Doenças hereditárias do metabolismo
– Doenças mitocondriais
– Doenças Lisossomais de Sobrecarga
– Doenças peroxissomais
– Aminoacidopatias
– Acidúrias orgânicas
– Doenças da β -oxidação mitocondrial dos ácidos gordos
– Doenças dos neurotransmissores
– Doenças do metabolismo da creatina
– Doenças do ciclo da carnitina
– Defeitos congénitas da glicosilação
– Galactosemias
– Glicogenoses hepáticas e musculares
– Doenças do metabolismo do colesterol
– Ceroides Lipofuscinoses
– Porfirias
■ Fibrose quística
■ Hemoglobinopatias
■ Hemocromatose hereditária
■ Infertilidade masculina
■ Fatores genéticos de risco trombótico
■ Malignidade hematológica
■ Polineuropatia Amiloidótica Familiar
■ Trombofilias hereditárias

a abordagem desigual nos cuidados de saúde, os serviços sociais inadequadamente preparados, bem como a indisponibilidade de terapia e de medicamentos órfãos (7).

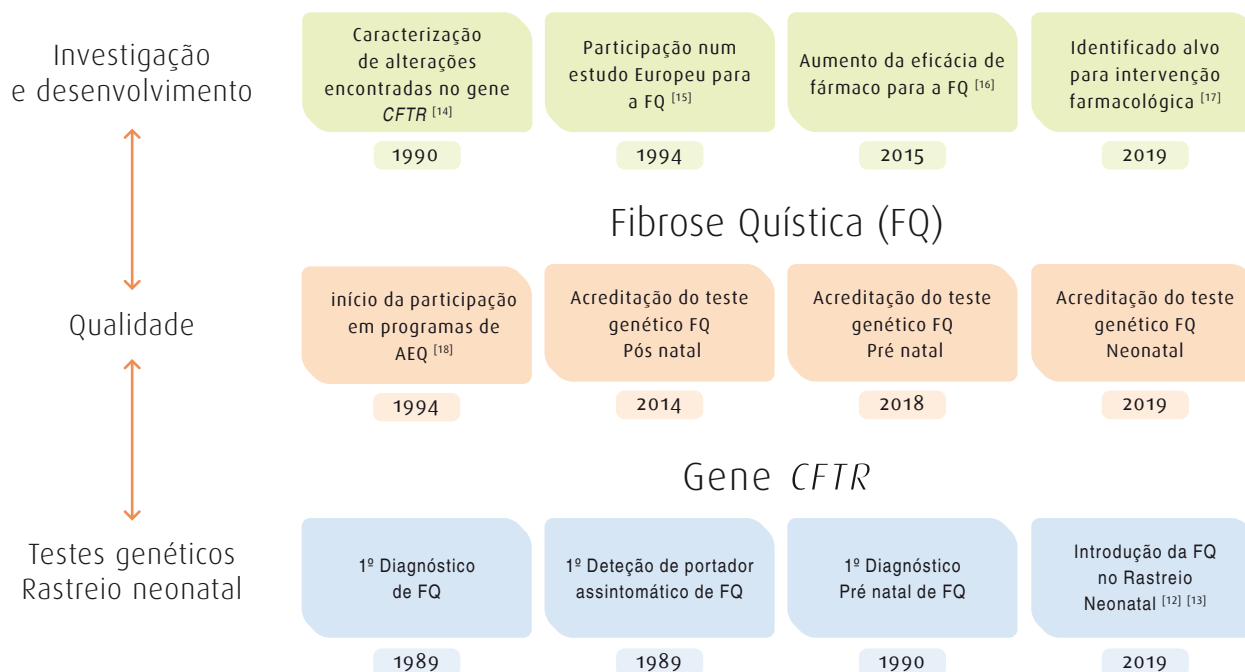
Figura 2: ↓ O DGH Interliga a hipótese de diagnóstico clínico inicial com a investigação e desenvolvimento (implementação de tecnologia e/ou caracterização estrutural e funcional de novas variantes genéticas) e com a disponibilização do teste genético para confirmação do diagnóstico.



_Métodos

O DGH aplica metodologias de epidemiologia, genética médica, citogenética/citogenética molecular, genética bioquímica, genética molecular e celular, quer em diagnóstico pré-natal, neonatal e pós-natal. Estas metodologias são utilizadas de forma integrada por pessoal técnico e científico especializado, trabalhando geralmente em equipas multidisciplinares. De forma a estudar anomalias cromossómicas constitucionais são utilizadas diferentes abordagens como por exemplo citogenética convencional, *Fluorescent In Situ Hybridization* (FISH), *Multicolor-Fluorescent In Situ Hybridization* (M-FISH), e *microarrays*, os quais também permitem detetar perdas de heterozigotia. Os métodos da genética molecular humana são aplicáveis ao diagnóstico de diferentes doenças raras e à investigação das mesmas, incluindo patologias com componente genética de suscetibilidade ou predisposição. Neste âmbito, as técnicas de sequenciação e genotipagem de DNA são amplamente utilizadas, sendo o DGH dotado de equipamento de ponta contando com dois equipamentos automatizados de capilares para sequenciação de Sanger e três plataformas de sequenciação de nova geração. Ao longo dos anos, as atividades de investigação e desenvolvimento realizadas no DGH registaram uma evolução significativa, com natural reflexo na vertente de prestação de serviços especializados e na caracterização funcional de variantes da sequência de DNA com significado clínico desconhecido (Figura 3). São exemplos disto a recente implementação do teste de rastreio pré-natal não invasivo de aneuploidias no SNS e a aplicação da sequenciação na identificação das alterações cromossómicas e genómicas estruturais (8).

Figura 3: Exemplo de uma abordagem multidisciplinar a uma doença rara, a Fibrose Quística.



Resultados

De 1975 a 2007 a atividade do DGH realizou-se exclusivamente no INSA em Lisboa. Em 2007, em consequência da fusão do Instituto de Genética Médica Jacinto Magalhães (IGMJM) com o INSA, as atividades de genética médica, genética molecular, genética bioquímica, citogenética, rastreio neonatal, e investigação foram integradas no DGH. Desde 2013, das atividades que vieram do IGMJM, apenas o rastreio neonatal, os testes de genética bioquímica associados ao mesmo e a investigação permaneceram no DGH. Todos os anos são executados no DGH mais de 6000 testes genéticos de citogenética (incluindo a citogenética molecular), genética molecular e genética bioquímica, visando o diagnóstico de indivíduos com doença genética e a prevenção (primária) da ocorrência de novos casos de doença, através da (i) identificação de portadores assintomáticos, (ii) da identificação de casais com risco acrescido de terem descendência afetada (Figuras 4, 5, 6) e (iii) do diagnóstico pré-natal (Figura 7). Por outro lado, no que diz respeito ao PNRN (que sucedeu, em 2019, ao Programa Nacional de Diagnóstico Precoce - PNDP), são processadas cerca

de 86000 amostras/ano, que correspondem a todos os recém-nascidos em Portugal.

No que diz respeito à execução de atividades de investigação e desenvolvimento de natureza epidemiológica, etiopatogénica e clínica, o DGH publica anualmente mais de três dezenas de artigos em revistas internacionais indexadas e oito em revistas nacionais. Sendo a captação de financiamento para o desenvolvimento destas atividades um aspeto essencial, e dos cerca de vinte e cinco projetos/ano do DGH, destaca-se a participação em dois projetos internacionais direcionados às doenças raras, o “EUCERD Joint Action: working for rare diseases” (2015) e o “European Joint Program for Rare Diseases” (em curso) e três projetos nacionais, o “Desvendar - DEScobrir, VENcer as Doenças rARas” financiado pelo Norte2020, o “Defeitos genéticos das doenças mitocondriais: abordagem por sequenciação de nova geração” financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) e desenvolvido em colaboração com três grandes Centros Hospitalares do nosso país e o “Citogenética de próxima geração irrompe nos cuidados de saúde e contribui para a anotação do genoma humano”, financiado também pela FCT

e que contou com a cooperação da *Harvard Medical School*. Nestes projetos, a abordagem da sequenciação genómica na identificação das alterações cromossómicas e genómicas estruturais permitiu identificar a base genómica/molecular das patologias em cerca de 50% dos doentes investigados e pôr fim à “odisseia do diagnóstico” por que passam estes doentes com doença rara e seus familiares e cuidadores.

Desde há vários anos, salienta-se ainda a capacidade demonstrada na caracterização de variantes classificadas com significado clínico desconhecido. Por exemplo, foi possível classificar uma variante encontrada numa família de Polipose Adenomatosa Familiar como patogénica através de estudos complementares efetuados no DGH (9).

No DGH, a formação e sensibilização para as doenças raras tem sido efetuada através da capacitação de novos profissionais de saúde (médicos e técnicos de laboratório) e investigadores, sendo dada formação complementar especializada a

cerca de 4 estagiários por ano. Por outro lado, o apoio científico, técnico e logístico demonstrado às associações de doentes constituem também um contributo de suporte ao doente raro e seus familiares. Até à data foram assinados protocolos com a APOFEN - Associação Portuguesa de Fenilcetonúria e outras Doenças Hereditárias do Metabolismo (DHM) proteico e com a associação Raríssimas, e têm sido desenvolvidos esforços para apoiar a nova organização agregadora das associações de doenças raras.

Registam-se ainda como resultados a reflexão bioética nas vertentes assistencial e de investigação, nomeadamente através dos pareceres da Comissão de Ética para a Saúde, participação em várias outras Comissões de Ética Nacionais e a publicação do livro “Biobancos e investigação genética: orientações éticas” (10).

Na **tabela 1** resumem-se as atividades e os resultados do DGH em matéria de controlo das doenças raras no SNS.

Tabela 1: Resumo das atividades do controlo das doenças raras no SNS e respetivos resultados do DGH.

Atividades	Resultados do DGH
Prevenção (secundária) das complicações da doença nos indivíduos afetados, através do rastreio neonatal (o chamado “teste do pezinho”) e do diagnóstico precoce – Programa Nacional do Rastreio Neonatal	– Rastreio de todos os recém nascidos em Portugal
Realização de testes genéticos visando o diagnóstico clínico (incluindo o diagnóstico pré-sintomático), nas populações pediátrica e adulta	– Realização de aproximadamente 6000 testes genéticos/ano
Execução de atividades de investigação e desenvolvimento de natureza epidemiológica, etiopatogénica e clínica.	– Cerca de 25 projetos de I&D/ano, a maioria em doenças raras – Publicação média anual de 35 artigos em revistas internacionais e 8 em revistas nacionais
Capacitação de novos profissionais de saúde (médicos e técnicos de laboratório) e investigadores.	– Aproximadamente 4 estágios/ano
Colaboração no processo de licenciamento de laboratórios para a execução de testes de genética médica de acordo com as melhores práticas.	– Portaria 167/2014 - Licenciamento de laboratórios de genética médica – Elaboração do Manual de Boas Práticas para Laboratórios de Genética Médica
Reflexão bioética nas vertentes assistencial e de investigação, nomeadamente através dos pareceres da Comissão de Ética para a Saúde	– Participação em várias comissões de ética nacionais – Publicação “Biobancos e investigação genética: orientações éticas”
Apoio científico, técnico e logístico às associações de doentes.	– Protocolo assinado com APOFEN -Associação Portuguesa de Fenilcetonúria e outras DHM proteico – Protocolo assinado com as Raríssimas – Apoiar a nova organização agregadora das associações de doenças raras

Figura 4: Número de testes de genética molecular realizados no DGH nos últimos 10 anos com vista ao diagnóstico de indivíduos com doença genética e a prevenção (primária) da ocorrência de novos casos de doença, através da identificação de (i) indivíduos afetados (caso índice) e (ii) portadores assintomáticos.

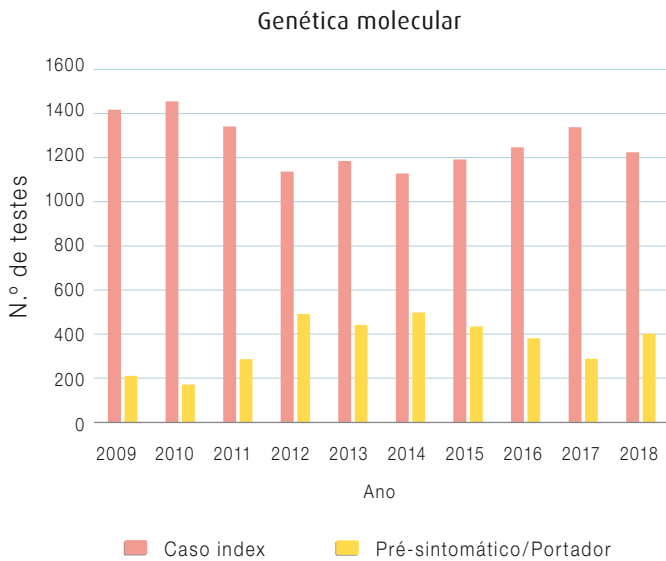


Figura 5: Número de testes de citogenética e citogenética molecular, realizados no DGH nos últimos 10 anos com vista ao diagnóstico de indivíduos no período pós-natal.

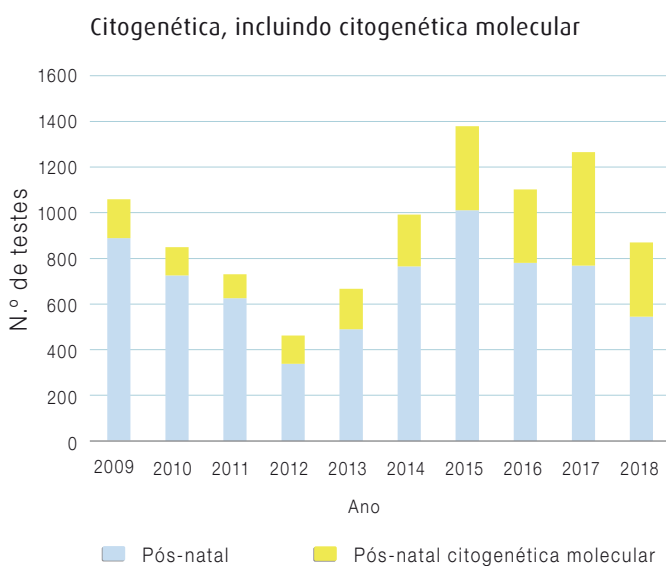


Figura 6: Número de testes de genética bioquímica realizados no DGH nos últimos 6 anos com vista ao diagnóstico de indivíduos com doença genética, à identificação de casais com risco acrescido de terem descendência afetada e à monitorização de terapêutica.

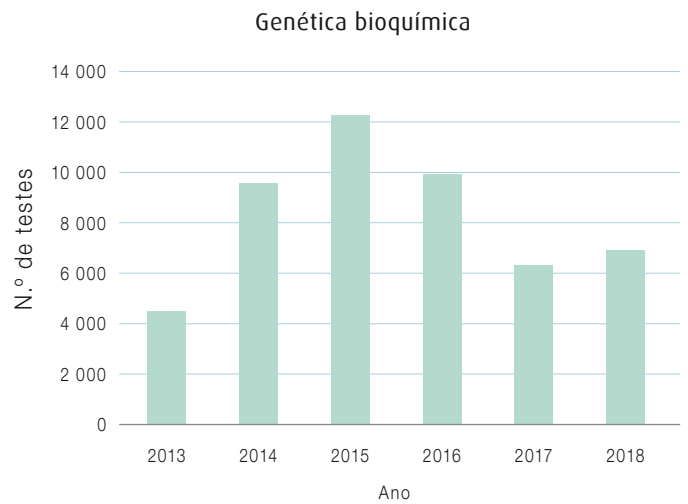
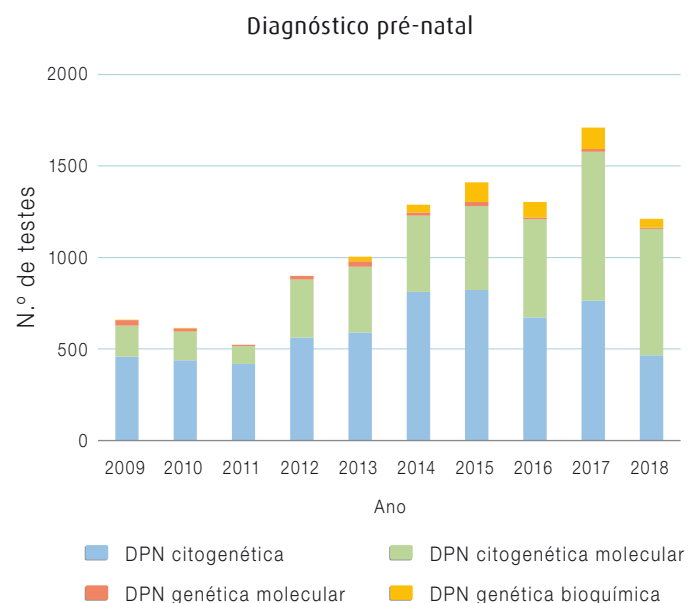


Figura 7: Número de testes de DPN realizados no DGH nos últimos 10 anos. Os DPN de genética molecular e genética bioquímica representam apenas 2-9% de todos os DPNs realizados. A partir de 2015, verifica-se um aumento do DPN de citogenética molecular em detrimento dos testes de citogenética convencional.



_Conclusões e perspectivas futuras

Enquanto parte integrante do INSA, IP, que se constitui como o laboratório do Estado no setor da saúde, laboratório nacional de referência e observatório nacional de saúde, o DGH aborda a doença rara de uma forma multidisciplinar (Figura 3). A sua história e desenvolvimento ao longo de quase 45 anos integram amplas e diversificadas áreas de investigação. Embora a investigação em genética humana tenha sofrido muitas mudanças no que é comumente chamado de "era pós-genómica", a sua missão principal, no que diz respeito à investigação, diagnóstico e prevenção das doenças raras no SNS não mudou, sendo o nosso objetivo prestar serviços cada vez mais diferenciados e realizar investigação científica com o mais alto padrão de excelência e relevância.

Os resultados dos testes genéticos, conjugados com o aconselhamento genético, contribuem diretamente para a prevenção da doença rara no contexto familiar e da saúde pública (populacional). Considera-se atualmente que a sequenciação do genoma humano nas suas diferentes abordagens dará um forte contributo para a identificação do defeito genético associado a diversas doenças genéticas humanas, ainda sem diagnóstico etiológico. A medicina genómica (abordagem genómica) permitirá melhorar significativamente os cuidados personalizados da genética médica. No entanto, e apesar do progresso na investigação relacionada com as doenças genéticas, em que cerca de 20% dos genes codificadores de proteínas foram positivamente associados a um ou mais fenótipos de doença até ao momento, destaca-se o enorme trabalho de investigação que ainda necessita de ser efetuado (11).

As DHM, um importante grupo das doenças raras, têm sido um foco constante de atenção relevante do DGH há mais de 40 anos e para as quais já existem no nosso país Centros de Referência para o Tratamento (Despacho n.º 3653/2016). No entanto, as doenças raras continuam a representar um grande desafio para a investigação, destacando-se por um lado o aumento da necessidade de cooperação e partilha de conhecimento e, por outro lado, a canalização de esforços em direção a mais centros de referência dedicados para desenvolver e oferecer capacitações multidisciplinares. Serão estes os desafios que teremos de enfrentar num futuro próximo?

Agradecimento: agradece-se às colegas Conceição Silva e Paula Pacheco a revisão da Figura 3 do artigo e ao ServiceDesk - Tecnologias de Sistemas de Informação pela extração dos dados informáticos.

Colaboração com Unidades de Investigação: G. Isidro – Instituto de Saúde Ambiental (ISAMB); J. Lavinha – *Biosystems and Integrative Sciences Institute* (BioISI); J. Gonçalves e L. Vieira – *Centre for Toxicogenomics and Human Health* (ToxOmics).

Referências bibliográficas:

- (1) https://ec.europa.eu/health/non_communicable_diseases/rare_diseases_pt (Acedido em Novembro de 2019)
- (2) https://www.who.int/medicines/areas/priority_medicines/BP6_19Rare.pdf (Acedido em Novembro de 2019)
- (3) Nguengang Wakap S, Lambert DM, Olry A, Rodwell C, Gueydan C, Lanneau V, Murphy D, Le Cam Y, Rath A. Estimating cumulative point prevalence of rare diseases: analysis of the Orphanet database. *Eur J Hum Genet* (2019) doi:10.1038/s41431-019-0508-0
- (4) http://www.ipac.pt/pesquisa/ficha_15189.asp?ID=E0015
- (5) Portaria n.º 167/2014 de 21 de agosto. Diário da República, 1.ª série – N.º 160 – 21 de agosto de 2014
- (6) Silva M, de Leeuw N, Mann K, Schuring-Blom H, Morgan S, Giardino D, Rack K, Hastings R. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *Eur J Hum Genet*. 2019 Jan; 27(1):1-16. doi: 10.1038/s41431-018-0244-x. Epub 2018 Oct 1
- (7) Dusanka Krajnovic. Ethical and Social Aspects on Rare Diseases. *FILOZOFIJA I DRUŠTVO XXIII* (4), 2012. DOI: 10.2298/FID1204032K
- (8) David D, Anand D, Araújo C, Gloss B, Fino J, Dinger M, Lindahl P, Pöyhönen M, Hannele L, Lavinha J. Identification of OAF and PVRL1 as candidate genes for an ocular anomaly characterized by Peters anomaly type 2 and ectopia lentis. *Exp Eye Res* 168:161-170, 2018; doi: 10.1016/j.exer.2017.12.012.
- (9) Gonçalves V, Theisen P, Antunes O, Medeira A, Ramos JS, Jordan P, Isidro G. A missense mutation in the APC tumor suppressor gene disrupts an ASF/SF2 splicing enhancer motif and causes pathogenic skipping of exon 14. *Mutat Res*. 2009 Mar 9; 662(1-2):33-6. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2008.12.001. Epub 2008 Dec 6.
- (10) Célia Ventura. *Biobancos e Investigação Genética: Orientações Éticas*. Editora: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP. Nov-2011. <http://hdl.handle.net/10400.18/1264>
- (11) Posey, J.E. Genome sequencing and implications for rare disorders. *Orphanet J Rare Dis* 14, 153 (2019) doi:10.1186/s13023-019-1127-0.
- (12) Diário da República, 2.ª série PARTE C, Despacho n.º 7276/2019. Aprova o Programa Nacional do Rastreamento Neonatal (PNRN) e determina a sua implementação pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I. P..
- (13) Marcão A, Barreto C, Pereira L, Guedes Vaz L, Cavaco J, Casimiro A, Félix M, Reis Silva T, Barbosa T, Freitas C, Nunes S, Felício V, Lopes L, Amaral M and Vilarinho L. Cystic Fibrosis Newborn Screening in Portugal: PAP Value in Populations with Stringent Rules for Genetic Studies. 2018 Int. J. Neonatal Screen. 2018, 4, 22; doi:10.3390/ijns4030022.
- (14) Duarte A, Barreto C, Marques-Pinto L, Tavares MC, Amil J, Pinto M, Chieira ML, Castedo S, Lavinha J. Cystic fibrosis in the Portuguese population: haplotype distribution and molecular pathology. *Hum Genet*. 1990;85:404-5.
- (15) The Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Population Variation of common cystic fibrosis mutations. *Hum Mutat*. 1994; 4(3):167-77.
- (16) Loureiro CA, Matos AM, Dias-Alves Â, Pereira JF, Uliyakina I, Barros P, Amaral MD, Matos P. A molecular switch in the scaffold NHERF1 enables misfolded CFTR to evade the peripheral quality control checkpoint. *Sci Signal*. 2015 May 19; 8(377):ra48. doi: 10.1126/scisignal.aaa1580.
- (17) Matos AM, Pinto FR, Barros P, Amaral MD, Pepperkok R, Matos P. Inhibition of calpain 1 restores plasma membrane stability to pharmacologically rescued Phe508del-CFTR variant. *J Biol Chem*. 2019 Sep 6; 294(36):13396-13410. doi: 10.1074/jbc.RA119.008738. Epub 2019 Jul 19.
- (18) The European Concerted Action on Cystic Fibrosis. A quality control study of CFTR mutation screening in 40 different European laboratories. *European Journal of Human Genetics*. 1995; 3(4):234-45

_DESVENDAR “DEScobrir, VENcer as Doenças rARas”

DESVENDAR “DEScobrir, VENcer as Doenças rARas”

Célia Nogueira^{1,2}, Lisbeth Silva¹, Cristina Pereira², Altina Lopes², Marisa Encarnação¹, Maria Francisca Coutinho¹, Olga Amaral¹, Sandra Alves¹, 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.

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

_Resumo

As Doenças Raras apresentam uma incidência inferior a 5 casos em cada 10.000 pessoas, estando identificadas cerca de 7.000 a nível mundial, das quais 80% são origem genética. Estima-se que em Portugal existam 600.000 a 800.000 doentes portadores destas patologias. O projeto de investigação DESVENDAR “DEScobrir, VENcer as Doenças rARas”, financiado pelo Norte 2020 (NORTE-01-0246-FEDER-000014), possibilitou a implementação da tecnologia de sequenciação de nova geração (NGS) no nosso laboratório, contribuiu para grandes avanços no diagnóstico genético das doenças hereditárias do metabolismo, uma vez que tem a capacidade de gerar uma enorme quantidade de dados num curto espaço de tempo e a um custo acessível, fornecendo informações importantes aos profissionais de saúde e aos doentes, no âmbito da medicina personalizada. A translação de conhecimentos de NGS para a área de prestação de serviços permite obter um diagnóstico preciso destas doenças raras, detetar com maior celeridade a existência de casos semelhantes e diminuir o peso no Sistema Nacional de Saúde devido a tratamentos paliativos prolongados e pouco específicos. Esta investigação translacional está a capacitar o nosso país com novas abordagens tecnológicas, reforçando o nosso Centro como laboratório de referência para o estudo destas patologias.

_Abstract

Rare Diseases have an incidence of less than 5 cases per 10.000 people, with around 7.000 identified worldwide, being 80% of genetic origin. It is estimated that in Portugal there are 600,000 to 800,000 patients with rare diseases. The research project DESVENDAR “DEScobrir, VENcer as Doenças rARas”, funded by Norte 2020 (NORTE-01-0246-FEDER-000014), allowed the implementation of Next Generation Sequencing (NGS) technology in our laboratory, which is underlying major advances in genetic diagnosis of rare metabolic diseases, as it has the capacity to generate a huge amount of data in a short time and at an affordable cost, providing practical information to health professionals and patients within the scope of personalized medicine. The translation of NGS knowledge to the laboratorial routine is facilitating a better understanding of these rare diseases and is allowing a quicker detection of similar cases, reducing the costs in the national health system due to prolonged and unspecific palliative treatments. This translational research is enabling our country with new technological approaches, strengthening our Center as a reference laboratory for the study of these pathologies.

_Introdução

Na União Europeia, as Doenças Raras (DR) são definidas por uma prevalência inferior a 5 casos por 10 000 pessoas (Decisão 1295/1999/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 29-04-1999), afetando, segundo as últimas estatísticas publicadas, cerca de 6 a 8% da população. Em Portugal, estima-se que existam 600.000 a 800.000 portadores destas doenças. O número total de DR é cada vez maior, sendo estimado que, a cada semana, sejam descritas cinco novas doenças a nível mundial.

No nosso país a verdadeira dimensão do problema permanece desconhecida, dada a inexistência de uma identificação adequada destas doenças, bem como o reduzido número e dimensão dos estudos epidemiológicos realizados até à data. No entanto, a publicação da Estratégia Integrada para as DR 2015-2020 está a melhorar o conhecimento destas doenças no país ⁽¹⁾. De acordo com a literatura, cerca de 25% dos doentes espera pelo diagnóstico definitivo entre 5 a 30 anos após o aparecimento dos primeiros sintomas ⁽²⁾. Este facto é revelador das dificuldades com que se deparam os doentes afetados por estas doenças. O prognóstico destes doentes é, em geral, desfavorável, sendo as DR responsáveis por 35% da mortalidade antes da idade de 1 ano, 10% entre os 1 e 5 anos e 12% entre os 5 e os 15 anos ⁽³⁾. A gestão das DR exige além da prestação de cuidados de saúde altamente especializados, uma ação intersectorial conjunta para a consensualização de boas práticas para a utilização eficiente dos recursos, partilha de bases de dados, definição de prioridades, fornecimento de informação detalhada aos doentes e monitorização dos resultados de avanços na investigação. Torna-se assim imperioso aprofundar a investigação focando estas patologias, com vista a aumentar o conhecimento

sobre as suas bases moleculares e, conseqüentemente, melhorar o diagnóstico dos doentes raros tornando mais célere e mais precisa a resposta aos clínicos, facilitando o acesso dos doentes à terapia, quando existente, ou à informação. Note-se que a informação, por si só, é já uma enorme mais-valia na área das DR de base genética uma vez que permite oferecer às famílias afetadas aconselhamento genético, despiste de portadores e mesmo diagnóstico pré-natal. A identificação da causa de uma DR representa, tanto para a família afetada como para a comunidade médico-científica, um enorme avanço.

A Unidade de Rastreio Neonatal Metabolismo e Genética do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), no Porto, é o braço laboratorial do Programa Nacional do Rastreio Neonatal, sendo dos únicos centros de investigação do Ministério da Saúde exclusivamente dedicados ao estudo das Doenças Hereditárias do Metabolismo (DHM). O INSA, enquanto laboratório de estado, conjuga as vertentes de investigação e desenvolvimento (I&D) e de prestação de serviços. Assim, esta investigação translacional permitiu a transferência de conhecimentos e técnicas resultantes de abordagens de I&D no âmbito do estudo das doenças raras, para a área assistencial, de modo a serem disponibilizados como prestação de serviços pelo INSA.

_Objetivo

O principal objetivo desta investigação foi implementar a tecnologia de NGS para a investigação da etiologia molecular de DR e transferir os respetivos conhecimentos e técnicas resultantes destas abordagens de investigação para a unidade de prestação de serviços, com base na medicina personalizada.

_Doentes e métodos

Em 2016 foi adquirido para o nosso laboratório um Sequenciador de Nova Geração, MiSeq (Illumina), ao abrigo do projeto DESVENDAR “DEScobrir, VENcer as Doenças rARas”, financiado pelo Norte 2020 (NORTE-01-0246-FEDER-000014). Seguidamente foi implementada a tecnologia de NGS para a investigação da etiologia molecular de DR, permitindo assim a identificação de novas mutações causadoras de doença de

uma forma mais rápida e eficaz através do desenvolvimento de novos testes de diagnóstico.

Foram estudados 335 doentes pediátricos e adultos com idades compreendidas entre 1 dia e os 80 anos, provenientes de vários Centros Hospitalares do país, com suspeita de doença genética de origem metabólica.

Para a preparação das amostras foi utilizado DNA genómico extraído a partir de sangue periférico, utilizando o kit QIAamp DNA Blood (QIAGEN).

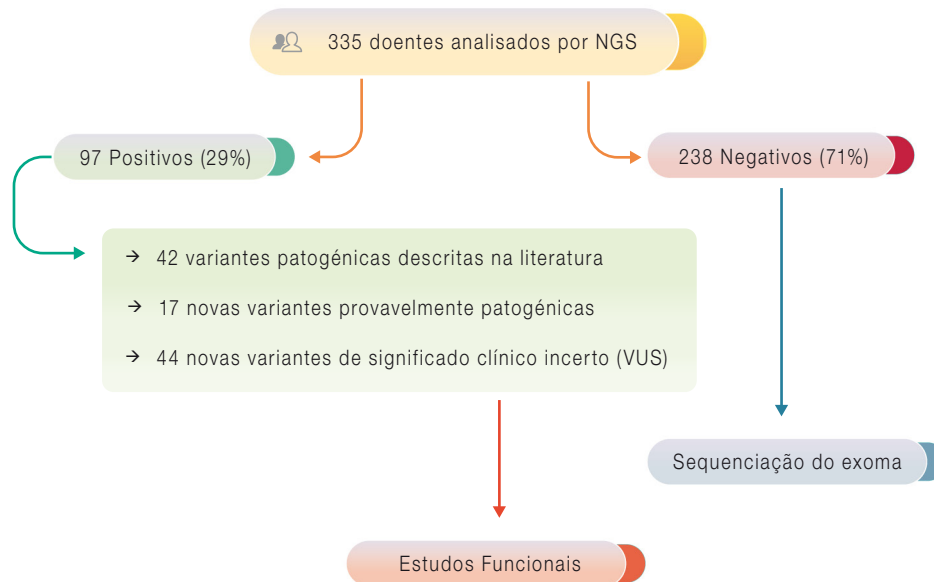
Foram utilizados diferentes painéis de genes para as várias DHM, desenhados especificamente e de acordo com a metodologia SureSelect QXT da Agilent, aplicados à investigação de doenças metabólicas (Aminoacidopatias, Acidúrias Orgânicas, Doenças da β -oxidação Mitocondrial dos Ácidos Gordos e Glicogenoses), Doenças Mitocondriais (4), Doenças Lisossomais de Sobrecarga e Doenças Peroxissomais (5).

Os resultados foram analisados utilizando programas de análise disponíveis (Surecall e Anovar). As variantes foram filtradas através de uma *pipeline* bioinformática desenvolvida *in house*, tendo em conta o tipo de mutação, a frequência populacional, a presença em bases de dados (dbSNP, HGMD, ClinVar, etc) e preditores *in-silico* (6).

_Resultados

Através da sequenciação dos vários painéis de genes associados a DHM nos 335 doentes investigados obteve-se uma profundidade de leitura média de 213x por amostra. A média de variantes identificadas para cada amostra foi de 422 e após a análise destas, filtrando através de vários parâmetros, identificamos a variante ou variantes causais em 97 casos estudados (29%). Das 103 variantes identificadas, 42 eram variantes patogénicas descritas na literatura, 17 novas variantes provavelmente patogénicas e 44 novas variantes de significado clínico incerto (VUS). Para averiguar a patogenicidade das VUS identificadas está em curso o desenvolvimento de estudos funcionais. Todas as variantes causais foram confirmadas pelo método de Sanger e efetuaram-se estudos familiares de co-segregação. Nos restantes 238 doentes em que não se identificou nenhuma variante suspeita, iremos prosseguir o estudo através da sequenciação do exoma clínico (Figura 1).

Figura 1: Resultados do estudo de 335 doentes suspeitos de Doenças Raras analisados por NGS.



_Discussão

O recente desenvolvimento da tecnologia de NGS revolucionou o diagnóstico molecular das DR de base genética, que em geral não têm biomarcador patognomónico. O presente estudo possibilitou esclarecer a etiologia molecular de 29% dos doentes estudados, permitindo o seu diagnóstico definitivo.

A implementação desta tecnologia de NGS está a contribuir para a melhoria significativa da capacidade de diagnóstico instalada, incrementando a oferta de prestação de serviços com novos testes diagnósticos para DR (Figura 2), mais rápidos, precisos e potencialmente rentáveis.

A identificação da causa de uma DR diminui a ansiedade da família e permite a melhoria da condição do doente através do acesso a cuidados específicos.

Figura 2: Painéis de genes disponibilizados como prestação de serviços pelo INSA.

Painéis de NGS	Nº genes
DNA mitocondrial completo	37
Doenças Mitocondriais (genes nucleares)	202
Doenças Lisossomais de Sobrecarga	70
Doenças Peroxissomais	30
Doenças da β-oxidação mitocondrial dos Ácidos Gordos	22
Glicogenoses	14
Ceroide Lipofuscinose Neuronal	30
Rabdomiólise	58
Hipoglicemia	37
Hiperamonémia	
Exoma Clínico ou Mendelioma	~ 5.000
Exoma Completo	~ 20.000

_Conclusão

Esta investigação translacional está assim a proporcionar o desenvolvimento de uma medicina personalizada com tratamentos orientados para cada doente e para um aconselhamento genético adequado às famílias afetadas. Possibilitará ainda à comunidade médico-científica compreender melhor a etiologia das DR, detetar com maior celeridade a existência de casos semelhantes e reforçar o nosso Centro como laboratório de referência para o estudo destas patologias.

Agradecimentos

- Aos clínicos dos vários centros Hospitalares que nos enviaram os casos para este estudo, assim como aos doentes que colaboraram nesta investigação.
- Ao Norte 2020 pelo financiamento deste projeto de investigação (NORTE-01-0246-FEDER-000014 DESVENDAR “DESCobrir, VENcer as Doenças rARas”).
- À UTI do DGH_INSA pela colaboração na confirmação das variantes identificadas pelo método de Sanger.

Referências bibliográficas:

- (1) Ministérios da Saúde, da Educação e Ciência e da Solidariedade, Emprego e Segurança Social. Despacho n.º 2129-B/2015, 26 de fevereiro. DR 2ª Série, n.º 41(2º supl.):5190-(8)-(10). Aprova a Estratégia Integrada para as Doenças Raras 2015-2020. <https://dre.pt/application/file/66622142>
- (2) Isidro G and Brito e Costa P. Observar as Doenças Raras em Portugal. Boletim Epidemiológico Observações. 2015;5(Supl 7):1-2. <http://hdl.handle.net/10400.18/3783>
- (3) Background Paper on Orphan Diseases for the WHO Report on Priority Medicines for Europe and the World. 2013
- (4) Nogueira C et al. Avanços no diagnóstico das doenças mitocondriais através da sequenciação de nova geração. Boletim Epidemiológico Observações. 2018; 7(21):5-8. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/5546>
- (5) Encarnação M et al., Desenvolvimento de um ensaio de sequenciação de nova geração para acelerar o diagnóstico molecular das doenças lisossomais de sobrecarga. Boletim Epidemiológico Observações. 2018 maio-agosto;7(22):34-37. <http://hdl.handle.net/10400.18/5589>
- (6) Nogueira et al., Targeted next generation sequencing identifies novel pathogenic variants and provides molecular diagnoses in a cohort of pediatric and adult patients with unexplained mitochondrial dysfunction. Mitochondrion. 2019 Jul;47:309-317. doi: 10.1016/j.mito.2019.02.006.

Prevenção primária dos Defeitos do Tubo Neural: quantos casos poderiam ter sido prevenidos entre 2004 e 2017 através da adesão à recomendação oficial?

Primary prevention of neural tube defects: how many cases could have been prevented between 2004 and 2017 by adhering to the official recommendation?

Paula Braz, Ausenda Machado, Irina Kislaya, Carlos Matias Dias

paula.braz@insa.min-saude.pt

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

_Resumo

Os defeitos do tubo neural (DTN) que ocorrem quando não se verifica o encerramento desta estrutura até ao 28º dia de vida fetal, podem ser alvo de uma medida de prevenção primária através da suplementação com ácido fólico, se iniciada antes da gravidez e até ao final do 1º trimestre, a qual tem o potencial para reduzir o risco daquelas anomalias em cerca de 70%. Em Portugal, a Circular Normativa 02/DSMIA emitida pela DGS, recomenda esta suplementação desde 1998. O presente estudo descreve a epidemiologia da toma de ácido fólico em Portugal e estima o número de casos de DTN que seriam prevenidos caso o início do suplemento tivesse começado antes da gravidez. Foi realizado um estudo transversal com dados do Registo Nacional de Anomalias Congénitas (RENAC) entre 2004 e 2017. A evolução temporal da frequência anual do início da toma de ácido fólico foi analisada através do teste de Cochran-Armitage para proporções. O número de casos preveníveis foi estimado considerando a fração de prevenção de 70% e o número de casos de DTN registados no RENAC que ocorreram em gravidezes sem a correta suplementação por ácido fólico. Em média, o início da suplementação pré-concepcional foi referido por 13,8% das mulheres, tendo sido notificados 538 casos de DTN. Estima-se uma prevenção de 202 casos de DTN se as mulheres tivessem iniciado a toma de ácido fólico antes da gravidez. A prevenção primária dos DTN deve ser encorajada através de medidas que promovam a suplementação por ácido fólico.

_Abstract

Neural tube defects (NTD) occur when the neural tube does not close properly until the 28th day of foetal life. These birth defects have a primary prevention measure available if folic acid supplementation starts before pregnancy and stay until the end of the 1st trimester of pregnancy, resulting in an estimated 70% of NTD that can be prevented. Portugal joined this recommendation since 1998 (Circular Normativa 02 / DSMIA). The aim of this study is to describe when folic acid intake was started and estimate the number of cases that would have been prevented if folic acid intake had started before pregnancy. A cross-sectional study was performed using data from the National Registry of Congenital Anomalies (RENAC) between 2004 and 2017. The temporal evolution of the beginning of folic acid intake was analysed with Cochran-Armitage test for proportions. The proportion of preventable cases was estimated considering the 70% prevention fraction and the number of NTD cases registered in RENAC that occurred in pregnancies without the recommended folic acid supplementation. On average, 13.8% of women reported started folic acid before pregnancy and 538 cases of NTD

were reported. If all women had started folic acid before pregnancy, an estimated 202 cases could have been prevented. Primary prevention of NTDs should be encouraged with measures that promote folic acid supplementation.

_Enquadramento

Entre as anomalias congénitas do sistema nervoso central, o grupo dos defeitos do tubo neural (DTN) constituído pela anencefalia, a espinha bífida e o encefalocelo é o mais frequente. Estas alterações resultam do deficiente encerramento do tubo neural e ocorrem até ao 28º dia de vida fetal afetando cerca de 6,3 casos/ 10 000 nascimentos em Portugal nos anos de 2014-2015 (1). Este conjunto de anomalias, ao contrário de quase todas as outras, beneficia de uma medida de prevenção primária através da suplementação de ácido fólico. Estudos realizados no final do século passado referem que a utilização diária desta vitamina, com início antes da gravidez e consumida de forma contínua até ao fim do primeiro trimestre, previne cerca de 70% dos DTN (2,3). Em Portugal, a Circular Normativa 02/DSMIA de 1998 emitida pela Direção Geral da Saúde, reforçada em 2006 (Circular Normativa 02/DSMIA de 2006), recomenda a suplementação com ácido fólico “a iniciar pelo menos dois meses antes da data de interrupção do método contraceptivo” (4). Dados obtidos através da Rede Médicos Sentinela em 2005, revelam que apenas 8% das grávidas tinha iniciado o suplemento com ácido fólico, de acordo com aquela recomendação (5). No mesmo ano, o estudo de Machado A. et al., refere que 11% dos inquiridos conhecia o efeito preventivo do ácido fólico e que 15,4% referiu corretamente o período recomendado para o início desta suplementação (6). No entanto, os resultados do estudo de Braz, P. et al. com dados do Registo

Nacional de Anomalias Congénitas (RENAC), reportam um início da suplementação pré-concepcional apenas em cerca de 10% das grávidas, valor aquém do desejável (7). Dados do relatório de vigilância do RENAC relativos aos anos de 2011 a 2015 referem que cerca de 80% dos casos com um DTN são medicamente interrompidos (IMG) devido à sua gravidade (8), com consequências emocionais intensas para a grávida e para o casal (9, 10). A nível europeu vários países introduziram políticas acerca da prevenção primária dos DTN semelhantes às portuguesas, e alguns realizaram várias campanhas sobre o efeito protetor do ácido fólico para o feto, no entanto vários estudos referem que a maioria das mulheres não toma suplementos de ácido fólico na fase pré-concepcional. Somente na Holanda e na Dinamarca o uso pré-concepcional de ácido fólico é superior a 30%, não atingindo 10% nos outros países (11).

_Objetivo

É objetivo deste estudo descrever a frequência do início da toma de ácido fólico e obter uma estimativa do número de casos de DTN que poderia ter sido prevenido caso o início do suplemento tivesse acontecido antes da gravidez, entre 2004 e 2017.

_Materiais e métodos

Estudo transversal com dados do Registo Nacional de Anomalias Congénitas (RENAC) entre 2004 e 2017. Em cada um dos casos notificados, as anomalias são codificadas segundo a 10ª versão da Classificação Internacional de Doenças e causas de morte.

Foi calculada a frequência do início da toma de ácido fólico para cada ano. A evolução temporal foi analisada com teste de Cochran-Armitage para proporções. A prevalência anual de casos de DTN foi estimada considerando o número de casos de anencefalia (Q00); encefalocelo (Q01) e espinha bífida (Q05) notificados ao RENAC e os nascimentos disponibilizados pelo Instituto Nacional de Estatística.

O número de casos de DTN preveníveis pela suplementação pré-concepcional foi estimado considerando a fração de prevenção de 70% e o número de casos de DTN, que ocorreram em gravidezes sem a correta suplementação por ácido fólico, i.e., não toma ou que correu no primeiro trimestre de gravidez.

_Resultados

Em média, nos anos em estudo, o início da suplementação com ácido fólico na fase pré-concepcional, foi referido por 13,8% (n=2138) das mulheres. Observou-se um aumento de 6,8% em 2004 para 17,9% em 2017, tendência estatisticamente significativa ($p < 0.001$). Por outro lado, iniciaram o suplemento apenas no 1º trimestre 46,2% (n=7148) das mulheres, tendo variado entre 37,2% em 2004 e 45,4% em 2017. Não tomaram ácido fólico até ao final do 1º trimestre da gravidez, ou não tomaram durante toda a gravidez 6,1% (n=942) das mulheres, variando entre 8,2% em 2004 e 5,1% em 2017, sendo a tendência decrescente estatisticamente significativa ($p < 0.001$) (Figura 1).

Figura 1: Distribuição da frequência do início da toma de ácido fólico, nos casos notificados ao Registo Nacional de Anomalias Congénitas entre 2004 e 2017.

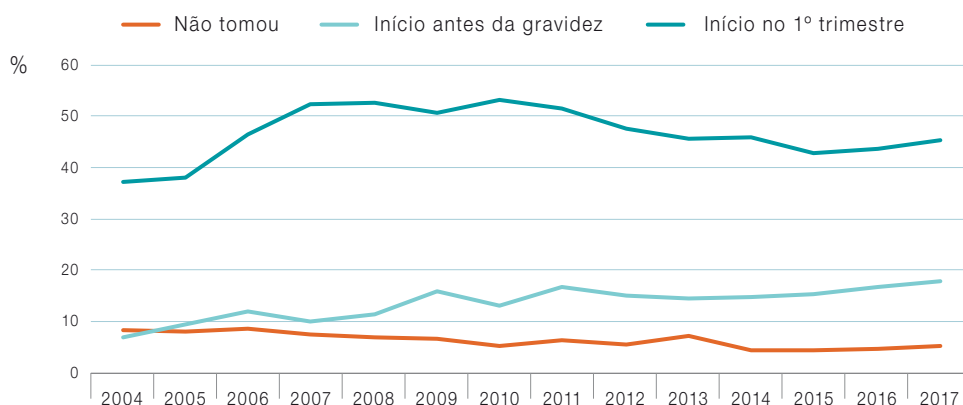
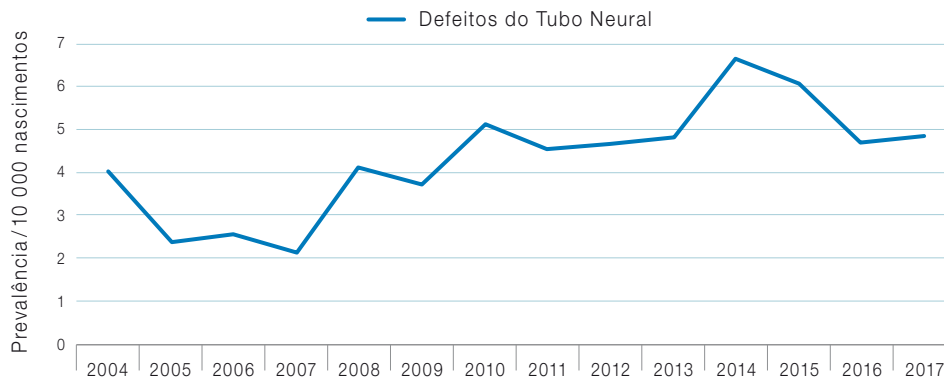


Figura 2: Distribuição da prevalência de casos com Defeitos do Tubo Neural, recebidos pelo Registo Nacional de Anomalias Congénitas entre 2004 e 2017.



No período em observação, foram notificados 15486 casos com 25697 anomalias que incluíam 538 casos com 567 DTN. A prevalência de DTN foi de 4,2 casos/10 000 nascimentos, variando entre 2 casos/10 000 nascimentos (2007) e 7 casos/10 000 nascimentos (2014) (Figura 2).

Tinham espinha bífida 49,7% (n=282) dos casos, 37,7% (n=214) tinham anencefalia e 12,5% (n=71) tinham encefalocele. Nas mulheres que tiveram um nascimento com DTN, 16,8% (n=93) iniciaram o suplemento antes da gravidez, 42,2% (n= 234) no 1º trimestre e 9,7% (n=54) não tomou o suplemento. Para os anos em estudo estima-se que se poderia ter prevenido o nascimento de 202 casos com um DTN se a toma de ácido fólico tivesse sido iniciada antes da gravidez.

Conclusões

A prevenção primária dos DTN é possível através da promoção de níveis séricos adequados de ácido fólico na mulher em idade fértil (12). O início do suplemento com ácido fólico antes da gravidez e a manutenção do seu consumo até ao final do primeiro trimestre, de forma ininterrupta, é fundamental para se conseguir o potencial de prevenção de 70% dos DTN (2,3). Em Portugal, apesar da recomendação da toma de ácido fólico pré-concepcional que consta na Circular Normativa 02/DSMIA de 2006, a percentagem de mulheres que adere a esta medida é muito baixa, em semelhança ao que se verifica noutros países europeus, comprometendo a prevenção primária dos DTN. Talvez devido à

elevada percentagem de IMG que evita o nascimento de crianças com estas anomalias, se tenha perdido a noção de que elas continuam a afetar as nossas crianças. Assim, é importante desenvolver iniciativas que reforcem a importância desta medida de prevenção primária e promovam a recomendação da Circular Normativa quanto à suplementação pré-concepcional de ácido fólico.

Referências bibliográficas:

- (1) Braz P, Machado A, Dias, C M. Registo Nacional de Anomalias Congénitas: relatório de 2014-2015. Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2017
- (2) MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of Neural Tube Defects: Results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* 1991; 338:131-7.
- (3) Czeizel AE, Dudas I. Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med* 1992; 327:1832-5.
- (4) Ministério da Saúde. Direção-Geral da Saúde. Circular Normativa 02/DSMIA de 16.01.2006.
- (5) Instituto Nacional de Saúde (INSA). Médicos Sentinela: Relatório de Actividades de 2005. INSA, Lisboa; 2007.
- (6) Machado A, Feijóo MJ. Ácido Fólico e Anomalias Congénitas: Conhecimentos da População Portuguesa. Instituto Nacional de Saude. Lisboa; 2005.
- (7) Braz P, Machado A, Matias Dias C. Prevenção primária dos Defeitos do Tubo Neural: dados do Registo Nacional de Anomalias Congénitas. *Gaceta Sanitaria* 2015; 29 (Supl):109.
- (8) Braz, Paula; Machado, Ausenda; Dias, Carlos Matias. Registo Nacional de Anomalias Congénitas - 5 anos de vigilância em Portugal: 2011-2015. Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2017.
- (9) Sousa L, Pereira M G. Interrupção da gravidez por malformação congénita: a perspectiva da mulher. *Psicologia, Saúde & Doenças* 2010; 11 (2): 229-242.
- (10) Fatia AJJ. Uma mão cheia de nada : vivências da mulher submetida a interrupção médica de gravidez por malformações fetais [Dissertação de Mestrado]. Lisboa: Universidade Aberta; 2008. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.2/560>
- (11) Walle H de, Abramsky L. Prevention of Neural Tube Defects by Periconceptional Folic Acid Supplementation in Europe (Updated version December 2009). EURO-CAT Folic Acid Work Gr. 2009;44.
- (12) WHO. Guideline: Optimal serum and red blood cell folate concentrations in women of reproductive age for prevention of neural tube defects. Geneva: World Health Organization; 2015.

_Acidentes Domésticos e de Lazer: uma ocorrência em Portugal com necessidade de abordagem interdisciplinar

Domestic and Leisure Accidents: an occurrence in Portugal which needs an interdisciplinary approach

Tatiana Alves; Emanuel Rodrigues; Ricardo Mexia; Mariana Neto; Carlos Matias-Dias

tatiana.alves@insa.min-saude.pt

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

_Resumo

Os dados provenientes do instrumento de observação EVITA permitem a monitorização da ocorrência dos Acidentes Domésticos e de Lazer (ADL) em Portugal. Esta informação pode contribuir para o planeamento, monitorização e avaliação das intervenções nesta área, desde logo no âmbito do Plano Nacional de Saúde e no Programa Nacional de Acidentes, assim como a nível europeu, através do contributo para a base europeia das lesões (*injury data base*). A informação gerada pelo EVITA pode, igualmente, contribuir para a otimização da gestão dos cuidados de saúde prestados nas urgências hospitalares, onde o sistema recolhe a informação. Foi realizado um estudo descritivo dos 106 179 ADL recolhidos pelo sistema entre janeiro e dezembro de 2018. Uma análise da distribuição deste tipo de acidentes nas urgências hospitalares permitiu verificar que ocorreram cerca de 47 casos em cada 1000 episódios de urgência. Tratam-se de eventos que ocorreram sobretudo em casa (48.2%) e em ambiente escolar (18.3%), cujo mecanismo foi principalmente a queda (66.9%) e tendo como lesões mais frequentes hematoma/contusão (56.3%) e ferida aberta (19.5%).

_Abstract

The data collected from the observation EVITA instrument allows the surveillance of the occurrence about Home and Leisure Accidents (HLA), in Portugal. This information can contribute for the planning, monitoring and evaluation of interventions related to this area, in the framework of National Health Plan, National Accident Prevention Program, and European level through Injury Data Base. The information produced by EVITA can also contribute in the perspective of health care management provided in the physical space of hospital emergencies, where EVITA collects information. We conducted a descriptive study using data collected by EVITA between January and December 2018. During this period 106 179 ADL were registered. A quick perception of the weight of this type of accident in the hospital emergency room showed that there were about 47 cases out of 1000 admissions to the emergency room. This was as event that occurred mainly at home (48.2%) and in the school environment (18.3%), caused by fall (66.9%) and the most frequent injuries were bruises (56,3%) and open wounds (19,5%).

_Introdução

A temática dos acidentes e lesões encontra-se enquadrada por políticas europeias de Saúde Pública, tendo em vista a proteção e a promoção da saúde e da segurança das populações dos Estados Membros. No passado, foi reconhecido que os dados existentes não eram suficientes para compreender os fatores causais nem as circunstâncias em que as lesões ocorriam e como tal, a observação passou a centrar-se quase exclusivamente nos acidentes e lesões que resultavam em morte. Consequentemente, as lesões consideradas minor foram descuradas, apesar de terem efeitos económicos e sociais relevantes decorrentes da necessidade de utilização dos serviços de saúde e da perda de produtividade devida a baixa por doença, entre outros. O desenvolvimento de projetos promovidos pela União Europeia (EC, 2013) tem vindo progressivamente a minimizar esta falta de informação.

De acordo com a Agência Executiva para a Saúde e Consumidores (2013), este investimento levou a que os Estados membros, assim apoiados a nível europeu, desenvolvessem sistemas de monitorização de base hospitalar complementando outras fontes estatísticas de saúde, fundamentais para a abordagem de promoção da segurança e prevenção das lesões. Tal monitorização permitiu o desenvolvimento da Rede Europeia da Base de dados das lesões – *European Injury Data Base* (EU - IDB *Injury Data base*), que abrangem todos os grupos etários, fontes de informação de causas externas e circunstâncias.

Por conseguinte, a maioria dos países membros da EU, onde se inclui Portugal através do EVITA, participa na construção da base de dados de lesões não fatais na Europa, através do IDB, incluindo as lesões decorrentes da participação dos

cidadãos em todos os setores da vida, particularmente nos ambientes da casa e espaço circundante, espaços de lazer, escola e locais de realização de atividades desportivas.

Em Portugal, os Acidentes Domésticos e de Lazer (ADL) são monitorizados através do sistema de vigilância EVITA, que teve início em 1990, no âmbito de um programa da Comunidade Europeia EHLASS (*European Home and Leisure Accidents Surveillance System*). Desde 2000 o registo é assegurado pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, através do atual Departamento de Epidemiologia, anterior ONSA (Observatório Nacional de Saúde).

A noção de que a saúde se encontra interligada com os diversos contextos e ambientes da vida dos indivíduos e das comunidades, contribui para uma melhor compreensão da dimensão das problemáticas da saúde numa perspetiva global e intersectorial. Este conceito é também visível no Programa Nacional de Prevenção de Acidentes (PNPA), no qual o EVITA surge como um instrumento de monitorização dos indicadores referentes aos acidentes em contexto doméstico e de lazer (ADL), e dos quais resultem recurso aos Serviços de Urgência (DGS, 2017).

Importa ainda destacar a atualidade da problemática de Saúde Pública respeitante à ocorrência de ADL, no âmbito das lesões não intencionais, com relevo particular para aqueles que, por reunirem um conjunto de determinadas condições, são considerados grupos mais vulneráveis. De facto, a caracterização epidemiológica deste tipo de ocorrências pretende proporcionar um melhor conhecimento e consequente sensibilização da comunidade para a necessidade de medidas preventivas. Este objetivo está em linha com um dos eixos estratégicos do Plano Nacional de Saúde, designadamente, o da "Cidadania em Saúde" (DGS, 2015).

A necessidade de incluir a Saúde em todas as políticas torna-se bem evidente com a problemática dos ADL, uma vez que envolve não só a área da saúde, como também a da educação, desporto e segurança, salientando-se os benefícios mútuos de ações e colaborações conjuntas com impacto nos serviços de saúde e de proteção social (DGS, 2017).

Tratando-se de uma ocorrência potencialmente evitável, o reconhecimento da importância dos ADL e das lesões decorrentes afigura-se central, constituindo uma das áreas prioritárias para a adoção de estilos de vida saudável e enquanto objetivo da Literacia em Saúde (Plano de Ação para a Literacia em Saúde), (DGS, 2019).

O presente estudo teve como objetivo caracterizar a distribuição dos ADL quanto ao local da ocorrência, ao mecanismo da lesão, ao tipo de lesão, à região do corpo lesada e ao tipo de resposta nos serviços de saúde hospitalares, durante o ano de 2018.

_Materiais e métodos

Procedeu-se a um estudo observacional, descritivo, transversal utilizando os dados recolhidos entre 1 de janeiro e 31 de dezembro de 2018 pelo sistema EVITA.

Estes registos são efetuados numa amostra de serviços de urgência dos hospitais do Serviço Nacional de Saúde (SNS), a nível nacional, que utilizam o sistema SONHO. Atualmente, o EVITA abrange todas as unidades hospitalares da região do Algarve, 90% das unidades hospitalares da região Centro e Norte, 50% na região do Alentejo e 63% em Lisboa e Vale do Tejo.

No que respeita à organização e ao funcionamento do sistema EVITA, a mesma pode ser consultada em outras publicações (Alves *et al.*, 2017). Os dados foram analisados quanto à distribuição percentual dos ADL no que respeita ao local de ocorrência, mecanismo da lesão, tipo de lesão, parte do corpo lesada e tipo de resposta desencadeada pelos serviços.

Resultados e discussão

No ano de 2018, o número total de ADL registados pelo sistema EVITA foi de 106 179, valor mais elevado do que o verificado em anos anteriores, dado o aumento do número de unidades notificadoras, que passaram de 3 em 2016 para 21 em 2018.

De um modo global, considerando o total episódios de urgência, nas unidades hospitalares da rede de notificadores ao sistema EVITA, no período considerado observaram-se cerca de 47 casos de ADL, por cada 1000 episódios às urgências. Dados do último relatório da monitorização dos acidentes na União Europeia revelaram que a esta proporção variou entre 19.54 (Finlândia) e 84.05 (Malta) casos por 1000, no período de 2012 a 2014 (EuroSafe, 2016).

A proporção de ADL no total das admissões aos SU, assumiu o valor mais elevado, quando comparado com a proporção de Acidentes de Trabalho (18 casos em cada 1000) e com a proporção de Acidentes de Viação (8 casos em cada 1000).

A maioria dos casos de ADL ocorreu em casa (48,2%), na escola, área institucional e em recintos públicos (18,3%), ao ar livre (11,6%) e em áreas de transporte (7,5%) (Figura 1).

Os grupos etários mais afetados corresponderam ao grupo com idade igual ou inferior a 14 anos (28,0%) e ao grupo com

65 e mais anos (28,4%) e foram significativamente mais frequentes ($p < 0.01$) nos indivíduos do sexo masculino (50,5%).

De um modo geral, os mecanismos de lesão principais registados foram a queda (66,9%), contacto com... (14,0%) e decorrente de corte, compressão e perfuração (9,1%) (Figura 2).

No que se refere ao tipo de lesão verificou-se que as mais relevantes foram: hematoma/contusão (56,3%), seguido de lesões por ferida aberta (19,5%) e concussão (10,1%), o que está de acordo com a realidade europeia quanto ao tipo de lesão mais frequente por este tipo de acidente (EuroSafe, 2016).

Decorrente de uma lesão em contexto dos acidentes desta natureza, constatou-se que as partes do corpo mais lesadas foram os membros (60,4%), seguindo-se a cabeça (28,2%) e apenas 11,3% dos ADL envolveram a área do tronco.

Na sequência de um ADL, a maioria das vítimas teve alta no próprio dia, sem necessidade de qualquer referenciação posterior (63,1%). No entanto, em cerca de 25,9% dos casos houve necessidade de encaminhamento para consulta em cuidados de saúde primários ou hospitalar e 5,1% foram internadas.

Figura 1: Distribuição percentual dos Acidentes Domésticos e de Lazer por Local de Ocorrência, registados no sistema EVITA no ano 2018.

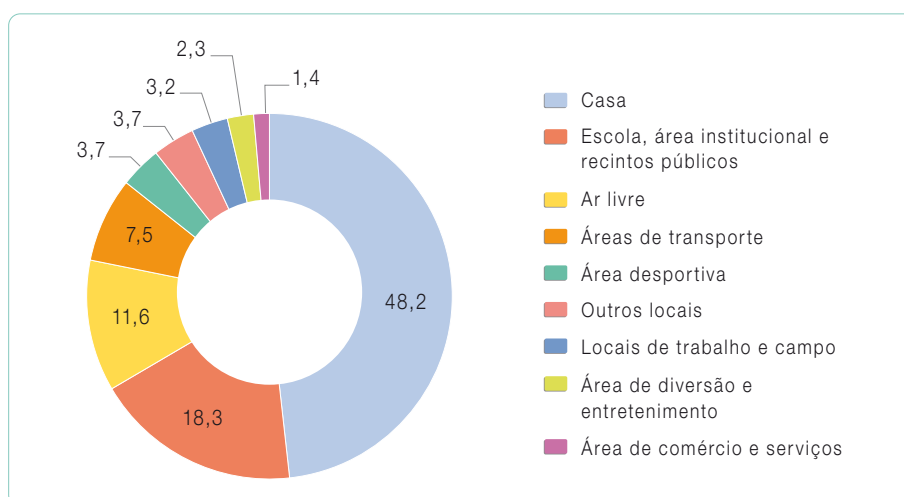
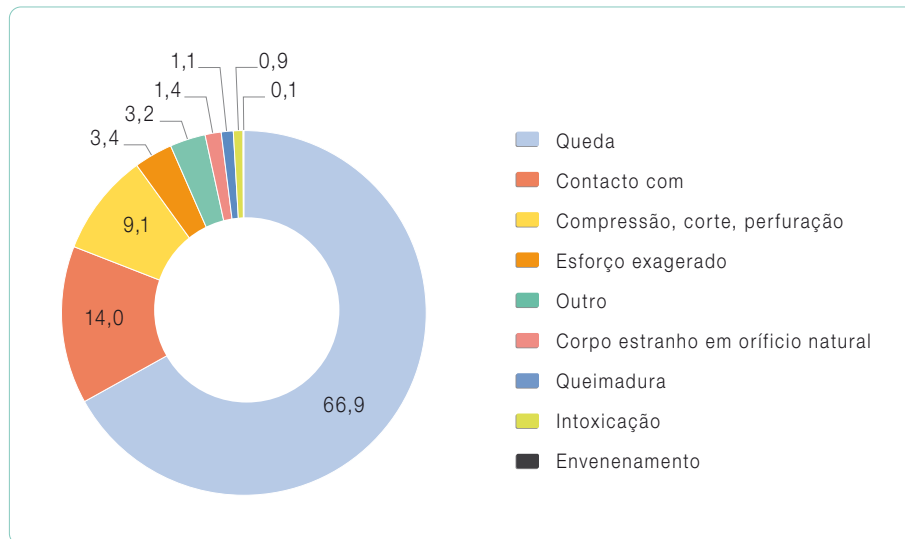


Figura 2: ▾ Distribuição percentual dos Acidentes Domésticos e de Lazer por Mecanismo de Lesão, registados no sistema EVITA no ano de 2018.



Conclusões

No ano 2018:

- A maioria dos ADL registados pelo sistema EVITA ocorreu em indivíduos com idades até aos 14 anos e com mais de 65 anos, observando-se um predomínio do sexo masculino;
- A maior percentagem de ADL ocorreu em casa;
- A queda constituiu a principal causa de recurso à Urgência no contexto de ADL ocorridos em casa, na escola e em ambiente de lazer ou desportivo;
- A região do corpo mais afetada foram os membros;
- O tipo de lesão mais frequente foi hematoma/contusão;
- O destino após alta hospitalar mais frequente na sequência de um ADL foi o exterior, sem necessidade de reorientação posterior.

Referências bibliográficas:

- European Commission. 2013. Joint Actions – EU support for key public health initiatives 2008-2011. Luxembourg: Publications Office of the European Union. ISBN 978-92-9200-026-4
- Alves, et al. Acidentes domésticos e de lazer: resultados do sistema de vigilância EVITA apurados para o período 2013-2015. Boletim Epidemiológico Observações. 2017; 6(18):43-46.
- European Association for Injury Prevention and Safety Promotion. 2016. "Injuries in the European Union: summary of injury statistics for the years 2012-2014". Amsterdam: EuroSafe. www.eurosafe.eu.com
- Directorate Consumer Products Safety Unit. 2017. "Injury and Accident Data Collection in Support of Consumer Product Safety". Apresentação oral no Workshop promovido pela Joint Research Centre. Ispra. 2017
- Direção-Geral da Saúde. Plano Nacional de Saúde. Revisão e Extensão a 2020, Lisboa: DGS, 2015.
- Direção-Geral da Saúde. Programa Nacional de Prevenção de Acidentes. Extensão 2017-2020, Lisboa: DGS, 2017 (trabalho não publicado)
- Direção-Geral da Saúde. Manual de Boas Práticas Literacia em Saúde. Capacitação dos Profissionais de Saúde, Lisboa: DGS, 2019
- Rodrigues, E. Mexia, R. Neto, M. Alves, T. 2016. "EVITA- Epidemiologia e Vigilância dos Traumatismo e Acidentes: relatório 2013-2015". Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge IP,
- Contreiras, T. Rodrigues, E. 2014. "EVITA – Epidemiologia e Vigilância dos Traumatismo e Acidentes: relatório 2009-2012". Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge IP, <http://hdl.handle.net/10400.18/2449>

Cobertura da população diabética pela vacina antigripal: tendência na população portuguesa ao longo de 19 épocas gripais (1998/99 a 2017/18)

Coverage of the diabetic population by the influenza vaccine: trend in the Portuguese population over 19 influenza seasons (1998/99 a 2017/18)

Ausenda Machado, Irina Kislaya, Baltazar Nunes, Ana Paula Rodrigues, Carlos Matias Dias

ausenda.machado@insa.min-saude.pt

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

_Resumo

A diabetes é uma doença crónica com elevada prevalência em Portugal. Nos doentes com diabetes existe um risco de complicações pós-infeção de gripe, pelo que a vacina contra a gripe é recomendada desde 2001. Foi objetivo deste estudo descrever a evolução da tendência da cobertura da vacina no grupo de pessoas com diabetes em 1998/99-2017/18. Foram analisados os dados recolhidos no âmbito do Painel ECOS (Em Casa Observamos Saúde) entre 1999 a 2018. Para cada época em análise foi estimada a taxa de cobertura pela vacina antigripal e o respetivo intervalo de confiança a 95%. As estimativas foram obtidas com base numa amostragem complexa, recorrendo a pesos amostrais de modo a obter estimativas representativas para Portugal continental. Para analisar a evolução da cobertura da vacina antigripal na população diabética foi utilizada uma análise de meta-regressão. Os resultados indicam uma tendência crescente da cobertura da vacina antigripal na população em estudo, de 22,5% em 1998/99 a 63,6% em 2017/18. Esta tendência crescente foi estatisticamente significativa. A contínua monitorização da cobertura da vacina contra a gripe, com recurso a um instrumento de observação estável, permite detetar alterações na evolução deste indicador. Esta valência, poderá ser útil na avaliação de intervenções em saúde pública, assim como na promoção da vacinação contra a gripe.

_Abstract

Diabetes is a chronic disease with high prevalence in Portugal. Diabetic have a high-risk of influenza complications and yearly influenza vaccination is highly recommended since 2001. Based on influenza vaccine coverage monitoring data, this study aimed to quantify the effect of free of charge vaccine introduction for diabetics on influenza vaccine coverage trends. Data collected by the ECOS Panel (At Home We Look Health) survey from 1999 to 2018 were analysed. For each season, the influenza vaccine coverage and respective 95% confidence interval were estimated. Since the ECOS was based on complex sampling design, in order to have representative results at mainland Portugal level, sample weights were used in data analysis. To analyse the evolution of influenza vaccine coverage a meta-regression was used. The results indicate an increasing trend for influenza vaccination among the study population, from 22.5% in 1998/99 to 63.6% in 2017/18. This increase was statistically significant. Continuous monitoring of influenza vaccine coverage using a stable observation instrument allows the detection of changes in the evolution of this indicator. This capacity could be useful in evaluating public health interventions promoting influenza vaccination.

_Introdução

A diabetes é uma doença crónica com elevada prevalência em Portugal (1). Estimativas de um estudo de base populacional (PREVADIAB) indicam que em 2009 a prevalência era de 11,7% na população com 20 a 79 anos (2). Em 2015, dados do Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico (INSEF), indicavam que na população com 25 a 74 anos, a prevalência de diabetes era de 9,8% (3). A tendência crescente da incidência revela o elevado risco desta doença (4), tendo-se estimado que em 2017 a incidência de diabetes *mellitus* tipo 2 na população portuguesa com 25 ou mais anos de idade era de 700,9 casos por 10⁵ (5). Dada a elevada morbidade e mortalidade associada a diabetes, o programa nacional para a diabetes é um dos 12 programas prioritários do nosso país, tendo como objetivos reduzir a incidência da doença; aumentar o diagnóstico precoce e reduzir a mortalidade prematura associada à diabetes (6).

A diabetes é ainda um fator de risco para hospitalização, cuidados intensivos e mortalidade pós-infeção por gripe (7). De acordo com uma revisão sistemática e meta-análise, ter diabetes aumenta o risco de hospitalização pós infeção por gripe em 137% e o risco de internamento em cuidados intensivos ou morte em 23% (7). Assim, para este grupo de indivíduos, a vacinação anual contra a gripe é recomendada (8), tendo sido estabelecido como meta de vacinação a cobertura de 75% (9). Em Portugal, desde 2001 que este grupo de indivíduos passou a fazer parte do grupo alvo da vacina contra a gripe (10).

Desde a época 2017/18, a vacina contra a gripe passou a ser disponibilizada de forma gratuita aos doentes com diabetes no Serviço Nacional de Saúde (11). Esta estratégia pretendia aumentar a cobertura da vacina neste grupo populacional e consequentemente reduzir a morbidade associada a gripe.

Desde a época 1998/99 o DEP-INSA desenvolve anualmente um estudo transversal de prevalência para estimar a cobertura da vacina contra a gripe na população residente em Portugal. A monitorização anual da cobertura da vacina contra gripe, principalmente nos grupos populacionais para quais a vacina é recomendada, permite avaliar a evolução deste indicador para informar os decisores sobre o impacto das estratégias da vacinação adotadas a nível populacional.

_Objetivos

Descrever a evolução temporal da cobertura da vacina contra a gripe na população portuguesa com diabetes em 1998/99 a 2017/18.

_Métodos

O estudo da evolução temporal da cobertura da vacina antigripal na população com diabetes residente em Portugal continental, foi realizado com base em dados recolhidos no âmbito do Painel ECOS (Em Casa Observamos Saúde) entre 1999 a 2018 (12).

O painel ECOS é uma amostra aleatória de aproximadamente 1000 Unidades de Alojamento (UA), contactáveis por telefone fixo e/ou móvel, estratificada por região NUTS (Nomenclatura das Unidades Territoriais para Fins Estatísticos) II com alocação homogénea. Em cada época a recolha dos dados foi efetuada através da aplicação de um questionário estruturado. Em cada UA foi inquirido um elemento com 18 ou mais anos de idade que prestou informação sobre si próprio e sobre os restantes elementos do seu agregado familiar. Foram considerados todos os indivíduos com um diagnóstico de diabetes autoreportado.

Para cada época em análise foi estimada a cobertura da vacina antigripal e o respetivo intervalo de confiança a 95%. As estimativas foram obtidas com base na amostragem complexa recorrendo a pesos amostrais de modo a obter estimativas representativas a nível de Portugal continental.

A análise da evolução da taxa de cobertura pela vacina antigripal na população diabética foram utilizadas técnicas de meta-

regressão. Como variável dependente foi utilizado o *logit* da cobertura vacinal em cada época ($\text{logit}(CV) = \ln\left(\frac{CV}{1-CV}\right)$), e como variável independente a época de vacinação (entre a época 1998/99 e a época 2017/18) de forma a medir a tendência $\text{logit}(CV) = \beta_0 + \beta_1 \text{ época}$.

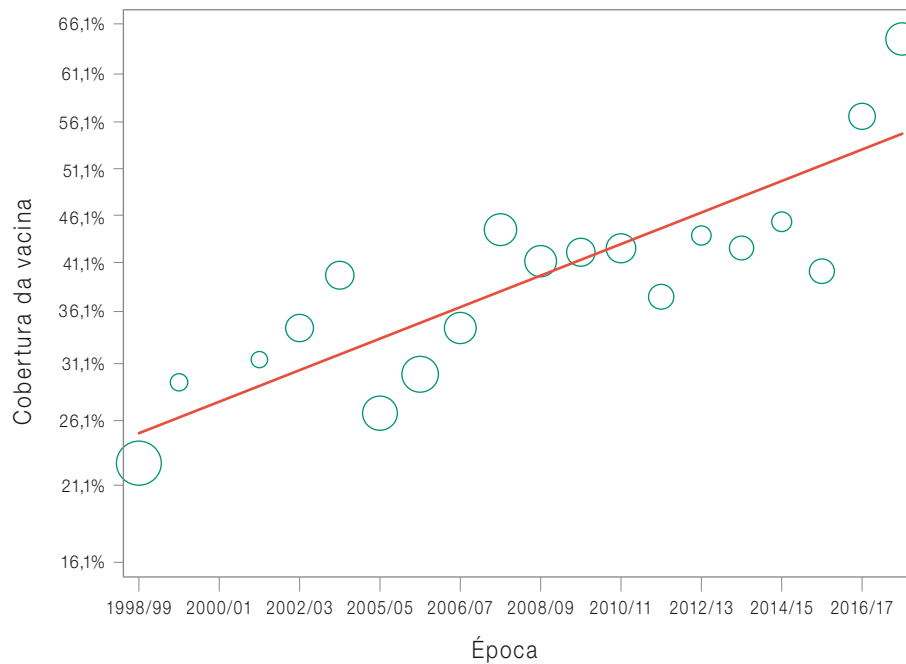
_Resultados

Os resultados indicam que desde 1998/99 existe uma tendência crescente da cobertura da população diabética pela vacina antigripal em Portugal. Em 1998/99 a cobertura da vacina antigripal foi de 22,5% (Tabela 1). Na época 2016/17, antes de introdução de gratuidade da vacina antigripal para a população diabética, a cobertura atingiu um valor de 55,9%. Coincidentemente com a introdução da gratuidade da vacina na época 2017/18 o valor de cobertura aumentou para 63,6%. Os resultados do modelo (Figura 1) indicam que houve um aumento anual da cobertura da vacina antigripal, com significado estatístico, de 7.0%, [4.7, 9.4] por ano.

Tabela 1: Estimativas de cobertura da vacina antigripal sazonal entre 1998/99 e 2017/18 para a população diabética residente em Portugal Continental.

Época	n	VAG	IC95%
1998/1999	92	22,5	(18,5; 28,7)
1999/2000	157	29,6	(18,2; 40,9)
2001/2002	175	31,6	(19,0; 44,2)
2002/2003	154	34,5	(26,1; 43,0)
2003/2004	153	39,6	(30,7; 49,3)
2004/2005	214	27,0	(21,2; 33,7)
2005/2006	227	30,3	(24,3; 37,0)
2006/2007	151	34,5	(27,1; 42,8)
2007/2008	153	44,2	(36,0; 52,8)
2008/2009	150	41,0	(32,9; 49,7)
2009/2010	185	41,9	(32,8; 51,5)
2010/2011	196	42,3	(33,5; 51,6)
2011/2012	183	37,5	(27,9; 48,2)
2012/2013	184	43,6	(30,4; 57,8)
2013/2014	181	42,3	(31,7; 53,8)
2014/2015	179	45,0	(31,9; 58,8)
2015/2016	195	40,0	(29,9; 50,9)
2016/2017	157	55,9	(45,5; 65,8)
2017/2018	278	63,6	(55,5; 71,0)

Figura 1: ▾ Variação da cobertura de VAG em escala *logit* e estimativa da tendência anual obtida por meta-regressão em 1998/99 – 2017/18 para a população diabética residente em Portugal Continental.



Legenda: o tamanho dos círculos é inversamente proporcional a variância das estimativas da cobertura de vacina em cada a época.

_Discussão

A monitorização da cobertura da vacina antigripal indicou uma tendência positiva e crescente da cobertura da vacina nos doentes com diabetes. Em parte, estes resultados podem dever-se à gestão próxima da doença; com grande acompanhamento dos profissionais de saúde em cuidados primários e das ações de vigilância e participação em programas de prevenção da doença e promoção da saúde preconizadas pelo programa nacional de diabetes (6). Contudo, outros fatores poderão concorrer para este efeito, nomeadamente o reforço da divulgação das campanhas de vacinação pelo que é necessário prosseguir com a monitorização da cobertura da vacina.

De referir ainda que os dados disponíveis mais recentes, indicam que a cobertura da vacina antigripal na população com diabetes foi de aproximadamente 64%. Este valor é mais elevado do que a cobertura na população com uma doença crónica (diabetes incluída), de 41,0% (10) estimada para 2017/18. Este resultado está alinhado com um estudo sobre fatores

associados a vacinação antigripal anual e regular, que identificou que na população portuguesa, a cobertura da vacina antigripal era mais elevada em doentes com diabetes e que estava significativamente associada a vacinação anual e repetida contra gripe (13). A elevada cobertura da vacina antigripal nos diabéticos é também observada em outros países, tendo-se estimado que em 2015, em Espanha a mesma era de 65% (14) em 2010 e de 62% nos EUA (15).

_Conclusão

A monitorização da evolução da cobertura da vacina antigripal indicou uma tendência crescente e positiva da toma da vacina na população portuguesa com diabetes. A contínua monitorização deste indicador de saúde, permitirá não só observar tendências como permitirá quantificar o efeito da introdução da gratuitidade da vacina antigripal na cobertura vacinal de doentes de risco.

Referências bibliográficas:

- (1) OECD/EU (2018), Health at a Glance: Europe 2018: State of Health in the EU Cycle, OECD Publishing, Paris. https://doi.org/10.1787/health_glance_eur-2018-en
- (2) Gardete-Correia L, Boavida JM, Raposo JF et al., First diabetes prevalence study in Portugal: PREVADIAB study. *Diabet Med.* 2010; 27(8):879-81.
- (3) Barreto, M., Kislaya, I., Gaio, V., Rodrigues, A.P., Santos, A.J., Namorado, S., Antunes, L., Gil, A.P., Boavida, J.M., Tavares Ribeiro, R., Silva, A.C., Vargas, P., Prokopenko, T., Nunes, B., Matias Dias, C. (2018) Prevalence, awareness, treatment and control of diabetes in Portugal: Results from the First National Health Examination Survey (INSEF 2015). *Diabetes research and clinical practice.* Vol 140, June 2018, pp 271-278, <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.03.052>.
- (4) Sousa-Uva, M, Antunes, L., Nunes, B., Rodrigues, A. P., Simões, J. A., Ribeiro, R.T., Boavida, J. M., Matias-Dias, C. Trends in diabetes incidence from 1992 to 2015 and projections for 2024: A Portuguese General Practitioner's Network study. *Primary Care Diabetes* 2016; 10(5) 329-333
- (5) Rodrigues AP, Batista I, Silva S. Médicos-Sentinela: o que se fez em 2017. Instituto Nacional de Saúde, Lisboa 2019. Disponível em: http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/5006/5/Medicos-Sentinela_2016.pdf
- (6) Direção-Geral da Saúde. Microsite do Programa Nacional para a Diabetes. [Citado em 16/10/2019]. www.dgs.pt/programa-nacional-para-a-diabetes.aspx
- (7) Coleman BL, Fadel SA, Fitzpatrick T, Thomas SM. Risk factors for serious outcomes associated with influenza illness in high- versus low- and middle-income countries: Systematic literature review and meta-analysis. *Influenza Other Respi Viruses.* 2018;12(1):22-9.
- (8) Vaccines against influenza WHO position paper – November 2012. *Wkly Epidemiol Rec.* 2012 Nov 23;87(47):461-76
- (9) Machado, A., Kislaya, I., Santos, A.J, Nunes, B. Vacinação antigripal da população portuguesa: 18 anos de evolução da cobertura e os fatores associados a toma da vacina. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. IP. <http://hdl.handle.net/10400.18/5392>
- (10) Assunção, R., 2017. Children exposure to multiple mycotoxins through food consumption: a holistic approach for risk assessment. Tese Doutoramento, Universidade de Évora. <http://rdpc.uevora.pt/handle/10174/21305>
- (11) Direção Geral de Saúde. Orientação da Direção-Geral da Saúde 018/2017. Vacina contra a gripe. *Época 2017/2018.* 2017; :1-6.
- (12) Machado, A., Torres, AR, Kislaya, I., Neto, M. Vacinação antigripal da população portuguesa nas épocas 2016/2017 e 2017/2018: estudo na amostra ECOS. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. IP.
- (13) Machado, A., Kislaya, I., Santos A. J. , Gaio, V., Gil, A.P., Barreto, M., Namorado, S., Antunes, L., Dias, C.M., Nunes, B. Factors associated to repeated influenza vaccination in the Portuguese adults with chronic conditions. *Vaccine*, 2018 Aug 23;36(35):5265-5272 doi.org: 10.1016/j.vaccine.2018.07.041
- (14) Jimenez-Trujillo, I, López de Andrés, A, Hernández-Barrera, V., Carrasco-Garrido, P., Santos-Sancho, J.M., Jiménez-García, R Influenza vaccination coverage rates among diabetes sufferers, predictors of adherence and time trends from 2003 to 2010 in Spain, *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 2013; 9(6): 1326-1332, doi: 10.4161/hv.23926
- (15) Villarroel, M.A., Vahratian, A. Vaccination Coverage Among Adults With Diagnosed Diabetes: United States, 2015. *NCHS Data Brief No. 265* December 2016. Available from <https://www.cdc.gov/nchs/products/databriefs/db265.htm>

ficha técnica

_Título: Boletim Epidemiológico Observações

_Periodicidade: Quadrimestral

_ISSN: 0874-2928, 2182-8873 (em linha)

_Numeração: 2ª série

Volume 8, número especial 11, 2019
Políticas de Saúde

_Diretor

Fernando de **Almeida**, Presidente do Conselho Diretivo do INSA

_Editores

Carlos **Matias Dias**, Departamento de Epidemiologia

Elvira **Silvestre**, Biblioteca da Saúde

_Conselho Editorial Científico

Carlos **Matias Dias**, Departamento de Epidemiologia

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

Jorge **Machado**, Departamento de Doenças Infecciosas

Manuela **Cano**, Departamento de Saúde Ambiental

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

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

Peter **Jordan**, Conselho Científico do INSA

_Composição e paginação Francisco **Tellechea**, Biblioteca da Saúde

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

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2020.

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