



# Observações

Boletim Epidemiológico

editorial\_

## \_Saúde Pública: da observação à intervenção organizada

*"Public health by its very definition is the concern and the responsibility of the public itself. In a sense, the public health organization has a relationship to the public similar to that of a company to its stockholders."*

RB Freeman & EM Holmes (1960)

Comemora o Boletim Epidemiológico "Observações" o 3º aniversário da sua 2ª série. Aniversário inclusivo que distinguiu os parceiros externos com um amável e muito honroso convite para a redação do presente editorial.

Nos idos de 1920, C.E.A. Winslow definiu de forma magistral, porque compreensiva e espantosamente atual, Saúde Pública\*. A sua missão consiste no comprometimento societal em assegurar, a todos os indivíduos, as condições necessárias à realização saudável do seu património genético (*birthright of health*).

Se a saúde do público é o objetivo da Saúde Pública, o público é o seu objeto. Tal resulta, não só, da natureza pública dos serviços operativos de saúde pública, mas também do padrão epidemiológico prevalente, caracterizado pelas doenças de evolução prolongada, associadas a estilos de vida e a riscos "auto-impostos".

Porque os dados em Saúde Pública têm como fonte a população e porque o sistema de Saúde Pública visa promover a saúde do público, a comunicação dos achados (e recomendações) não só aos decisores políticos e à comunidade científica, mas também ao público em geral, é da maior relevância. É essa a essência do "public health reporting" que teve, nos seus primórdios, o célebre relatório Chadwick (1842) ou o seu contemporâneo relatório Shattuck de 1850 ("Plano geral para a promoção da saúde pública e individual"

do Estado do Massachusetts) e, mais recentemente, o icónico relatório do *Surgeon general* dos EUA (1964) sobre tabaco e saúde.

[→ continua](#)

nesse número\_

### Editorial

**Saúde Pública: da observação à intervenção organizada**

Lúcio Meneses de Almeida

p 01

### Artigos Breves

#### \_Determinantes de saúde

**1\_ Prevalência da violência na população portuguesa com 60+ anos**

Inna Kislaya, Ana João Santos, Ana Paula Gil

p 03

#### \_Saúde Ambiental

**2\_ Monitorização biológica da exposição ao benzeno**

Hermínia Pinhal, Anabela Oliveira

p 05

#### \_Alimentação e Nutrição

**3\_ Identificação das necessidades dos utilizadores de informação microbiológica da cadeia alimentar**

Silvia Viegas, Roberto Brazão, M. Graça Dias, Luísa Oliveira

p 08

**4\_ Perfil lipídico de frutos secos e sementes**

Tânia Gonçalves Albuquerque, Ana Sanches Silva, M. Beatriz Oliveira, Helena S. Costa

p 11

#### \_Doenças Genéticas

**5\_ Variação genética associada ao nível de hemólise crónica na drepanocitose: um estudo longitudinal**

Andreia Coelho, Alexandra Dias, Anabela Morais, Baltazar Nunes, Emanuel Ferreira, Isabel Picanço, Paula Faustino, João Lavinha

p 13

**6\_ Fibrose quística: diagnóstico laboratorial pela prova do suor num grupo populacional**

Alcina Costa, Lídia Batalha, Suza Almeida, Arminda Vileares, Paula Pacheco, Conceição Silva, Armandina Miranda

p 17

#### \_Doenças Infecciosas

**7\_ Vigilância da gripe em Portugal no inverno 2013/2014**

Paula Cristóvão, Pedro Pechirra, Patrícia Conde, Ana Carina Maia, Carla Roque, Dina Carpinteiro, Daniel Ataíde Sampaio, Baltazar Nunes, Raquel Guiomar

p 20

**8\_ Resistência primária de *Helicobacter pylori* em doentes sintomáticos de dois hospitais da região de Lisboa**

Mónica Oleastro, Cristina Furtado, Andrea Santos, João Benoliel, Paulo Ratilal, Manuel Liberato

p 25

**9\_ Hidatidose quística humana: análise retrospectiva de casos diagnosticados e em monitorização entre 2008 e 2013**

Tânia Reis, Anabela Vileares, Idalina Ferreira, Susana Martins, Cristina Furtado, Maria João Gargaté

p 30



A epidemiologia – método do conhecimento instrumental à prática da Saúde Pública – encerra 3 dimensões fundamentais: *cálculo*, *comunicação* e *intervenção* (Koplan *et al.*, 1999 – *ob. cit.*). John Snow, pioneiro da epidemiologia de campo no século XIX, ou Richard Doll e A. Bradford-Hill, que estabeleceram, em 1952, a associação entre tabagismo e cancro do pulmão, são exemplos da aplicação do conhecimento científico-epidemiológico no controlo de problemas de saúde. Numa palavra, conhecimento traduzido em ação consequente.

A Saúde Pública é, acima de tudo, uma prática e não um repositório de conhecimento estéril. A finalidade última do conhecimento consiste em concorrer para avanços sociais e civilizacionais, sem prejuízo de ser, só por si, um catalisador de mudança – ao promover sucessivas (re)definições do socialmente inaceitável e, ao fazê-lo, ao obrigar a uma intervenção organizada.

Naturalmente que, como ação que é, mobilizadora de recursos e impactando indivíduos e populações, a Saúde Pública deve ser baseada na dupla evidência de efetividade e de eficiência. Nessa medida, a sinergia, individual ou institucional, entre os seus profissionais e a comunidade académica e científica é, mais do que salutar, uma mais-valia para uma prática que se pretende traduzida em resultados.

Reflitamos sobre Ribeiro Sanches, no seu tratado “*Da conservação da saúde dos povos*” (1756): “*Comparou Hipócrates a arte Médica à arte de navegar; e quem seria tão temerário, e tão negligente da sua vida, que se entregasse à disposição de um Piloto, que jamais tivesse navegado, ainda que fosse o maior Astrónomo conhecido! Seria logo na verdade (...) mui útil para os Povos, que a Medicina se aprendesse à imitação da arte Náutica: nesta a teoria se aprende no mesmo tempo que se adquire a prática*”.

Não obstante relativas a um corpo profissional, estas palavras são replicáveis à Saúde Pública enquanto prática alicerçada no conhecimento multidisciplinar, não restrita a uma profissão ou mesmo a um setor profissional: o piloto corresponde ao profissional de Saúde Pública e o astrónomo ao epidemiologista “puro” (*researcher*). Mas dificilmente o piloto alcança o destino pretendido se não dispuser dos conhecimentos necessários para se orientar no alto mar (*investigator*): de outra forma, apenas poderá navegar “à vista”...

O desafio que se impõe à comunidade científica extravasa o domínio da investigação aplicada ou, até, da investigação *translacional* esta última não primariamente aplicada mas aplicável, porque passível de ser *traduzida* (“translacionada”) em ganhos sociais e em saúde. Consiste, antes, em incluir o público no conjunto dos atores que definem a agenda investigacional, garantindo o ajustamento desta aos problemas de saúde percecionados e aos seus reais determinantes: é a investigação participativa de base comunitária (“*community-based participatory research*”).

O Boletim Epidemiológico “Observações” tem como destinatários-alvo profissionais, investigadores e decisores da área da Saúde Pública. Mas seguramente que não se limita a estes, porque a ciência é património de todos e porque todos somos atores e decisores individuais em saúde.

Parabéns à equipa editorial do “Observações” por este aniversário e os augúrios da continuação dos maiores sucessos, em prol da disseminação do conhecimento em Saúde Pública e, no limite, em prol da cidadania em saúde.

\* “*The science and art of preventing disease, prolonging life and promoting physical health and efficiency through organized community efforts for the sanitation of the environment, the control of communicable infections, the education of the individual in personal hygiene, the organization of medical and nursing services for the early diagnosis and preventive treatment of disease, and the development of the social machinery which will ensure to every individual a standard of living adequate for the maintenance of health; organizing these benefits in such a fashion as to enable every citizen to realize his birthright of health and longevity*”.

Lúcio Meneses de Almeida

(Médico especialista em Saúde Pública, Assessor do Conselho Diretivo da ARS Centro e Membro da Direção do Colégio da Especialidade de Saúde Pública da Ordem dos Médicos)

#### Bibliografia:

- Freeman RB, Holmes EM. Administration of public health services. Philadelphia: WB Saunders Company, 1960.
- Holmes L. Basics of public health core competencies. Sudbury: Jones and Bartlett Publishers, 2009.
- Horowitz CR, Robinson M, Seifer S. Community-based participatory research from the margin to the mainstream: are researchers prepared? *Circulation*. 2009;119:2633-2642.
- Koplan JP, Thacker SB, Lezin NA. Epidemiology in the 21st century: calculation, communication and intervention. *Am J Public Health*. 1999; 89(8): 1153-1155.
- Turnock BJ. Public health: what it is and how it works. Boston: Jones and Bartlett Publishers, 2009.



## Prevalência da violência na população portuguesa com 60+ anos

Irina Kislaya, Ana João Santos, Ana Paula Gil

ana.gil@insa.min-saude.pt

Departamento de Epidemiologia, INSA.

### Introdução

O fenómeno da violência é hoje reconhecido como um problema de saúde pública e de violação dos direitos humanos (1).

Na declaração de Toronto de 2002, a Organização Mundial da Saúde define violência e maus-tratos a pessoas idosas como “qualquer ato isolado ou repetido, ou a ausência de ação apropriada, que ocorre em qualquer relacionamento, em que haja uma expectativa de confiança, e que cause dano, ou incómodo a uma pessoa idosa. Estes atos podem ser de vários tipos: físico, psicológico/emocional, sexual, financeiro ou, simplesmente, refletir atos de negligência intencional, ou por omissão” (2). A definição de violência tem subjacente um ato ou conduta, variável de acordo com a sua natureza e tipo, uma relação interpessoal de confiança e uma consequência que provoca um efeito, traduzido num dano físico e/ou mental.

O conhecimento sobre a dimensão do problema, as condições de ocorrência e os fatores associados à violência constitui um passo importante para a definição de uma estratégia de intervenção pública que vise prevenir e combater a violência e assegurar um envelhecimento digno e saudável.

### Objetivos

O estudo desenvolvido no âmbito do Projeto “Envelhecimento e violência”<sup>1</sup> teve como principal objetivo estimar a proporção de pessoas com 60 ou mais anos (60+ anos) na população portuguesa, que foi sujeita a alguma forma de violência em contexto familiar. Os resultados apresentados correspondem à estimativa da prevalência dos cinco tipos de violência: financeira, psicológica, física, sexual e negligência (3). Incluem-se igualmente os dados referentes aos

agressores indicados pelas vítimas e a estimativa da apresentação de queixa ou denúncia.

### Material e métodos

O estudo desenvolvido foi do tipo transversal descritivo. Os resultados têm por base uma amostra aleatória, estratificada por 7 regiões (Portugal Continental e Regiões Autónomas) com alocação homogénea, que contemplou 1123 pessoas com 60+ anos residentes em domicílios particulares em Portugal (3).

A recolha de dados foi realizada através de um inquérito telefónico, tendo-se obtido uma taxa de resposta de 74,03%.

Todas as estimativas apresentadas encontram-se ponderadas para o desenho amostral e para distribuição da população portuguesa com 60+ anos de idade, por sexo e grupo etário.

### Resultados

Estimou-se que, entre outubro de 2011 e outubro de 2012, 12,3% das pessoas com 60+ anos em Portugal (123 em cada 1000), foi vítima de alguma forma de violência (física, psicológica, financeira, sexual ou negligência), por parte de um familiar, amigo, vizinho ou profissional remunerado. Extrapolando a taxa obtida para o total da população com 60+ anos, residente em domicílios particulares, (N=2556319) (4) verificou-se que cerca de 314 mil pessoas vivenciaram alguma das condutas de violência avaliadas (IC 95%: 252406 a 388786).

Dos cinco tipos, a violência financeira e a psicológica foram as mais frequentes, cada uma afetando 6,3% da população em análise.

Registou-se que 2,3% da população com 60+ anos (cerca de 58 mil pessoas) foi vítima de, pelo menos, uma conduta de violência física. A negligência e a violência sexual foram os tipos de violência menos frequentes, tendo-se estimado para os mesmos taxas de prevalência de 0,4% e 0,2%, respetivamente (Tabela 1).

Dos indivíduos que foram vítimas de violência, a maioria (72,1%) foi alvo de uma única conduta enquanto 27,9% referiu ter experienciado mais do que uma conduta de violência.

1 O projeto Envelhecimento e Violência (PDTC/CS-SOC/ 110311/2009), financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia, tem como entidade proponente o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP (Departamento de Epidemiologia) e como entidades parceiras: CESNOVA da Faculdade Ciências Sociais e Humanas da UNL (CESNOVA/FCSH); Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, IP (INMLCF, IP); Associação Portuguesa de Apoio à Vítima (APAV); Instituto da Segurança Social, IP (ISS, IP) e Guarda Nacional Republicana (GNR).

Tabela 1: ↓ Estimativas de prevalência da violência.

Tipo de violência	Estimativas na população			
	$\hat{p}$	IC 95%	$\hat{N}$	IC 95%
Financeira	6,3	[4,5; 8,6]	160042	[115713; 219823]
Física	2,3	[1,4; 3,8]	57767	[34620; 95802]
Psicológica	6,3	[4,7; 8,5]	161411	[118925; 217718]
Negligência	0,4	[0,1; 1,4]	9822	[2619; 36558]
Sexual	0,2	[0,03; 1,1]	4838	[854; 27188]
Global	12,3	[9,9; 15,2]	314291	[252406; 388786]

Fonte: (3) Envelhecimento e Violência, p.38.

### Identificação dos agressores

No que diz respeito à identidade dos agressores, o estudo revelou que a violência na sociedade portuguesa afeta transversalmente a família nuclear e alargada. Diferentes agressores foram identificados de acordo com os tipos de violência. Na violência financeira os principais agressores foram os descendentes (26,1%), onde se incluem filhos/enteados e netos, seguidos dos outros familiares (25,9%) (irmãos, cunhados, sobrinhos, entre outros). São também os outros familiares (37,4%) os principais agressores reportados pelas vítimas de violência psicológica, seguidos dos cônjuges ou companheiros (atuais ou ex) (29,6%). Mais de metade das condutas de violência física foram da responsabilidade dos cônjuges ou companheiros (56,4%).

Uma percentagem elevada (13,5%) de vítimas recusou identificar o agressor, o que pode indicar sentimentos de inibição para a denúncia.

### Apresentação de queixa ou denúncia

Estimou-se que cerca de 64,9% (IC 95%: 52,8% a 75,4%) das vítimas de violência não falou, nem contactou ou apresentou queixa sobre a situação vivida. Apenas 35,1% (IC 95%: 24,6% a 47,2%) procurou ajuda, apresentando queixa junto das forças de segurança (20,7%) ou denunciando a situação à rede social informal (familiares, amigos) (7%) ou a profissionais de saúde (4,5%).

### Conclusões

No que diz respeito à expressão do fenómeno da violência na população portuguesa, a estimativa obtida (12,3%) é mais elevada

quando comparada com outros estudos internacionais de prevalência, com metodologias de medição muito similares aos utilizados no presente estudo, que variou entre 2,2% para indivíduos com 65+ anos residentes na Irlanda (5) e 2,6% na Grã-Bretanha (6).

O estudo revelou que a violência financeira e psicológica foram os tipos mais comuns na população com 60+ anos, perpetrados sobretudo pela família nuclear e alargada. O problema mantém-se oculto com apenas um terço das vítimas a denunciar ou a apresentar queixa, o que significa que os laços familiares, a proteção da família e o medo de represálias são razões fortes para silenciar as vítimas de violência e a denúncia constituiu ainda um tabu para muitas vítimas.

Nesse sentido, é importante dar visibilidade social ao problema, que para além de constituir um problema social, com impactos na saúde física e mental das vítimas, é entendido também como uma violação grave dos direitos do Homem. Neste contexto torna-se premente a reflexão sobre um conjunto de recomendações que contribuam para o combate e prevenção deste problema.

### Referências bibliográficas:

- (1) World Health Organization. World report on violence and health. Geneva: WHO, 2002. [LINK](#)
- (2) World Health Organization. Toronto declaration on equity in health La declaración de toronto sobre la equidad en salud. Rev Panam. Salud Púb. 2002b;12(6):465. [LINK](#)
- (3) Gil AP, Santos AJ, Kislalya I, Nicolau R (eds). Envelhecimento e Violência. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2014. [LINK](#)
- (4) Instituto Nacional de Estatística. Censos 2011. Lisboa: INE, 2011. [LINK](#)
- (5) Naughton C, Drennan J, Treacy MP, et al. Elder abuse and neglect in Ireland: results from a national prevalence survey. Age & Ageing, 2010;41(1):98-103. [LINK](#)
- (6) O'Keeffe M, Hills A, Doyle M, et al. UK study of abuse and neglect of older people: prevalence survey report. London: National Centre for Social Research, 2007. [LINK](#)



## Monitorização biológica da exposição ao benzeno

Hermínia Pinhal, Anabela Oliveira

herminia.pinhall@insa.min-saude.pt

Laboratório de Toxicologia Ambiental e Ocupacional. Unidade de Ar e Saúde Ocupacional. Departamento de Saúde Ambiental, INSA.

### Introdução

O benzeno é um composto aromático presente no ambiente e largamente usado na indústria, é maioritariamente absorvido por inalação e, na forma líquida, também através da pele. O benzeno é reconhecido como causa de cancro, tendo sido classificado pela Agência Internacional para Pesquisa sobre o Cancro (IARC) como carcinogénico para os seres humanos (Grupo 1) (1), estando a exposição crónica ao referido agente associada a anemias, leucemias, especialmente à leucemia mieloide aguda.

Como o benzeno ocorre naturalmente no petróleo bruto em níveis até 4 g/l, atividades tais como processamento de produtos de petróleo, coque de carvão, produção de tolueno, xileno e outros compostos aromáticos, apresentam exposição ao mesmo (2).

Após a absorção, o benzeno é oxidado principalmente no fígado, por ação do complexo enzimático citocromo P450.

Cerca de 80% do benzeno absorvido é metabolizado, ao nível hepático e medular em óxido de benzeno, um dos metabolitos que provavelmente é responsável pela toxicidade deste agente. O óxido de benzeno dá origem a diversos metabolitos que são eliminados na urina designadamente o fenol (30-80%), a hidroquinona (10%) e o catecol (1,6%).

O óxido de benzeno pode também ser conjugado com a glutatióna, levando à formação do ácido S-fenilmercaptúrico. A terceira via metabólica origina a formação do ácido trans, trans-mucónico por abertura do ciclo (3) que permite a deteção de exposições a baixas concentrações de benzeno e é produto do aldeído trans,trans-mucónico, metabolito altamente reativo e ao qual se tem atribuído a gênese da leucemia e os efeitos mielotóxicos.

A American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) e o Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS) recomendam a monitorização biológica da exposição ao benzeno através da determinação do indicador biológico de exposição, o ácido trans,trans-mucónico urinário.

Apesar do ácido trans,trans-mucónico urinário ser um indicador de exposição ao benzeno, existem diversos fatores que, pelo facto de interferirem com o metabolismo do benzeno, podem levar a dificuldades na interpretação dos resultados. Substâncias como o etanol e o sorbitol podem induzir o metabolismo enquanto outras, tais como o tolueno podem inibir a transformação do benzeno (3).

A capacidade de conversão do benzeno em ácido trans,trans-mucónico depende da atividade do complexo enzimático Citocromo P450, geneticamente determinada, e cuja variabilidade inter-individual é significativa.

De acordo com o INRS, as concentrações de ácido trans,trans-mucónico são geralmente inferiores a 250 µg/g creatinina na população geral (3).

De facto, a inalação de fumo de tabaco, fonte de benzeno, eleva os níveis de fundo de ácido trans,trans-mucónico, pelo que a ACGIH limita nestes casos a monitorização biológica a trabalhadores com exposições ambientais a benzeno superiores a 0,25 ppm (concentração média para 8 horas) (3).

Em Portugal o Decreto-Lei nº 301/2000 regula a proteção dos trabalhadores contra os riscos ligados à exposição a agentes cancerígenos ou mutagénicos durante o trabalho. O Artigo 12º prevê que a vigilância biológica destes trabalhadores seja efetuada sempre que necessário, no entanto não estão definidos valores limite biológicos. Assim, a interpretação dos resultados da monitorização biológica da exposição profissional ao benzeno é efetuada tomando por base os índices biológicos de exposição (IBE) estabelecidos pela ACGIH e que, no caso do ácido trans,trans mucónico urinário, é de 500 µg/g creatinina.

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a exposição profissional ao benzeno através da monitorização biológica dos trabalhadores de um Complexo Industrial, cuja atividade principal

artigos breves\_ n. 2

é a produção de derivados de petróleo, usando como indicador biológico de exposição o ácido trans,trans-mucónico urinário.

**\_Material e métodos**

Entre 2003 e 2013 a Unidade de Ar e Saúde Ocupacional do INSA efetuou determinações da concentração de ácido trans,trans-mucónico urinário de trabalhadores de um Complexo Industrial, nos vários setores de atividade.

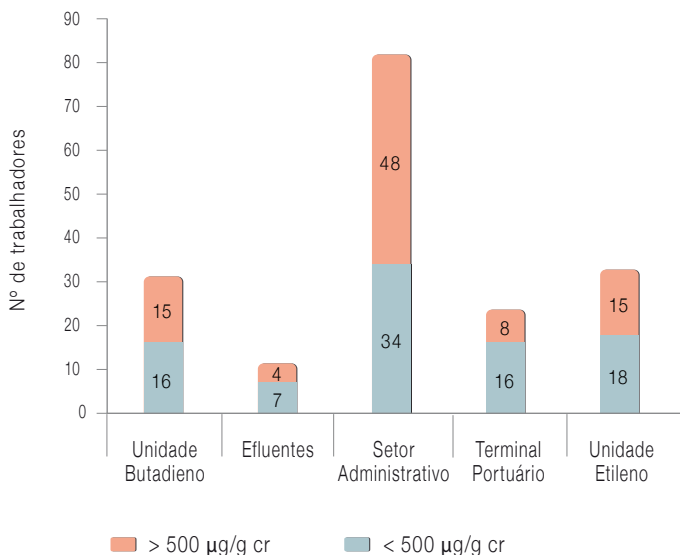
Neste período foram colhidas 461 amostras de urina de trabalhadores do Complexo. As amostras foram colhidas no local de trabalho e corresponderam a uma micção completa, recolhida no final do turno de trabalho. Foram transportadas em mala refrigerada para o laboratório, e armazenadas no frigorífico até análise.

O ácido trans,trans-mucónico urinário foi analisado pelo método de *Ducos et al.* (4) modificado, usando a cromatografia líquida de alta resolução.

A análise do teor de creatinina nas amostras de urina foi realizada, utilizando um kit colorimétrico da reação cinética Jaffé tamponada sem desproteinização.

A concentração de ácido trans,trans-mucónico é dependente da quantidade de urina produzida, sendo por isso expressa relativamente à concentração de creatinina.

**Gráfico 1:** Concentrações médias individuais do ácido trans,trans-mucónico nos trabalhadores avaliados.



**\_Resultados e Discussão**

Foram estudados 182 trabalhadores dos vários setores de atividade do Complexo, distribuídos do seguinte modo: Unidade Butadieno - 32; setor Efluentes - 11; Unidade Etileno - 32; Terminal Portuário - 25 e no setor Administrativo - 82.

Verificou-se que nos setores Butadieno e Etileno a concentração média individual obtida de ácido trans,trans-mucónico urinário excedeu o índice biológico de exposição de 500 µg/g creatinina em 15 trabalhadores, no setor Efluentes o referido índice biológico foi excedido para 4 dos trabalhadores e no Terminal Portuário para 8 dos trabalhadores estudados (*Gráfico 1*). Verifica-se ainda que, em mais de metade dos trabalhadores estudados no Setor Administrativo, as concentrações médias individuais de ácido trans,trans-mucónico urinário excederam o índice biológico de exposição de 500 µg/g creatinina.

Apresentam-se as medianas, percentil 25 (P25) e percentil 75 (P75) das concentrações de ácido trans,trans-mucónico urinário nos postos de trabalho estudados (*Tabela 1*).

No global, verifica-se que as medianas das concentrações de ácido trans,trans-mucónico urinário apresentadas excedem o índice biológico de exposição de 500 µg/g creatinina apenas no Setor Administrativo (*Gráfico 2*).

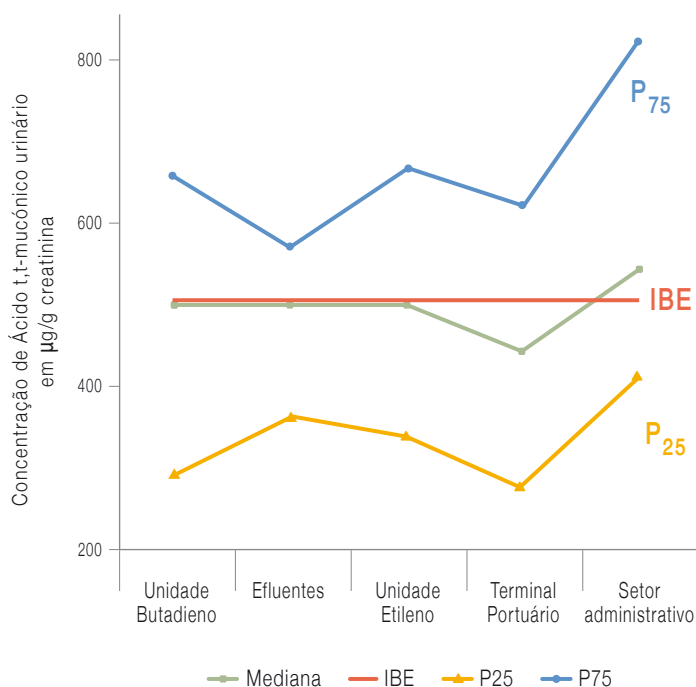
**Tabela 1:** Medianas, P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub> da concentração de ácido trans,trans-mucónico urinário nos postos de trabalho estudados.

Postos de Trabalho	Concentração de Ácido trans,trans-mucónico urinário (µg/g creatinina)	
	Mediana	P <sub>25</sub> - P <sub>75</sub>
Unidade Butadieno	494	289 - 651
Efluentes	494	357 - 570
Unidade Etileno	493	327 - 662
Terminal Portuário	438	276 - 615
Setor administrativo	539	407 - 815

artigos breves\_ n. 2

Nos restantes setores estudados a mediana das concentrações de ácido trans,trans-mucónico urinário é ligeiramente inferior ao IBE com exceção do Terminal Portuário onde a mediana das concentrações foi mais baixa.

Gráfico 2: **Medianas, percentil 25 (P<sub>25</sub>) e percentil 75 (P<sub>75</sub>) das concentrações de ácido trans,trans-mucónico urinário nos postos de trabalho estudados e IBE.**



Uma vez que em todos os postos de trabalho de estudados, aproximadamente metade dos trabalhadores apresentam uma concentração média individual de ácido trans,trans-mucónico urinário superior à concentração de referência de 500 µg/g creatinina, podemos concluir que a exposição a benzeno é excessiva.

No entanto, ao contrário do que seria expectável, é no Setor Administrativo que o número de trabalhadores, que apresentaram concentrações médias individuais de ácido trans,trans-mucónico urinário superior à concentração de referência, é mais elevado (48 num total de 82) sendo também mais elevada a mediana das concentrações obtidas para o indicador biológico de exposição no referido posto de trabalho.

Outros estudos publicados têm referido medianas de concentrações de ácido trans,trans-mucónico urinário em trabalhadores da indústria petroquímica inferiores aos valores apresentados em atividades desempenhadas ao ar livre (68,48 µg/g creatinina) (5), embora outros refiram concentrações medianas mais elevadas nos diversos postos de trabalho de uma refinaria onde se manipula benzeno (620 µg/g creatinina) (6).

Os resultados apresentados indicam a necessidade de complementar a monitorização biológica com a determinação da concentração ambiental de benzeno no Setor Administrativo por forma a tentar identificar as fontes de contaminação no local onde não há manipulação de benzeno ou outros agentes químicos, bem como de manter a monitorização biológica de exposição ao benzeno por forma a proteger a saúde dos trabalhadores.

Referências bibliográficas:

- (1) International Agency for Research on Cancer. Summaries & evaluations: Benzene (Group 1). Lyon: IARC, 1987, p. 120 (Monographs on the Carcinogenicity of Chemical to Human; Suppl 7). [LINK](#)
- (2) International Programme on Chemical Safety. Benzene. Geneva: World Health Organization, 1993. (Environmental health criteria ; 150). [LINK](#)
- (3) Institut National de Recherche et de Sécurité pour la Prévention des Accidents du Travail et des Maladies Professionnelles. Benzène. In: Base de données BIOTOX. Guide biotoxicologique pour les médecins du travail. Inventaire des dosages biologiques disponibles pour la surveillance des sujets exposés à des produits chimiques. Paris : INRS, 2013. [LINK](#)
- (4) Ducos P, Gaudin R, Robert A, et al. Improvement in HPLC analysis of urinary trans, trans-muconic acid, a promising substitute for phenol in assessment of benzene exposure. Int Arch Occup Environ Health. 1990;62(7):529-34.
- (5) Carrieri M, Tranfo G, Pignini D, et al. Correlation between environmental and biological monitoring of exposure to benzene in petrochemical industry operators. Toxicol Lett. 2010;192(1):17-21
- (6) Isarita M, Siqueira MEPB. Trans,trans-muconic acid in urine samples collected in three periods from benzene handling workers in a Brazilian refinery. Rev. Bras. Cienc. Farm. 2004;40(2):197-202. [LINK](#)



## Identificação das necessidades dos utilizadores de informação microbiológica da cadeia alimentar

Silvia Viegas, Roberto Brazão, M. Graça Dias, Luísa Oliveira

silvia.viegas@insa.min-saude.pt

Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA.

### Introdução

A partilha e centralização de informação microbiológica entre os intervenientes da cadeia alimentar contribuirá para o aumento da informação nacional a nível de segurança alimentar e para a consequente criação ou otimização de métricas de segurança alimentar, com impacto na eficácia e eficiência dos sistemas produtivos, na prevenção de toxinfecções alimentares e na promoção da saúde.

### Objetivos

Identificação de necessidades e prioridades dos utilizadores de informação microbiológica na cadeia alimentar em Portugal.

### Material e Métodos

O INSA, estabeleceu uma parceria com a GS1 Portugal para desenvolver o programa *Portuguese Food Information Resource* (PortFIR) e implementar redes nacionais de partilha de conhecimento sobre nutrição e segurança alimentar. Foram assim criadas duas redes: a de Composição de Alimentos (RPCA) e a de Informação Microbiológica de Alimentos (RPIMA), que atuam através dos Grupos de Trabalho (GT) correspondentes.

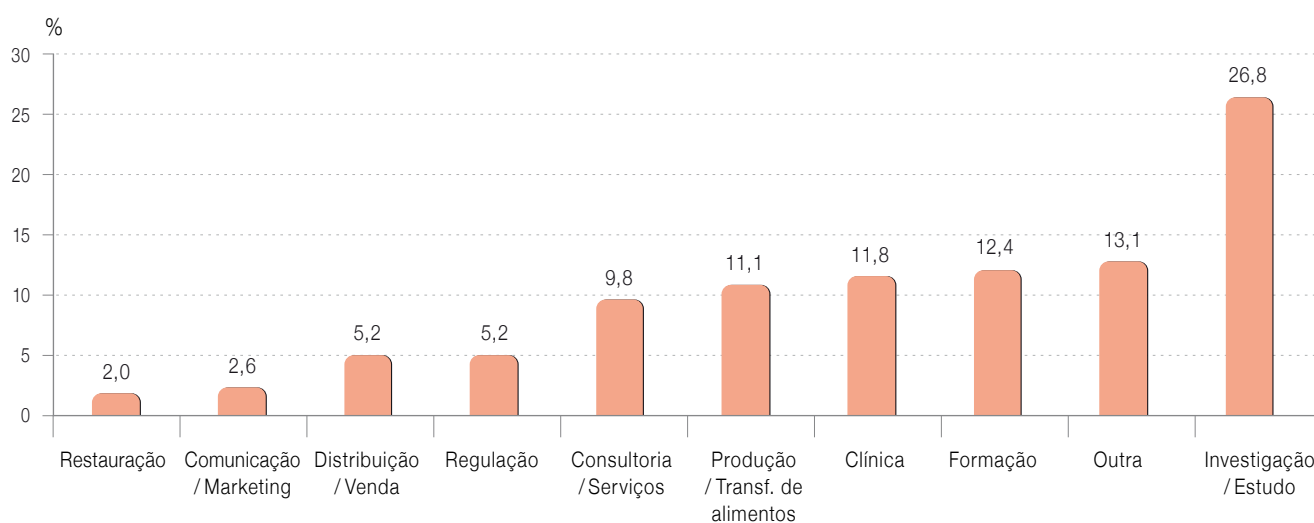
O GT Utilizadores (GTU) desenvolveu um questionário, implementado *on-line* entre fevereiro a março de 2013 usando o software *LimeSurvey*®, juntamente com um convite para os utilizadores de dados participarem, de modo a compilar a informação referente às suas necessidades e prioridades de informação. Os dados recolhidos foram tratados utilizando o *Microsoft Excel*®.

### Resultados

A atividade profissional dos 106 respondentes está representada no *Gráfico 1*.

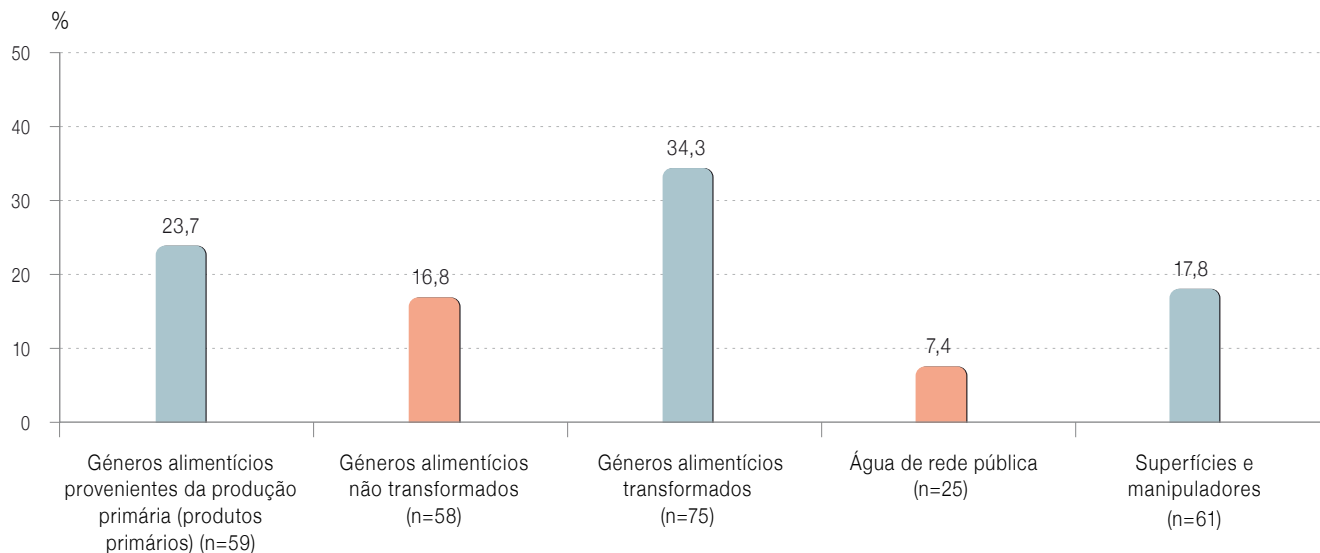
As áreas com mais necessidades de informação, relativamente aos produtos disponíveis para consumo humano, foram: “Géneros alimentícios transformados”, “Géneros alimentícios provenientes da produção primária” e “Superfícies e manipuladores” (*Gráfico 2*).

Gráfico 1: Atividade profissional dos respondentes.



artigos breves\_ n. 3

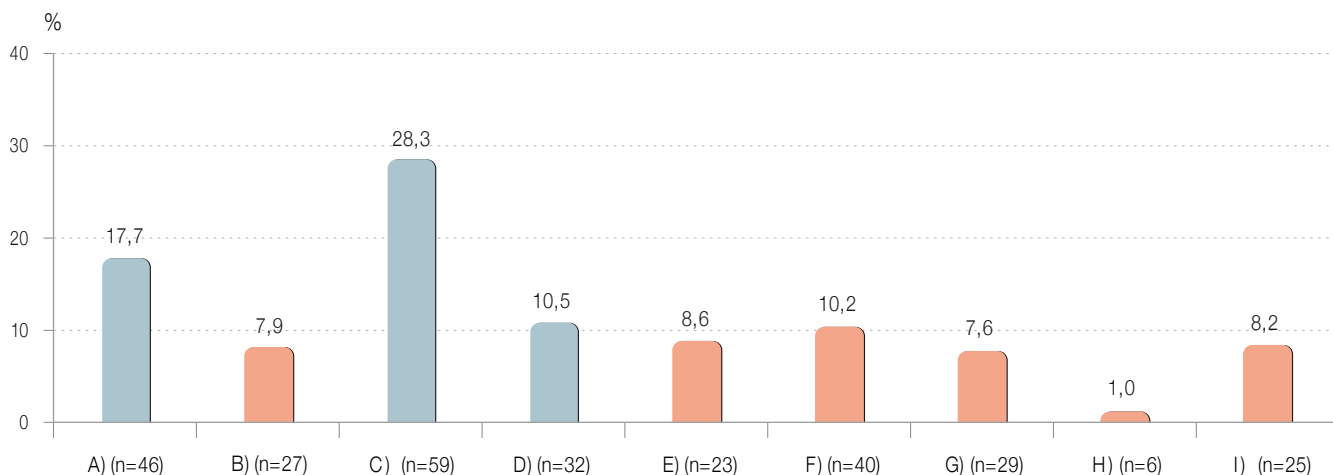
**Gráfico 2:** ↓ *Áreas com mais necessidades de informação, considerando a informação microbiológica existente (legislação, valores guia, etc.), relativa aos produtos disponíveis para consumo humano.*



No que se refere a principal informação que os utilizadores pretendem obter, a 1ª, 2ª e 3ª opção foram, respetivamente: “Valores-Guia para microrganismos e produtos cujos limites não estão legislados”, “Ocorrência de microrganismos por grupo de alimento/produto” e “Principais microrganismos causadores de toxinfecções alimentares em Portugal” (*Gráfico 3*).

Quanto a outro tipo de informação necessária foi referido: “Microrganismos patogénicos emergentes”, “Relação entre identificação do agente e a gravidade do surto”, “Prevalência de Surtos de toxinfecções alimentares”, “Suscetibilidade dos microrganismos isolados aos antibióticos”.

**Gráfico 3:** ↓ *Ordenação ponderada da informação pretendida.*



- A) Ocorrência de microrganismos por grupo de alimento/produto; B) Grupos alimentos/produtos contaminados por determinado microrganismo  
C) Valores-Guia para microrganismos e produtos cujos limites não estão legislados; D) Principais microrganismos causadores de toxinfecções alimentares em Portugal  
E) Produtos alimentares mais suscetíveis de causar toxinfecções alimentares em Portugal; F) Fatores que contribuíram para a ocorrência de toxinfecções alimentares  
G) Prevalência de toxinfecções alimentares por ano e/ou produto; H) Caracterização demográfica do surto; I) Dados de consumo alimentos/produtos alimentares



## **\_Conclusões**

Neste inquérito, as maiores necessidades de informação identificadas foram para (i) Produtos disponíveis para consumo humano: “Géneros alimentícios transformados”, os “Géneros alimentícios provenientes da produção primária” e “Superfícies e manipuladores”, (ii) Principal informação necessária: “Valores-Guia para microrganismos e produtos cujos limites não estão legislados”, “Ocorrência de microrganismos por grupo de alimento/produto” e “Principais microrganismos causadores de toxinfecções alimentares em Portugal” e (iii) Outro tipo de informação: “Microrganismos patogénicos emergentes”, “Relação entre identificação do agente e a gravidade do surto”, “Prevalência de Surtos de toxinfecções alimentares por ano e/ou produto na Europa”, “Suscetibilidade dos microrganismos isolados aos antibióticos”.

A cooperação entre os produtores de dados, utilizadores e compiladores contribui para identificar as prioridades e necessidades de atuação, de modo a otimizar a gestão do risco e a eficiência dos sistemas produtivos e promover a saúde pública em Portugal.



## Perfil lipídico de frutos secos e sementes

Tânia Gonçalves Albuquerque<sup>1,2</sup>, Ana Sanches Silva<sup>1,3</sup>,  
M. Beatriz Oliveira<sup>2</sup>, Helena S. Costa<sup>1,2</sup>

tania.albuquerque@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Investigação e Desenvolvimento. Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA

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

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

### Introdução

A prática de hábitos alimentares saudáveis desempenha uma ação preponderante na prevenção e controlo da morbilidade e mortalidade da população em Portugal. O consumo excessivo de gordura poderá estar na origem de diversas doenças crónicas, sendo por este motivo fundamental uma escolha acertada do tipo e quantidade de gordura consumida. Desde os tempos mais remotos que os frutos secos e as sementes oleaginosas são considerados alimentos saudáveis, com elevado valor energético e ricos em ácidos gordos (AG) insaturados.

### Objetivos

O objetivo geral deste estudo foi comparar o teor de gordura total e perfil de AG de sete tipos de frutos secos (amendoim torrado, amendoim com sal, caju, pistacho com sal, amêndoa pelada crua, castanha do Brasil e noz) e cinco tipos de sementes oleaginosas (abóbora, linhaça dourada, linhaça castanha, girassol e sésamo). Para além disso, pretendeu-se obter dados analíticos que possam contribuir para comprovar as alegações de saúde e para reforçar a sinergia entre a promoção da saúde e as características nutricionais destes alimentos.

### Materiais e Métodos

As sementes oleaginosas e os frutos secos foram selecionados com base em dados de produção e estudos de mercado. As amostras em estudo foram adquiridas no ano de 2012 em grandes superfícies e ervanárias da região de Lisboa. O teor de gordura total foi determinado de acordo com o método descrito por Albuquerque et al. (2012) <sup>(1)</sup>, consistindo numa hidrólise ácida seguida de extração em Soxhlet com éter de petróleo. No que diz respeito à determinação

do teor de AG, foi utilizado um método combinado de extração e transesterificação <sup>(2)</sup>. Para a análise cromatográfica foi utilizado um cromatógrafo gasoso acoplado a um detetor de espetrometria de massas (GC-MS). Para a separação dos AG utilizou-se uma coluna HP 88 (100 m x 0,25 mm d.i., 0,25 µm). Os AG foram identificados por comparação dos tempos de retenção e dos espectros de massas das amostras com os dos padrões puros. Os resultados são apresentados em g/100 g de parte edível.

### Resultados e discussão

De acordo com os resultados obtidos (*Figura 1*) no presente estudo, o teor de gordura total variou entre  $39,8 \pm 1,15$  g/100 g (linhaça castanha) e  $66,6 \pm 0,11$  g/100 g (castanha do Brasil). Entre os dois grupos estudados, os frutos secos apresentam um teor médio de gordura total ( $54,1 \pm 1,66$  g/100 g) superior ao das sementes oleaginosas ( $45,8 \pm 1,03$  g/100 g). O ácido linoleico (C18:2) foi o principal AG encontrado nas sementes de girassol e nas nozes (*Figura 2*). As sementes de sésamo, de abóbora e o amendoim torrado apresentaram quantidades similares de ácido oleico (C18:1) e de ácido linoleico (C18:2). Nas sementes de linhaça castanha e dourada, o AG maioritário foi o ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3 n-3) com teores a variarem entre  $18,3 \pm 1,99$  e  $21,8 \pm 1,03$  g/100 g, respetivamente. O caju, a amêndoa pelada, o amendoim com sal, e o pistacho têm um perfil de AG muito semelhante, sendo ácido oleico (C18:1) o principal. Em relação à quantidade de ácidos gordos saturados (AGS) e monoinsaturados (AGMI), o teor mais elevado, em termos de valor médio, foi observado para os frutos secos (10,7 g de AGS/100 g e 23,4 g de AGMI/100 g), apresentando as sementes oleaginosas 7,7 g/100 g e 12,0 g/100 g, para AGS e AGMI, respetivamente. Para os AG polinsaturados, o valor médio para os dois grupos estudados foi de 17,4 e 24,3 g/100 g, frutos secos e sementes oleaginosas, respetivamente.

### Conclusões

Os frutos secos e as sementes oleaginosas analisadas são boas fontes de AG insaturados que estão relacionados com vários benefícios para a saúde. Em Portugal, as doenças do aparelho circulatório continuam a ser a principal causa de morte. Portanto, incluir estes alimentos num plano alimentar saudável e equilibrado pode contribuir para a prevenção de várias doenças crónicas.

Figura 1: Teor de gordura (g/100 g de parte edível) de frutos secos e sementes.

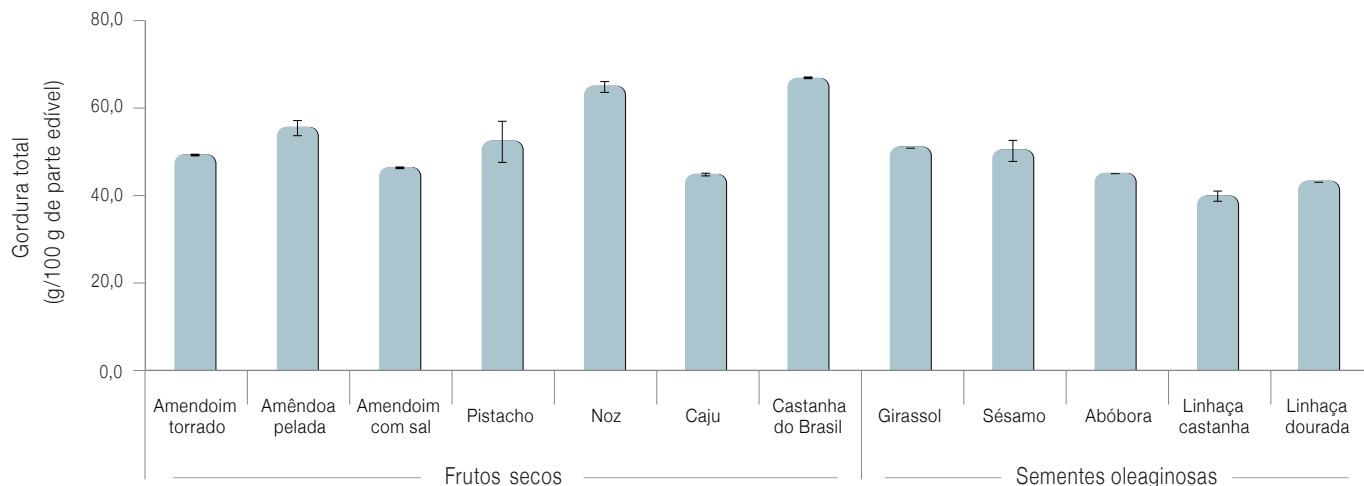
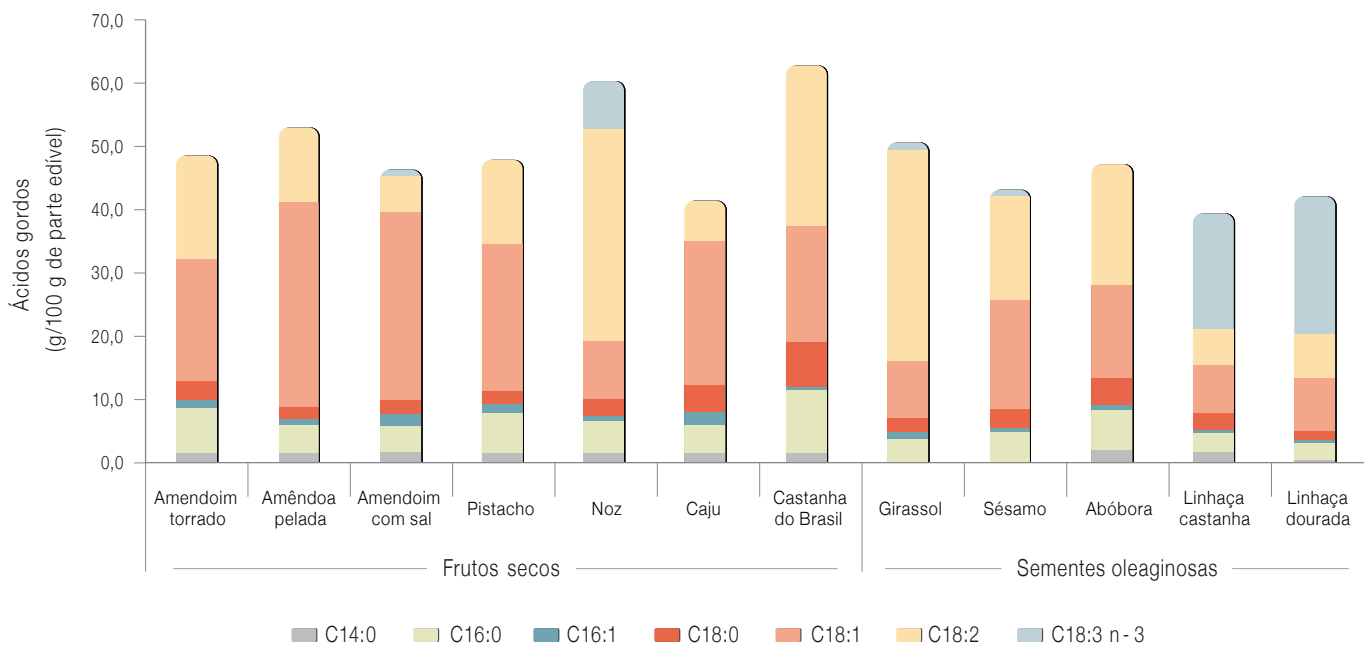


Figura 2: Composição em ácidos gordos (g/100 g de parte edível) de frutos secos e sementes.



### Agradecimentos

Tânia Gonçalves Albuquerque agradece a Bolsa de Investigação Científica Ricardo Jorge (BRJ/DAN-2012) financiada pelo INSA Este trabalho foi financiado pelo INSA no âmbito do projeto "PTRANSALT - Avaliação de ácidos gordos trans, gordura saturada e sal em alimentos processados: estudo do panorama português (2012DAN828)" e do projeto "SeeDNuT - Benefícios para a saúde associados ao consumo de sementes oleaginosas e frutos secos, com base na determinação do perfil lipídico (2012DAN723)".

### Referências bibliográficas:

- (1) 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):713-7.
- (2) Sanches-Silva A, Rodríguez-Bernaldo de Quirós A, López-Hernández J, et al. Comparison between high-performance liquid chromatography and gas chromatography methods for fatty acid identification and quantification in potato crisps. *J Chromatogr A.* 2004;1032(1-2):7-15.



## Varição genética associada ao nível de hemólise crónica na drepanocitose: um estudo longitudinal

Andreia Coelho<sup>1</sup>, Alexandra Dias<sup>2</sup>, Anabela Morais<sup>3</sup>, Baltazar Nunes<sup>4</sup>, Emanuel Ferreira<sup>1</sup>, Isabel Picanço<sup>1</sup>, Paula Faustino<sup>1</sup>, João Lavinha<sup>1</sup>

joao.lavinha@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Genética Humana, INSA.

(2) Departamento de Pediatria, Hospital Prof Doutor Fernando Fonseca.

(3) Departamento de Pediatria, Hospital de Santa Maria.

(4) Departamento de Epidemiologia, INSA.

### Introdução

A compreensão da causa e mecanismo das doenças complexas (multifatoriais) frequentes pode beneficiar largamente do estudo de doenças mendelianas (monogénicas) raras devido à sua relativamente mais simples etiopatogénese. A drepanocitose é uma anemia crónica monogénica, autossómica recessiva, clinicamente heterogénea, caracterizada por episódios graves e recorrentes de vaso-oclusão e infeção e por hemólise crónica. A apresentação, o curso e o desfecho da doença dependem de determinantes ambientais, comportamentais e genéticos. A hemólise intra- e extravascular está na origem de algumas das complicações da doença, especialmente devido à consequente alteração na biodisponibilidade do óxido nítrico (NO). Entre os chamados sub-fenótipos hemolíticos da drepanocitose incluem-se o AVC, a hipertensão pulmonar, o priapismo, as úlceras de perna e a colelitíase <sup>(1)</sup>.

### Objetivos

Para identificar preditores precoces de vaso-oclusão na drepanocitose, estudámos a associação entre três biomarcadores de hemólise e a herança de variantes genéticas em genes candidatos relacionados com o nível de hemoglobina fetal (HbF), a adesão vascular dos eritrócitos, o tónus vascular e, ainda, um determinante alfa-talassémico numa série de doentes pediátricos seguidos longitudinalmente.

### Material e métodos

**Participantes:** 99 doentes pediátricos com drepanocitose homocigótica (SS) seguidos em dois grandes hospitais gerais da área metropolitana de Lisboa, 97% dos quais de origem sub-

sariana. Idade à entrada no estudo (mediana): 9,9 anos. Tempo de seguimento/doente (mediana): 5,0 anos. Foi obtido consentimento informado dos representantes legais dos participantes.

**Caraterização fenotípica:** Os dados clínicos, hematológicos e bioquímicos, incluindo os relevantes para este estudo (Hb, LDH, bilirrubina total, reticulócitos), foram colhidos retrospectivamente nos processos clínicos dos doentes.

**Genotipagem:** Realizada em DNA genómico total isolado de leucócitos do sangue periférico por varias técnicas baseadas na PCR. Foram caraterizadas 41 variantes genéticas (34 SNP, 6 indel, 1 STR), com frequência do alelo minor  $\geq 0,05$  na população de doentes, nos *loci* seguintes: *BCL11A*, *CD36*, *EDN1*, *HBA*, agrupamento *HBB* (incluindo *HBG2*), *ITGA4*, *HMOX1*, *NOS3*, *THBS1* e *VCAM1*. Todas as distribuições genotípicas se encontravam em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A partir dos genótipos obtidos foram inferidos 105 haplotipos (PHASE). No entanto, apenas os 51 com frequência  $> 0,02$  foram considerados na análise estatística.

**Colheita e análise de dados:** Foi construída uma base de dados demográficos e clínicos. Os estudos de associação entre genótipos nos *loci* candidatos e biomarcadores de hemólise foram realizados através de testes paramétricos (LDH, bilirrubina total) ou não-paramétricos (reticulócitos) com subsequente correção para comparações múltiplas <sup>(2)</sup>. Foram assumidos diferentes modelos de hereditariedade.

### Resultados

Foram colhidos dados demográficos e clínicos relativos a 557 pessoa\*ano, incluindo 738 crises (530 vaso-oclusivas, 466 infecciosas, 143 anémicas). No entanto, neste estudo apenas as observações inter-crise foram consideradas por serem as que mais bem representam uma complicação crónica da doença como é a hemólise. Os resultados obtidos revelaram uma associação entre os marcadores de hemólise e (i) variantes em dois genes relacionados com a adesão dos drepanócitos ao endotélio vascular (*VCAM1*, *CD36*), (ii) uma variante do *NOS3*, o produto do qual gera NO nas células endoteliais implicadas no tónus vascular e (iii) um determinante alfa-talassémico, um notório modificador da gravidade da drepanocitose (**Quadro 1 e Gráfico 1**).

Quadro 1: Associação entre variantes de genes candidatos e marcadores de hemólise na drepanocitose.

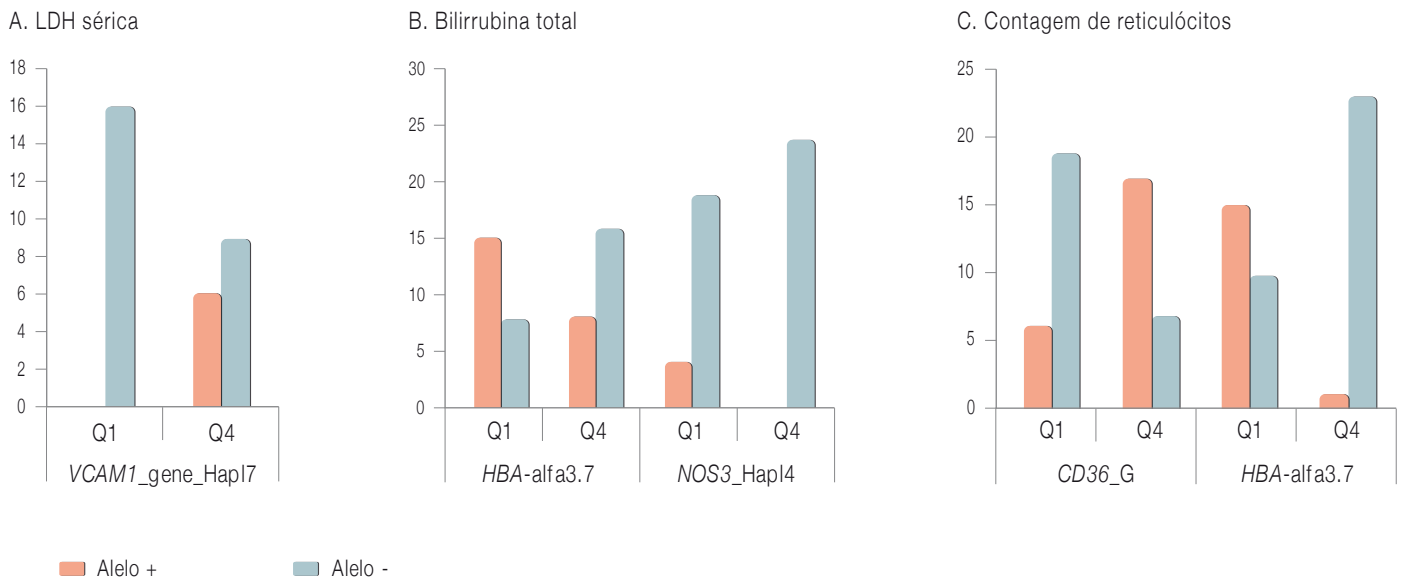
Gene	Referência da variante	Alelo <sup>a</sup>	Alelo ou haplótipo associado	Presença do alelo ou haplótipo associado	Número de pacientes	Marcadores de hemólise <sup>b</sup>					
						LDH (U/L) média±DP	p	Bilirrubina total (mg/dL) média±DP	p	Contagem de reticulócitos (%) média±DP	p
VCAM1-gene	rs3783613	G/C	C	sim	12	1270,6±279,3	p=0,002				
	rs3176878	C/T	C								
	rs3783615	A/T	A	não	49	926,6±348,4					
	rs3176879	A/G	A								
VCAM1-promotor	rs1409419	C/T	C	Heterozigotia (Hapl 9/Hapl X) <sup>c</sup>	4			1,65±0,05	p<0,001		
	rs3917024	C/T	T								
	rs3917025	TC/delTC	delTC								
	rs3783597	C/G	G								
	rs3783598	T/G	T	Homozigotia (Hapl 9/Hapl 9; Hapl X/Hapl X)	88			2,50±0,43			
	rs1041163	T/C	C								
	rs3783599	C/T	T								
CD36	rs1984112	A/G	G	sim	45					13,06±0,80	p=0,001
				não	50				9,26±0,56		
NOS3	rs2070744	C/T	T	sim	90			2,41±0,42	p<0,001		
				não	2			5,18±0,01			
HBA	n/a	Não-del/del 3,7kb	del 3,7kb	sim	41			2,04±0,40	p=0,002		
				não	52			2,80±0,40			
				sim	42				8,77±0,48	p<0,001	
				não	53				13,21±0,73		

<sup>a</sup> A primeira posição representa o alelo ancestral

<sup>b</sup> Os níveis individuais dos pacientes são médias dos valores inter-crise medidos ao longo do período de seguimento

<sup>c</sup> Hapl X = Não-hapl 9

Gráfico 1: Número de pacientes com drepanocitose com (+) ou sem (-) uma variante genética em (A) VCAM1, (B) HBA e NOS3, or (C) CD36 e HBA com os níveis de, respetivamente, a LDH sérica, bilirrubina total e contagem de reticulócitos nos dois quartis extremos (Q1, Q4).





## **\_Discussão**

A hemólise crónica é um traço distintivo do curso clínico da drepanocitose. Neste estudo demonstrámos uma associação estatisticamente significativa entre parâmetros bioquímicos ou eritrocitários correlacionados com diferentes estadios do fenótipo hemolítico e determinantes genéticos da adesão celular, metabolismo do NO e alfa-talassémia.

**Moléculas de adesão (VCAM1, CD36):** A adesão dos drepanócitos ao endotélio vascular é um fator crítico na patogénese da drepanocitose.

Considerando um marcador proximal de hemólise (LDH sérica), foi testada a hipótese de que as variantes observadas no *locus VCAM1* (tanto no promotor como no gene) possam ser modificadoras do fenótipo drepanocítico. Foram já identificadas variantes hiperativas do promotor (predisponentes para vaso-oclusão) e, na variante intra-génica G1238C, o alelo C foi associado a proteção contra AVC. Neste estudo, o *VCAM1\_gene\_haplótipo 7* (que inclui o referido alelo C) foi associado a níveis mais elevados de LDH e, potencialmente, a um fenótipo hemolítico mais grave. Estas observações aparentemente contraditórias poderão resultar de um papel dual da variante G1238C na etiologia molecular do AVC e da hemólise e/ou a modulação do fenótipo pelas outras três variantes que definem o haplótipo. Considerando um outro marcador de hemólise (bilirrubina total), foram observados níveis mais baixos em associação com a heterozigotia para o *VCAM1\_promotor\_haplótipo 9*. Este achado constituirá mais um exemplo do efeito protetor proporcionado pelo estado de heterozigotia para uma variante genética (vantagem do heterozigoto) (3, 4).

Verifica-se que os reticulócitos e eritrócitos nos doentes drepanocíticos têm uma expressão de CD36 superior aos indivíduos controlo. Por outro lado, sabe-se que a ligação da CD36 à trombospondina-1 promove a adesividade vascular. Neste estudo, o alelo rs1984112\_G (localizado na 5'UTR do gene *CD36*) mostrou estar associado a uma elevação da contagem de reticulócitos, uma consequência distal da hemólise. Assim, a herança deste alelo parece ser um fator de risco na drepanocitose, particularmente em relação à hemólise subsequente a um reforço da adesão celular (5).

**Metabolismo do NO:** Observaram-se baixos níveis de bilirrubina total em associação com o alelo rs2070744\_T no promotor do gene *NOS3*, o qual codifica a NO-sintase 3 que catalisa a produção de NO nas células endoteliais. O NO é um gás com potentes propriedades vasodilatadoras e anti-adesivas necessárias à manutenção do lúmen vascular.

Na drepanocitose observa-se um estado de resistência ao NO mediado pela inativação do NO pela Hb plasmática libertada na hemólise. A referida variante do promotor do *NOS3* parece ter um efeito sobre a expressão dos respetivos mRNA e proteína. O alelo C já foi considerado um fator de risco para doença coronária, enquanto o alelo T parece ter um efeito protetor na componente hemolítica da drepanocitose (6).

**Alfa-talassémia:** A presença da deleção de 3,7kb no gene *HBA* foi encontrada em associação com níveis mais baixos de hemólise (evidenciados pela bilirrubina total e contagem de reticulócitos). A alfa-talassémia, em co-herança com a drepanocitose, foi um dos primeiros modificadores genéticos desta a ser identificados em particular no que respeita ao sub-fenótipo hemolítico. Os doentes que apresentam a deleção de, pelo menos, um gene *HBA* têm uma hemólise reduzida em resultado de uma mais baixa concentração intracelular de HbS, a qual, por seu turno, diminui os danos celulares (falciformação) associados à polimerização da HbS (7).

## **\_Conclusões**

No seu conjunto, os nossos achados sugerem uma arquitetura genética complexa para o processo hemolítico na drepanocitose, envolvendo várias vias metabólicas, nomeadamente adesão às células do endotélio vascular, síntese do NO e controlo do volume e hemoglobinação dos eritrócitos (8). No entanto, devido à baixa prevalência das variantes genéticas significativamente associadas ao sub-fenótipo hemolítico, os nossos resultados carecem de replicação numa coorte mais numerosa seguida durante um período mais longo. Neste estudo propusemos várias hipóteses mecanísticas compatíveis com as observadas associações genótipo/fenótipo. São, por isso, necessários estudos funcionais que explorem as perspetivas agora abertas para uma melhor compreensão da variabilidade clínica inter- e intra-individual da drepanocitose (e outras doenças cardio-vasculares comuns) com potencial impacto positivo na personalização das intervenções terapêuticas.

## **Agradecimentos**

Aos pacientes e suas famílias. À Unidade de Tecnologia e Inovação do INSA pelo apoio técnico. À FCT pelo apoio financeiro (PIC/IC/83084/2007 e CIGMH).



**Referências bibliográficas:**

- (1) Steinberg MH, Sebastiani P. Genetic modifiers of sickle cell disease. *Am J Hematol.* 2012;87(8):795-803.
- (2) Bouaziz M, Jeanmougin M, Guedj M. Multiple testing in large-scale genetic studies. *Methods Mol Biol.* 2012; 888:213-33.
- (3) Dworkis DA, Klings ES, Solovieff N, et al. Severe sickle cell anemia is associated with increased plasma levels of TNF-R1 and VCAM-1. *Am J Hematol.* 2011;86(2):220-3. [LINK](#)
- (4) Dean M, Carrington M, O'Brien SJ. Balanced polymorphism selected by genetic versus infectious human disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2002; 3:263-92.
- (5) Zhang Y, Hildesheim ME, Nouraie M, et al. Plasma thrombospondin-1 is increased during acute sickle cell vaso-occlusive events and associated with acute chest syndrome, hydroxyurea therapy, and lower hemolytic rates. *Am J Hematol.* 2012;87(3):326-30. [LINK](#)
- (6) Cattaruzza M, Guzik TJ, Stodowski W, et al. Shear stress insensitivity of endothelial nitric oxide synthase expression as a genetic risk factor for coronary heart disease. *Circ Res.* 2004; 95(8):841-7. [LINK](#)
- (7) Steinberg MH, Embury SH. Alpha-thalassemia in blacks: Genetic and clinical aspects and interactions with the sickle hemoglobin gene. *Blood.* 1986; 68(5):985-90. [LINK](#)
- (8) Milton JN, Rooks H, Drasar E, et al.; Walk-PHAASST Investigators, Steinberg MH. Genetic determinants of haemolysis in sickle cell anaemia. *Br J Haematol.* 2013;161(12):270-8.



## Fibrose quística: diagnóstico laboratorial pela prova do suor num grupo populacional

Alcina Costa<sup>1</sup>, Lídia Batalha<sup>1</sup>, Suza Almeida<sup>1</sup>, Arminda Vilares<sup>1</sup>, Paula Pacheco<sup>2</sup>, Conceição Silva<sup>2</sup>, Armandina Miranda<sup>1</sup>

alcina.costa@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Diagnóstico Laboratorial e Referência. Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis, INSA.

(2) Unidade de Genética Molecular. Departamento de Genética Humana, INSA.

### Introdução

A Fibrose Quística (FQ) é a doença genética autossómica recessiva letal mais frequente na população caucasiana. É causada por mutações no gene que codifica a proteína CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*) que funciona como canal de transporte de iões cloreto ao nível da membrana apical das células epiteliais, contribuindo para o controlo do movimento de água nos tecidos (1). A FQ é caracterizada pela obstrução e infeção pulmonar crónica, insuficiência pancreática e obstrução intestinal, infertilidade masculina e suor com níveis elevados de cloretos. A doença é multissistémica e afeta todos os órgãos que expressam a CFTR (1, 2). A idade em que se começam a manifestar os primeiros sintomas e a sua gravidade estão relacionados com o tipo de mutações no gene *CFTR*. O diagnóstico é baseado no fenótipo clínico associado a duas ou mais provas do suor positivas e/ou pela presença de duas mutações no gene *CFTR* (3, 4). O teste laboratorial de referência para o diagnóstico da FQ é a prova do suor, com base na concentração elevada do ião cloreto no suor.

### Objetivo

Caraterizar o grupo de utentes que realizaram uma prova do suor e o estudo do gene *CFTR* para diagnóstico laboratorial da fibrose quística, respetivamente no Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis e no Departamento de Genética Humana, do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, no período de 2009 a 2013.

### Metodologia

O suor foi obtido por iontoforese com estimulação pela pilocarpina e colhido utilizando o sistema Macroduct®. A análise do suor foi efetuada por condutimetria (teste de rastreio) e por potenciometria direta (elétrodos seletivos - doseamento do ião cloreto). A pesquisa de mutações no gene *CFTR* foi realizada utilizando as técnicas de rotina do laboratório (*ARMS–Amplification Refractory Mutation System*; *RDB–Reverse Dot-Blot*; *DGGE–Denaturing Gradient Gel Electrophoresis* dos exões 3, 12, 13, e 20 e em alguns casos alargamento de estudo com análise por sequenciação ou DGGE dos exões 1, 4, 5, 6, 14, 17, 19 e 22) que no seu conjunto permitem detetar cerca de 93 a 98% das mutações associadas à FQ na população portuguesa.

O procedimento laboratorial utilizado para a realização da prova do suor é baseado nas normas “*Guideline for the performance of the sweat test for the investigation of Cystic Fibrosis in the UK*” (november 2003), “*Sweat testing: Sample collection and quantitative analysis; Approved Guideline – Second Edition*” (NCCLS document C34-A2, june 2000) e Norma da DGS nº 31/2012 de 28/12/2012 (atualizada a 10/01/2014) e segue uma marcha analítica (Figura 1). O laboratório efetua controlo interno da qualidade (CV =1,49%) e participa na Avaliação Externa da Qualidade UK NEQAS-Sweat testing.

### Casuística no âmbito da prova do suor e pesquisa de mutações no gene CFTR

No período de 2009 a 2013 foram realizadas 472 provas do suor, no âmbito da rotina laboratorial. A idade dos utentes variou entre os 3 meses e os 83 anos, sendo a mediana de 4 anos e o terceiro quartil de 10 anos. Neste grupo 276 (58,5%) indivíduos eram do sexo masculino e 196 (41,5%) do sexo feminino.

Das 472 amostras analisadas por condutimetria, o resultado foi negativo (NaCl <50 mmol/L) em 375 (79,4%), positivo (≥ 90 mmol/L) em 12 (2,5%) e *borderline* (50 a 89 mmol/L) em 85 (18,0%). Verifica-se uma diminuição do número de pedidos de provas do suor de 2012 para 2013, provavelmente devido a um maior controlo das condições

artigos breves\_ n. 6

clínicas sugestivas de FQ. Esta observação é corroborada pelo facto de a proporção de casos positivos ser superior aos observados nos anos anteriores (*Tabela 1*).

Figura 1: Algoritmo laboratorial da prova do suor.

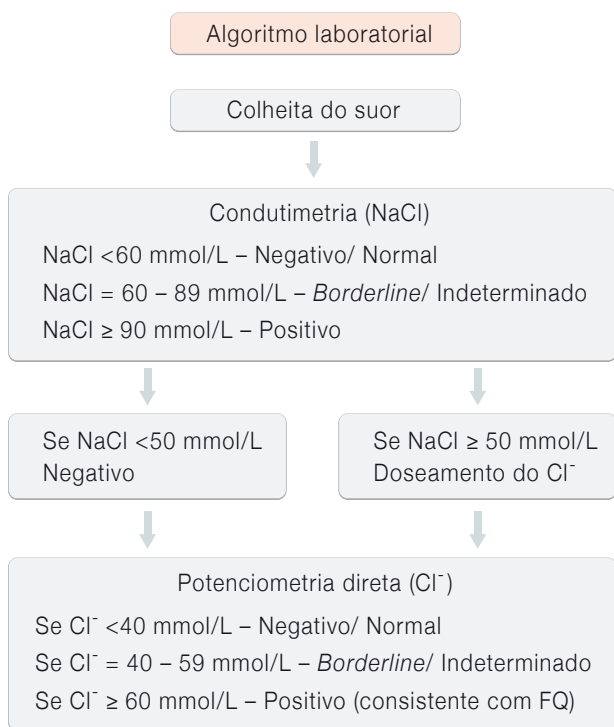


Tabela 1: Resultados da prova do suor por conductimetria (NaCl).

Ano	Nº teste	Negativo Nº (%)	Borderline Nº (%)	Positivo Nº (%)
2009	112	85 (75,9%)	25 (22,3%)	2 (1,8%)
2010	116	85 (73,3%)	28 (24,1%)	3 (2,6%)
2011	100	83 (83,0%)	16 (16,0%)	1 (1,0%)
2012	92	80 (87,0%)	10 (10,9%)	2 (2,2%)
2013	52	42 (80,8%)	6 (11,5%)	4 (7,7%)
Total	472	375 (79,4%)	85 (18,0%)	12 (2,5%)

A análise por potenciometria direta para doseamento do ião  $Cl^-$  foi realizada em 115 (24,4%) amostras, 75 cujos resultados por conductimetria foram  $\geq 50$  mmol/L e 40 com pedido específico de doseamento quantitativo do ião  $Cl^-$ . O resultado foi negativo ( $Cl^- < 40$  mmol/L) em 72 amostras (62,6%), *borderline* ( $40$  mmol/L  $< Cl^- < 59$  mmol/L) em 24 amostras (20,9%) e positivo ( $Cl^- \geq 60$  mmol/L) em 19 amostras (16,5%). Das 75 amostras analisadas por potenciometria, com valor de NaCl  $\geq 50$  mmol/L, 32 (42,7%) foram negativas, 24 (32,0%) *borderline* e 19 (25,3%) positivas. A totalidade das amostras com resultado de NaCl  $< 50$  mmol/L foi negativa no doseamento do ião  $Cl^-$  (*Tabela 2*).

Tabela 2: Resultados da prova do suor por potenciometria direta (ião cloreto).

Resultados por conductimetria (NaCl)	Nº de amostras	Resultados por potenciometria direta ( $Cl^-$ )		
		Negativo Nº (%)	Borderline Nº (%)	Positivo Nº (%)
NaCl $< 50$ mmol/L	40	40	0	0
NaCl $\geq 50$ mmol/L	75	32 (42,7%)	24 (32,0%)	19 (25,3%)
Total	115	72	24	19

Do total de 472 amostras, 375 (79%) cujo resultado por conductimetria foi inferior a 50 mmol/L, saíram como negativas. Com resultado positivo ou *borderline* obtivemos 97 casos, no entanto em 22 não foi efetuado o doseamento quantitativo do ião  $Cl^-$ , por insuficiência de amostra. Nos 75 casos analisados por potenciometria, o doseamento do ião  $Cl^-$  confirmou 19 positivos, 24 *borderline* e 32 negativos, correspondendo a 4 %, 5 % e 7% do total das amostras estudadas, respetivamente (*Gráfico 1*).

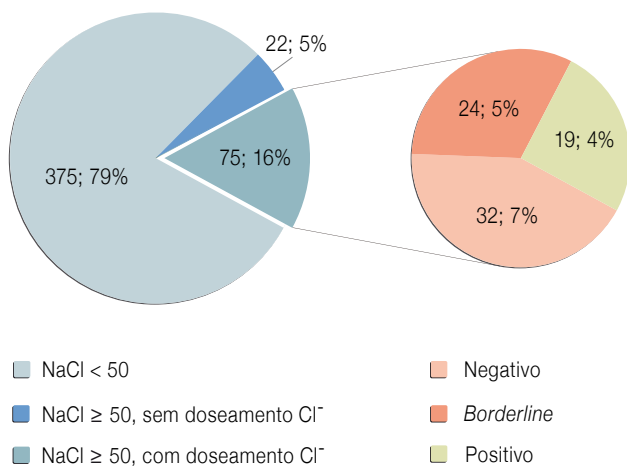
O estudo do gene *CFTR* foi efetuado em 31 casos: 15 com resultado de análise de ião  $Cl^-$  positivo, 11 *borderline* e 3 negativos, e ainda em 2 casos com resultado de conductimetria *borderline* (50 a 89 mmol/L), em que por insuficiência de amostra não foi possível realizar o teste confirmatório por potenciometria, e nos quais não foram detetadas mutações.

Nos 31 casos estudados para o gene *CFTR*, em 10 (32%) foram identificadas duas mutações, em 8 (26%) uma mutação e nos restantes

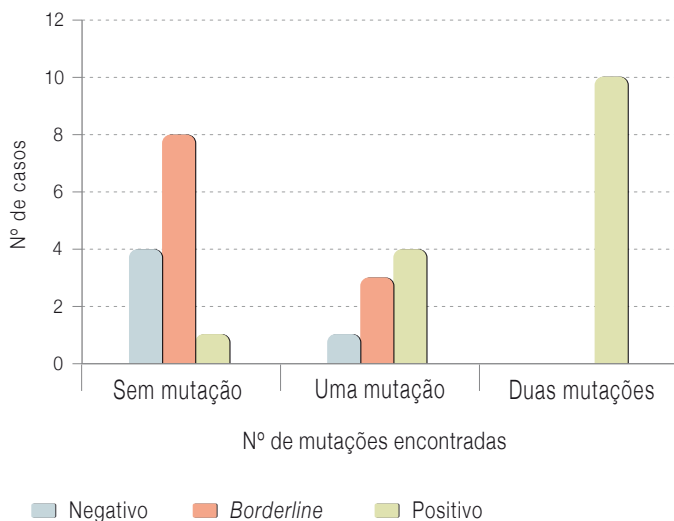
artigos breves\_ n. 6

13 (42%) não se encontraram mutações (*Gráfico 2*). Nos 10 casos em que foram encontradas duas mutações, a prova do suor foi positiva. Dos 8 casos em que foi detetada uma mutação, 4 (50%) tinham prova de suor positiva, 3 (37,5%) *borderline* e 1 (12,5%) prova de suor negativa. Dos 13 casos em que não se encontraram mutações, 3 (23,1%) tinham prova de suor positiva, 8 *borderline* (61,5%) e 2 (15,4%) negativa, indicando a particular importância de uma correlação com os dados clínicos, assim como a repetição da prova.

**Gráfico 1:** Percentagem de resultados positivos, *borderline* e negativos para o rastreio (condutimetria) e confirmação (potenciometria) relativamente ao total de amostras analisadas.



**Gráfico 2:** Relação entre o resultado da prova do suor e o número de mutações encontradas.



## \_Conclusão

Uma prova do suor precisa depende da coordenação exata de muitos elementos. A prova é tecnicamente exigente, requer experiência, qualificação e o seguimento de orientações emitidas por organismos de referência. A sua interpretação e valorização são de importância primordial para o diagnóstico correto e atempado, sendo no entanto essencial utilizar os métodos de colheita e análise apropriados, assim como um adequado controlo de qualidade e avaliação dos resultados. Todos os casos em que foram identificadas duas mutações no gene *CFTR* apresentaram uma prova do suor positiva. Por outro lado, nos doentes com provas de suor consistentemente positivas em que não são encontradas 2 mutações associadas à FQ, é recomendável fazer um alargamento do estudo genético, de modo a confirmar o diagnóstico de FQ. De notar ainda que alguns portadores de FQ (com um gene normal e um gene mutado) podem ter testes de suor com valores *borderline* pelo que a prova de suor deverá ser repetida. A prova do suor com base na concentração do ião cloreto é o teste de referência para o diagnóstico da FQ, devendo ser realizada antes da análise genética.

## Referências bibliográficas:

- (1) Accurso FJ. Update in cystic fibrosis 2006. Am J Respir Crit Care Med. 2007;175(8):754-7. [LINK](#)
- (2) Mishra A, Greaves R, Massie J. The Relevance of Sweat Testing for the diagnosis of Cystic Fibrosis in the Genomic Era. Clin Biochem Rev. 2005;26(4):135-53. [LINK](#)
- (3) Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. J Pediatr. 1998;132(4):589-95.
- (4) Farrell PM1, Rosenstein BJ, White TB, et al Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. J Pediatr. 2008;153(2):S4-S14. [LINK](#)



## Vigilância da gripe em Portugal no inverno 2013/2014

Paula Cristóvão<sup>1</sup>, Pedro Pechirra<sup>1</sup>, Patrícia Conde<sup>1</sup>,  
Ana Carina Maia<sup>1</sup>, Carla Roque<sup>2</sup>, Dina Carpinteiro<sup>3</sup>,  
Daniel Ataíde Sampaio<sup>3</sup>, Baltazar Nunes<sup>4</sup>, Raquel Guiomar<sup>1</sup>

raquel.guiomar@insa.min-saude.pt

(1) Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe e outros Vírus Respiratórios. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

(2) Laboratório de Cultura de Tecidos. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

(3) Unidade de Tecnologia e Inovação. Departamento de Genética Humana, INSA.

(4) Departamento de Epidemiologia, INSA.

### Sistema de vigilância

O vírus influenza é o agente da gripe, uma doença respiratória sazonal, que ocorre frequentemente nos meses de outono e inverno. Todos os anos são atribuídos ao vírus influenza um número elevado de óbitos especialmente na população mais idosa e em indivíduos com doenças crónicas graves, e um menor número de casos de morte em crianças e adultos jovens <sup>(1)</sup>.

O Programa Nacional de Vigilância da Gripe (PNVG) tem como principais objetivos a recolha, análise e divulgação da informação sobre a atividade da gripe em Portugal, pretendendo desta forma contribuir para a diminuição da morbidade e mortalidade associada à gripe e suas complicações, permitindo a orientação das medidas de controlo e de prevenção da doença.

O PNVG integra as componentes da vigilância clínica e laboratorial possibilitando a determinação semanal das taxas de incidência de síndrome gripal (SG), a identificação e caracterização das estirpes do vírus influenza circulantes na população, a deteção de surtos e de vírus da gripe emergentes com potencial pandémico que constituam um risco para a saúde pública. Na componente clínica do PNVG, colabora a Rede de Médicos-Sentinela, com um papel especialmente relevante, possibilitando o cálculo da taxa de incidência da síndrome gripal e o acompanhamento da evolução da epidemia. Na componente laboratorial, colaboram igualmente a Rede de Médicos-Sentinela, a Rede de Serviços de Urgência/Ginecologia e Obstetria e os médicos do projeto Eu-

roEVA, através do envio de amostras respiratórias para a pesquisa do vírus influenza, constituindo desta forma um indicador do início da circulação do vírus da gripe em cada época.

A Rede Portuguesa de Laboratórios para o Diagnóstico da Gripe (RPLDG) realiza a pesquisa laboratorial e contribui decisivamente para a caracterização do vírus influenza, em particular nas situações de infeção respiratória detetadas a nível hospitalar.

Os dados nacionais integram semanalmente os boletins das Redes Europeias de Vigilância da Gripe, coordenadas pelo *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) e a Organização Mundial da Saúde (OMS).

Pretende-se com a presente publicação, sintetizar e divulgar os dados da análise preliminar da atividade gripal em Portugal, na época de 2013/2014 (até à semana 10/2014, i.e. início de março).

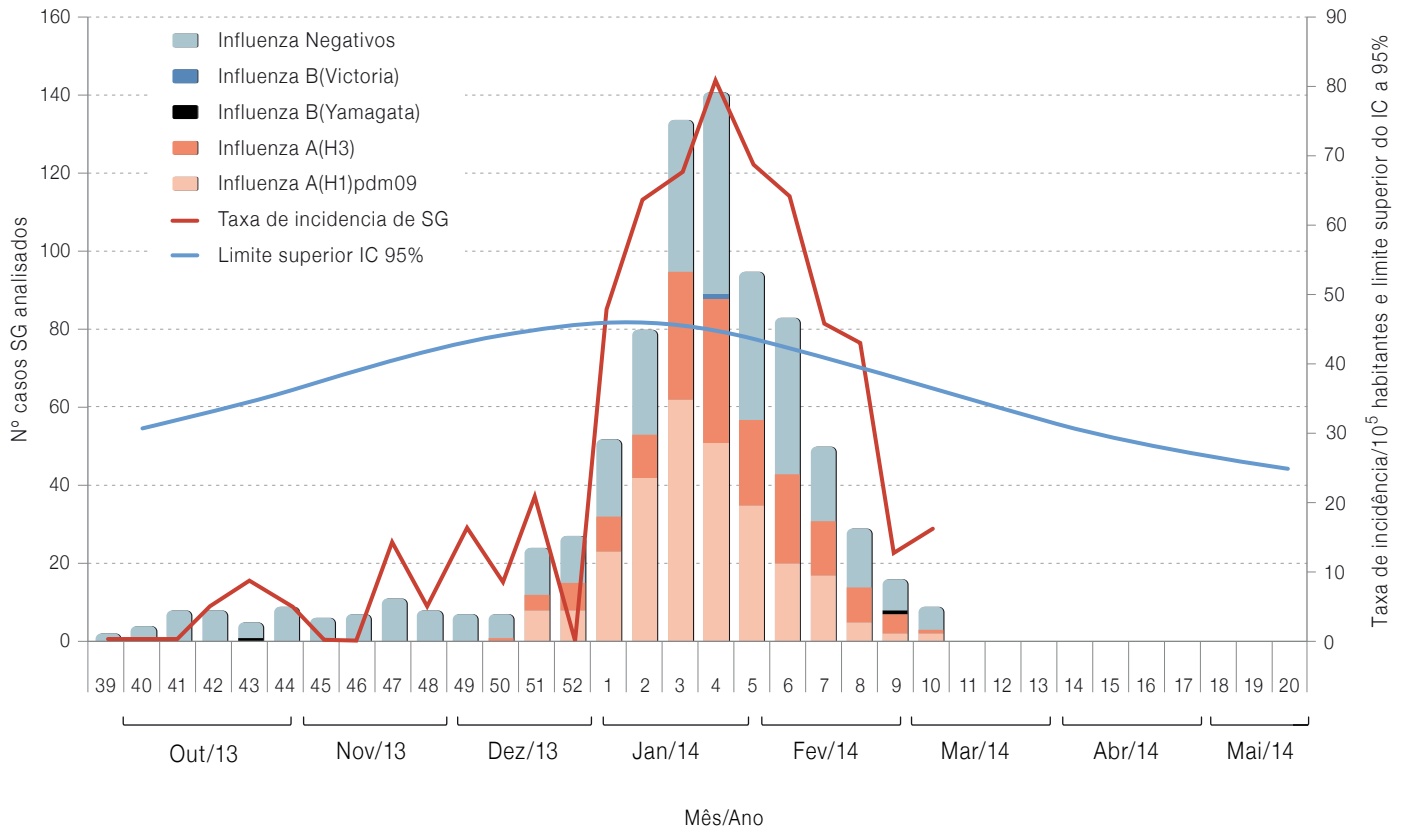
### Vigilância clínica e laboratorial da gripe

Na época 2013/2014 a atividade gripal foi considerada moderada e o maior número de notificações foi observado no mês de janeiro e início de fevereiro. O período epidémico ocorreu entre as semanas 1/2014 e 8/2014, com um valor máximo de 80,7 casos de SG por 100 000 habitantes na semana 4/2014 (*Gráfico 1*). Relativamente às duas épocas anteriores, o período epidémico da presente época 2013/2014 ocorreu mais cedo, com um início antecipado em cerca de 4 semanas <sup>(2,3)</sup>.

A análise laboratorial realizada até à semana 10/2014 (9 de março de 2014) a 824 exsudados da nasofaringe permitiu a identificação do vírus influenza em 455 (55,2%) casos de síndrome gripal (*Gráfico 2*). O vírus influenza A(H1)pdm09 e A(H3) co-circularam durante a época 2013/2014, especialmente durante o período epidémico, ou seja entre as semanas 1/2014 e 8/2014 (*Gráfico 1*).

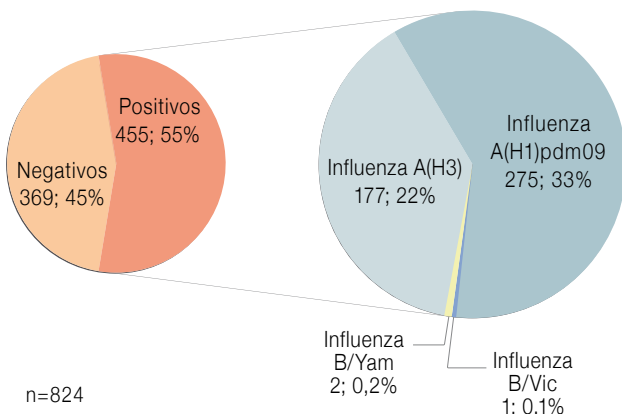
Foram identificados 275 (33%) casos de infeção por influenza A(H1)pdm09 e 177 (22%) casos por influenza A(H3) (*Gráfico 1 e 2*). Foram detetados 3 casos de infeção pelo vírus influenza do tipo B: 2 (0,2%) vírus da linhagem Yamagata e 1 (0,1%) vírus da linhagem Victoria (*Gráfico 1 e 2*).

Gráfico 1: Distribuição semanal dos casos de gripe detetados por RT-PCR em tempo-real, por tipo/subtipo do vírus influenza e segundo a semana de início da doença, na época 2013/2014 (até à semana 10/2014).



Inclui taxas de incidência semanais de SG por 100 000 habitantes, com indicação do limite superior do IC a 95% da área de atividade basal.

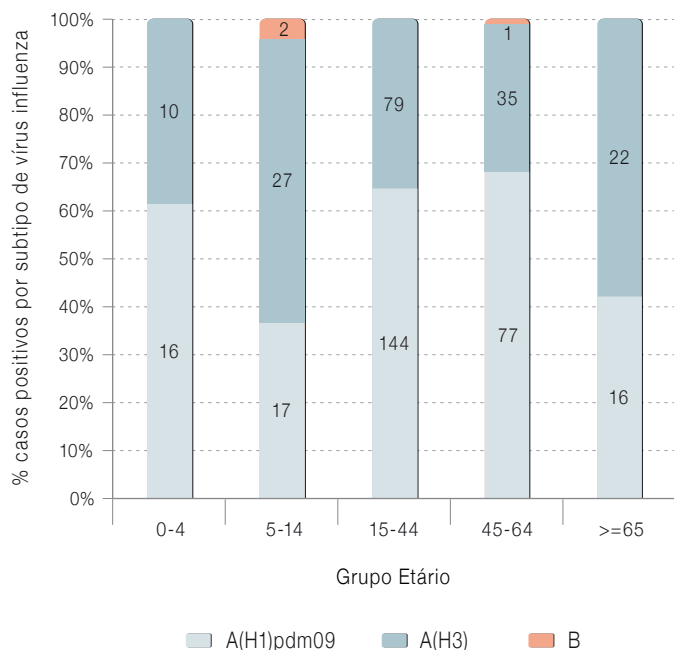
Gráfico 2: Distribuição percentual dos casos de SG notificados no âmbito do PNVG, com envio de exsudado da nasofaringe, segundo os resultados obtidos no diagnóstico laboratorial da gripe, na época de 2013/2014 (até semana 10/2014).



A distribuição dos casos de síndrome gripal por grupo etário, mostra que a maior percentagem de casos positivos para gripe foi em jovens/adultos com idades compreendidas entre os 15 e os 44 anos (59,3%; 223/376).

O vírus influenza A(H1)pdm09 foi detetado em maior percentagem do que o subtipo A(H3), nos grupos etários das crianças até 4 anos e dos adultos entre 15 e 64 anos (61,5% dos 0-4 anos, 64,6% dos 15-44 anos e 68,1% dos 45-64 anos) (Gráfico 3). O vírus influenza A(H3) foi predominantemente detetado nas crianças dos 5 aos 14 anos, e nos idosos (com idade superior a 65 anos), 58,7% e 57,9%, respetivamente .

**Gráfico 3:** Distribuição percentual dos casos de gripe por grupo etário, na época de 2013/2014 (até semana 10/2014).



Foram excluídos da análise 9 casos, por falta de informação sobre a idade.

### \_Caraterização do vírus da gripe

O Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe e outros Vírus Respiratórios (LNRVG) do INSA realizou a análise complementar (caraterização antigénica, genética e pesquisa da susceptibilidade aos antivirais) aos vírus detetados nas amostras recebidas através do PNVG e também em amostras provenientes da RPLDG, durante a época de 2013/2014.

**Análise antigénica:** Até à semana 10/2014, foram analisados antigenicamente 145 vírus influenza: 120 vírus do subtipo A(H1)pdm09 semelhantes a A/California/7/2009, 21 vírus do subtipo A(H3) semelhantes a A/Texas/50/2012, 3 vírus B/Yamagata semelhantes a B/Massachusetts/2/2012 e um vírus B/Victoria semelhante a B/Brisbane/60/2008 (Gráfico 4). À exceção deste último, todos os restantes vírus analisados eram semelhantes às estirpes virais contempladas na vacina antigripal de 2013/2014 (4).

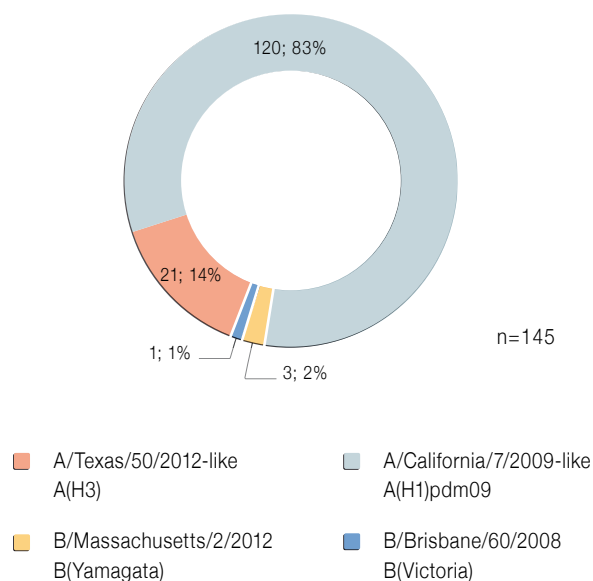
**Análise genética:** O LNRVG procedeu à análise genética (baseada na subunidade HA1 da hemaglutinina) de 45 vírus influenza: 25 A(H1)pdm09, 16 A(H3), 3 B/Yamagata e 1 B/Victoria.

Os vírus influenza A(H1)pdm09 caracterizados integram o grupo genético 6, representado pela estirpe A/St. Petersburg/27/2011, mais concretamente, no subgrupo 6B (representado por A/Norway/2417/2013), apresentando as substituições de aminoácidos K163Q, A256T e K283E na hemaglutinina viral.

Os vírus influenza A(H3) analisados pertencem ao grupo genético 3C (semelhantes a A/Texas/50/2012), mas distribuem-se por 2 subgrupos genéticos. Doze vírus pertencem ao subgrupo 3C.3 (representado pela estirpe de referência A/Samara/73/2013) e apresentam as substituições Q33R, T128A, R142G, N145S e N278K na hemaglutinina. Os restantes 4 vírus integram o subgrupo 3C.2 representado por A/Ireland/M28426/2013 (com as substituições Q33R, N145S e N278K).

Os vírus B/Yamagata caracterizados pertencem ao grupo genético 2 (representado por B/Massachusetts/2/2012) e apresentam as substituições R48K, P108A e T181A. A estirpe da linhagem B/Victoria pertence, por sua vez, ao grupo genético 1A representado por B/Brisbane/60/2008 com as substituições N75K, N165K, e S172P.

**Gráfico 4:** Caraterização antigénica das estirpes de vírus influenza A e B, isoladas na época 2013/2014.





**Suscetibilidade aos antivirais:** A vigilância da suscetibilidade do vírus da gripe aos antivirais é hoje uma das componentes da maior importância na Rede Europeia de Vigilância da Gripe, coordenada pelo ECDC e OMS, sendo a informação essencial à tomada de decisões relativas à prescrição dos antivirais, ao controlo de surtos e planos de contingência pandémicos (5). A responsabilidade da vigilância da suscetibilidade aos antivirais foi atribuída a laboratórios especializados, envolvidos na vigilância da gripe, como são os Laboratórios Nacionais de Referência para o Vírus da Gripe (6,7). Estes laboratórios têm capacidade para produzir atempadamente informação sobre a suscetibilidade aos antivirais, prestar apoio à decisão clínica, detetar precocemente estirpes resistentes e avaliar a sua capacidade de transmissão na comunidade e em meio hospitalar (7).

Presentemente a monitorização da suscetibilidade aos antivirais é realizada através da combinação de dois procedimentos laboratoriais: ensaios fenotípicos de inibição enzimática da neuraminidase (NA), utilizando o substrato fluorescente MUNANA (8), que permite determinar a concentração do antiviral necessária para reduzir a atividade enzimática em 50% ( $IC_{50}$ ) e ensaios genotípicos [sequenciação genómica da NA e RT-PCR para H275Y no A(H1)pdm09] para a identificação de substituições de aminoácidos que conferem resistência (5, 6, 9). Foram considerados *major outliers* os isolados que apresentaram um valor de  $IC_{50}$  superior à mediana+3SD, e *minor outliers* os valores de  $IC_{50}$  superiores à mediana+1.65SD. Para as estirpes virais que apresentaram valo-

res de  $IC_{50}$  considerados *outliers* foi realizada a análise genética, do gene da NA, para a pesquisa de marcadores associados a uma redução de sensibilidade aos antivirais.

Na presente época foram analisadas pelo teste fenotípico 89 estirpes do vírus influenza [73 A(H1)pdm09, 12 A(H3) e 4 B] para avaliação da suscetibilidade aos inibidores da NA, oseltamivir e zanamivir. Os vírus influenza do tipo A mostram uma sensibilidade semelhante para ambos os inibidores da NA. Os vírus influenza do tipo B exibem uma menor sensibilidade para ambos os antivirais, com maior evidência para o oseltamivir, quando comparados com os vírus influenza do tipo A (Tabela 1).

Todos os vírus influenza A(H1)pdm09 (n=73) revelaram uma inibição normal ao oseltamivir e zanamivir, tendo sido identificados 5 *minor outliers* para o oseltamivir e 14 *outliers* para o zanamivir (13 *minor outliers* e 1 *major outlier*). Em 270 vírus influenza A(H1)pdm09 foi igualmente pesquisada a substituição H275Y no gene da NA, associada à resistência ao oseltamivir, não tendo sido detetada em nenhum dos vírus estudados.

Os 9 vírus influenza A(H3) testados para o oseltamivir e zanamivir apresentaram uma inibição normal, com a deteção de 2 *minor outliers* para o oseltamivir e 1 *minor outlier* para o zanamivir.

Os 4 vírus influenza B, detetados na presente época, apresentaram inibição normal para os inibidores da NA, apesar de um vírus influenza B da linhagem Victoria ser considerado *minor outlier* para o oseltamivir e um vírus influenza B da linhagem Victoria ser considerado *minor outlier* para o zanamivir.

Tabela 1: Valores de linha de base  $IC_{50}$  para os vírus influenza A e B, na época de 2013/2014.

Época 2013/2014		Inibidores da Neuraminidase			
		Oseltamivir		Zanamivir	
Vírus influenza (sub)tipo	Nº de isolados (n)	Valor de $IC_{50}$ min.-máx.	Mediana ± Desvio-padrão robusto <sup>a)</sup> (nM)	Valor de $IC_{50}$ min.-máx.	Mediana ± Desvio-padrão robusto <sup>a)</sup> (nM)
A(H3)	12	0,34 - 0,90	0,57 ± 1,17	0,52 - 1,62	0,75 ± 1,39
A(H1)pdm09	73 <sup>b)</sup>	0,27 - 2,09	0,68 ± 1,68	0,21 - 1,66	0,59 ± 1,40
B	4 <sup>b)</sup>	11,71 - 48,99	17,61 ± 1,48	2,59 - 3,22	2,80 ± 1,07

<sup>a)</sup> Os valores de linha de base  $IC_{50}$  foram determinados pela análise estatística efetuada pelo programa *Robust Excel*

<sup>b)</sup> Sete estirpes A(H1)pdm09 e uma estirpe influenza B são provenientes da RPLDG.



artigos breves\_ n. 7

Os ensaios genómicos, para monitorização da suscetibilidade aos inibidores da NA dos vírus influenza A e B que incluem, para além de outros, os isolados considerados *outliers* nos testes fenotípicos, não evidenciaram qualquer substituição de aminoácidos associada à redução de suscetibilidade aos inibidores da NA.

### Conclusão

Na época de vigilância 2013/2014, a atividade gripal foi moderada ao longo de todo o inverno com taxas de incidência de casos de síndrome gripal semelhantes às verificadas na passada época de 2012/2013. O período epidémico foi mais precoce e de menor duração, relativamente ao inverno anterior. O vírus influenza do tipo A foi o predominantemente detetado neste inverno, com a co-circulação dos dois subtipos: vírus influenza A(H1)pdm09 e A(H3). Foram detetados três casos esporádicos do vírus influenza B. A análise genética das estirpes do vírus influenza A(H1)pdm09 e A(H3) revelou alguma evolução relativamente às estirpes vacinais da época 2013/2014, mantendo-se antígenicamente semelhantes a estas estirpes. Os vírus influenza B da linhagem Yamagata são genética e antígenicamente semelhantes à estirpe vacinal B/Massachusetts/2/2012.

A vigilância da suscetibilidade aos antivirais inibidores da neuraminidase para os vírus influenza A e B revelou que todas as estirpes apresentam uma inibição normal, sendo consideradas sensíveis ao oseltamivir e zanamivir.

### Agradecimentos

Os Autores agradecem: à Rede Portuguesa de Laboratórios para o Diagnóstico da Gripe, aos Médicos-Sentinela, aos Serviços de Urgência/Ginecologia e Obstetria e aos participantes no estudo EuroEVA; à Unidade de Tecnologia e Inovação do Departamento de Genética Humana do INSA; ao Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Doenças Infeciosas do INSA; à equipa do Laboratório da Gripe do "National Institute for Medical Research, Medical Research Council, Mill Hill, London"- Centro Mundial de Referência para a Europa da Organização Mundial da Saúde, coordenado pelo Doutor John McCauley; à Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

### Referências bibliográficas:

- (1) Nunes B, Viboud C, Machado A, *et al.* Excess mortality associated with influenza epidemics in Portugal, 1980 to 2004. *PLoS One*. 2011;6(6): e20661. doi:10.1371/journal.pone.0020661 [LINK](#)
- (2) Gonçalves P, Pechirra P, Conde P, *et al.* Programa Nacional de Vigilância da Gripe, Relatório da Época 2011/2012. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2013. [LINK](#)
- (3) Guiomar R, Conde P, Cristóvão P, *et al.* Programa Nacional de Vigilância da Gripe, Relatório da Época 2012/2013. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2013. [LINK](#)
- (4) Direção-Geral da Saúde. Orientação 012/2013 de 25/09/2013: Vacinação contra a gripe com a vacina trivalente para a época 2013/2014. [LINK](#)
- (5) Okomo-Adhiambo M, Nguyen HT, Abd Elal A, *et al.* Drug susceptibility surveillance of influenza viruses circulating in the United States in 2011-2012: application of the WHO antiviral working group criteria. *Influenza and Other Respir Viruses*. 2014;8(2):258-65.
- (6) Pozo F, Lina B, Andrade HR, *et al.* Guidance for clinical and public health laboratories testing for influenza virus antiviral drug susceptibility in Europe. *J Clin Virol*. 2013;57(1):5-12.
- (7) World Health Organisation. Meetings of the WHO working group on surveillance of influenza antiviral susceptibility – Geneva, November 2011 and June 2012. *Wkly Epidemiol Rec*. 2012;87(39):369-80. [LINK](#)
- (8) WHO Global Influenza Surveillance Network. Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. Geneva: World Health Organization, 2011. [LINK](#)
- (9) Okomo-Adhiambo M, Sleeman K, Lysén C, *et al.* Neuraminidase inhibitor susceptibility surveillance of influenza viruses circulating worldwide during the 2011 Southern Hemisphere season. *Influenza and Other Respir Viruses*. 2013;7(5):645-58.



## Resistência primária de *Helicobacter pylori* em doentes sintomáticos de dois hospitais da região de Lisboa

Mónica Oleastro<sup>1</sup>, Cristina Furtado<sup>2</sup>, Andrea Santos<sup>1</sup>, João Benoliel<sup>1</sup>, Paulo Ratilal<sup>3</sup>, Manuel Liberato<sup>4</sup>

monica.oleastro@insa.min-saude.pt

(1) Laboratório Nacional de Referência das Infecções Gastrointestinais. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

(2) Unidade de Referência e Vigilância Epidemiológica. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

(3) Unidade de Gastrenterologia, Hospital Cuf Descobertas.

(4) Centro de Gastrenterologia, Hospital Cuf Infante Santo

### Introdução

A infeção por *Helicobacter pylori* é crónica e estima-se que cerca de 50% da população mundial esteja infetada. Embora na maioria dos casos seja assintomática, a sua associação etiológica com a gastrite, úlcera péptica e adenocarcinoma gástrico está bem documentada (1). Dada a elevada prevalência da infeção por *H. pylori* e a sua relação com patologias gástricas graves, o aumento das resistências aos antibióticos tem vindo a constituir um problema crescente para o tratamento desta infeção (2).

Em 1993, foi proposta uma terapêutica que parecia responder a todos os requisitos necessários para um tratamento efetivo da infeção por *H. pylori*, que se baseava na utilização de fármacos com elevada capacidade de absorção e de libertação lenta na mucosa gástrica, com valores baixos de concentração mínima inibitória, e cuja ação fosse pouco afetada pela acidez gástrica.

Esta terapêutica é ainda hoje considerada como tratamento de primeira linha para a infeção por *H. pylori* e consiste na administração de dois antibióticos, usualmente claritromicina ou metronidazol em combinação com amoxicilina e com um composto antissecretor inibidor da bomba de prótons (3). Em caso de insucesso terapêutico, recorre-se às segundas linhas de tratamento, utilizando-se, por exemplo, a levofloxacina, em vez da claritromicina na terapêutica tripla, ou recorre-se a terapêuticas quádruplas, com ou sem sais de bismuto (4). Contudo, o aparecimento a nível mundial de estirpes de *H. pylori* resistentes aos antibióticos, em particular à claritromicina,

tem comprometido a efetividade dos tratamentos (5,6). Esta realidade tem posto em causa a utilização de terapêuticas empíricas com este antibiótico no tratamento da infeção por *H. pylori* (7).

### Objetivo

Este estudo teve como objetivo analisar o padrão de resistência primária aos antibióticos em estirpes *H. pylori*, isoladas de doentes sintomáticos que recorreram às Unidades de Gastrenterologia de dois hospitais da região de Lisboa, entre outubro de 2008 e maio de 2009.

### Materiais e métodos

Foi utilizado um modelo de estudo observacional, transversal. Foram incluídos no estudo todos os doentes, nascidos em Portugal, com sintomatologia do tubo digestivo superior, submetidos a endoscopia alta e sem antecedentes de terapêutica de erradicação anti *H. pylori*, que foram atendidos na Unidade de Gastrenterologia do Hospital Cuf Descobertas ou no Centro de Gastrenterologia do Hospital Cuf Infante Santo, entre outubro de 2008 e maio de 2009.

De cada doente elegível para o estudo, obteve-se uma amostra de biópsia gástrica, preferencialmente do antro. As amostras colhidas foram enviadas ao Laboratório Nacional de Referência das infeções gastrointestinais do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge I.P. (INSA) para diagnóstico laboratorial, acompanhadas de um inquérito com dados demográficos e clínicos dos doentes.

As amostras das biópsias gástricas foram cultivadas em meios seletivos apropriados (Biogerm e bioMérieux), incubadas a 37°C, em atmosfera de microaerofilia, durante 2 a 10 dias. Às estirpes *H. pylori* isoladas foi realizado o teste de suscetibilidade aos seguintes antibióticos: claritromicina, metronidazol, levofloxacina, tetraciclina, amoxicilina e rifabutina, utilizando tiras de E-test (bioMérieux).

A análise univariada dos dados foi feita recorrendo ao programa estatístico Epi-info versão 6. A intensidade da associação entre variáveis foi estudada aplicando o teste do  $\chi^2$ . Para todos os testes estatísticos utilizados foi considerado um nível de significância de 5%.



## \_Resultados

De um total de 136 doentes estudados, 102 (75%) foram positivos para *H. pylori*. A distribuição por género indicou uma razão de 1:1 homem:mulher. Quanto à distribuição por idade, observou-se que 74,5% (76/102) dos doentes eram adultos entre os 20 e os 82 anos e que 25,5% (26/102) tinham idades compreendidas entre os 3 e os 18 anos. Foi possível conhecer os resultados endoscópicos em 96 doentes, dos quais 60,4% apresentavam gastropatia não ulcerosa. A distribuição dos doentes infetados por *H. pylori* por idade, género e resultados endoscópicos encontra-se na **Tabela 1**.

A concentração mínima inibitória mostrou uma distribuição normal, bimodal para a claritromicina e para a levofloxacina, com uma separação clara entre as estirpes sensíveis e resistentes (**Gráfico 1A**). Para o metronidazol a distribuição foi mais contínua, com uma dispersão à volta do valor de *cut-off* (**Gráfico 1B**).

Da análise da **Tabela 2**, verificou-se que dos 102 doentes infetados por *H. pylori*, 42,2% (43/102) foram sensíveis a todos antibióticos testados. Na globalidade, a proporção de resistência primária para a claritromicina foi de 34,3% (35/102), para a levofloxacina de 24,5% (25/102) e para o metronidazol de 24,5% (25/102), com ou sem resistências simultâneas entre os fármacos. Observou-se um perfil de resistência a apenas um dos antibióticos em 35,5% (36/102) dos casos testados, sendo a monorresistência à claritromicina de 16,7% (17/102), à levofloxacina de 8,8% (9/102) e ao metronidazol de 9,8% (10/108). A resistência múltipla a dois dos três antibióticos testados foi observada em 19,6% (20/102) dos doentes, sendo o fenótipo mais frequente a resistência simultânea à claritromicina e à levofloxacina (7,8%; 8/102). Verificou-se ainda que três doentes (2,9%; 3/102) foram resistentes aos três antibióticos que constam da **Tabela 2**. Não foi detetada nenhuma estirpe resistente à tetraciclina, amoxicilina ou à rifabutina.

Na análise univariada, verificou-se que a resistência global de *H. pylori* à claritromicina foi superior nas crianças e jovens (idade <18 anos) e também no género masculino, embora as diferenças não tenham revelado significância estatística. No entanto, observou-se que os doentes com idades entre 19 e 39 anos tinham 2,15 vezes mais probabilidade de estarem infetados com estirpes de *H. pylori* resistentes

à claritromicina do que os doentes com idade acima dos 40 anos (46,7% vs 21,7%,  $p=0,022$ ; O.R.=2,15, IC95% [1,1-4,19]) (**Gráfico 2**). Em relação ao perfil de resistência global de *H. pylori* para o metronidazol observou-se um risco acrescido nos adultos quando comparados com as crianças e jovens com menos de 18 anos (31,6% vs 3,8%,  $p=0,0045$ ; OR=8,21, IC95% [1,17-57,57]) (**Gráfico 2**). Relativamente à levofloxacina, verificou-se uma resistência global superior nos adultos e no género feminino, sem significado estatístico.

## \_Discussão

A resistência aos antimicrobianos constitui hoje um dos maiores problemas a nível mundial e a resistência da bactéria gástrica *H. pylori* não é exceção.

Apesar das limitações do estudo, nomeadamente o viés de seleção inerente à população alvo, os resultados obtidos sugerem a existência de uma resistência primária elevada aos antibióticos de primeira e segunda linhas utilizados no tratamento da infeção por *H. pylori*. Acresce que, foram incluídos no estudo indivíduos que nunca fizeram terapêutica prévia para a infeção por *H. pylori*. Este facto revela, só por si, que as resistências encontradas resultam da exposição dos doentes a estes antibióticos para o tratamento de outras infeções, refletindo o seu reconhecido uso, por vezes empírico e excessivo.

Este facto está muito bem documentado num estudo multicêntrico Europeu recente sobre resistências de *H. pylori* aos antimicrobianos, no qual Portugal também participou (8). O estudo mostrou que a resistência primária de *H. pylori* à claritromicina e à levofloxacina foi significativamente mais elevada nos países da Europa Central e do Sul (>20%) do que nos países do Norte da Europa (<10%). Foi também demonstrada uma forte correlação entre as resistências de *H. pylori* e o consumo de antibióticos em ambulatório em cada país. Com base em dados de consumos, Portugal ocupava em 2005 a terceira posição no consumo de macrólidos e a primeira posição no consumo de quinolonas (8).

Diversos trabalhos mostram que a resistência à claritromicina decresce a taxa de efetividade da terapêutica tripla empírica até



artigos breves\_ n. 8

70% (5, 6). Em consequência, a Conferência de Maastricht III não recomenda a utilização desta terapêutica como primeira linha de um tratamento empírico, em países onde a taxa de resistência primária à claritromicina seja superior a 15-20% (9). Tendo em conta a resistência primária à claritromicina (34,3%) encontrada neste estudo, esta recomendação deve ser considerada em Portugal, principalmente quando existem alguns condicionamentos no nosso país relativos à disponibilidade de fármacos de segunda linha, como sejam a não comercialização do bismuto e da forma farmacêutica em xarope do metronidazol, ou o uso restrito da rifabutina devido ao problema das resistências na tuberculose (10). Assim, perante a resistência primária à claritromicina em Portugal, a melhor alternativa será a utilização de esquemas terapêuticos que incluam a levofloxacina. Contudo, e tendo em conta a elevada prevalência da infeção por *H. pylori* em Portugal (11), é de realçar que este estudo indicou igualmente uma resistência primária elevada à levofloxacina (24,5%), bem como a existência de estirpes resistentes em simultâneo à claritromicina e à levofloxacina, e até mesmo aos três antibióticos mais prescritos para o tratamento desta infeção.

Em conclusão, e cientes das limitações do estudo, este trabalho sugere fortemente a necessidade de uma vigilância ativa a nível nacional da infeção e das resistências por *H. pylori*, tendo em vista o estabelecimento de uma estratégia terapêutica fundamentada e assente em testes de suscetibilidade para *H. pylori* no nosso país.

Referências bibliográficas:

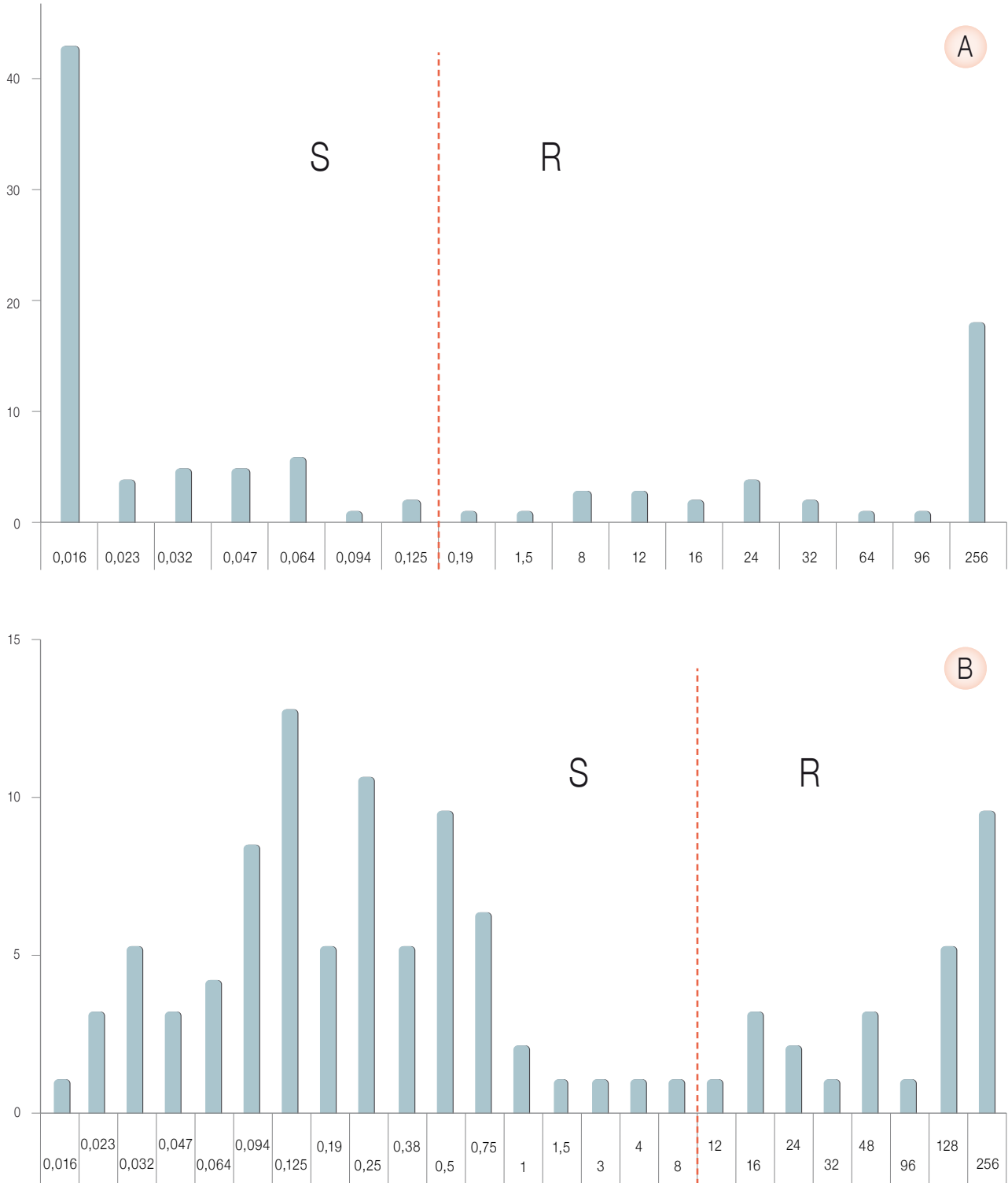
- (1) Blaser MJ. Ecology of *Helicobacter pylori* in the human stomach. *J Clin Invest.* 1997;100(4):759-62. [LINK](#)
- (2) Boyanova L, Mitov I. Geographic map and evolution of primary *Helicobacter pylori* resistance to antibacterial agents. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010;8(1):59-70.
- (3) Lind T, Veldhuyzen van Zanten S, Unge P, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* using one-week triple therapies combining omeprazole with two antimicrobials: the MACH I Study. *Helicobacter.* 1996; 1(3):138-44.
- (4) Mégraud F. *H. pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut.* 2004;53(9):1374-84. [LINK](#)
- (5) Mégraud F. Current recommendations for *Helicobacter pylori* therapies in a world of evolving resistance. *Gut Microbes.* 2013;4(6):541-8.
- (6) Fischbach L, Evans EL. Meta-analysis: the effect of antibiotic resistance status on the efficacy of triple and quadruple first-line therapies for *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;26(3):343-57. [LINK](#)
- (7) Wenzhen Y, Yumin L, Quanlin G, et al. Is antimicrobial susceptibility testing necessary before first-line treatment for *Helicobacter pylori* infection? Meta-analysis of randomized controlled trials. *Intern Med.* 2010;49(12):1103-9. [LINK](#)

- (8) Mégraud F, Coenen S, Versporten A, et al.; Study Group participants. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption. *Gut.* 2013;62(1):34-42.
- (9) Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain C, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut.* 2007;56(6):772-81. [LINK](#)
- (10) Almeida N, Romãozinho JM, Donato MM, et al. Triple Therapy with High-Dose Proton-Pump Inhibitor, Amoxicillin, and Doxycycline Is Useless for *Helicobacter pylori* Eradication: a Proof-of-Concept Study. *Helicobacter.* 2014;19(2):90-7.
- (11) Oleastro M, Pelerito A, Nogueira P, et al. Prevalence and incidence of *Helicobacter pylori* infection in a healthy pediatric population in the Lisbon area. *Helicobacter.* 2011;16(5):363-72.

Tabela 1: Distribuição das características demográficas e clínicas dos 102 doentes com infeção por *Helicobacter pylori*.

Variável	N	%
Idade (anos)	102	
Grupos etários		
0-4	2	2,0
5-14	15	14,7
15-19	9	8,8
20-39	30	29,4
40-59	33	32,4
≥ 60	13	12,7
Género		
Feminino	53	52,0
Masculino	49	48,0
Resultados endoscópicos		
Esofagite	12	12,5
Doença refluxo gastroesofágico	16	16,7
Gastropatia não ulcerosa	58	60,4
Normal	2	2,1
Outros	2	2,1
Úlcera péptica	6	6,3

Gráfico 1: ↓ Distribuição das concentrações mínimas inibitórias de (A) claritromicina e (B) metronidazol para *Helicobacter pylori*.



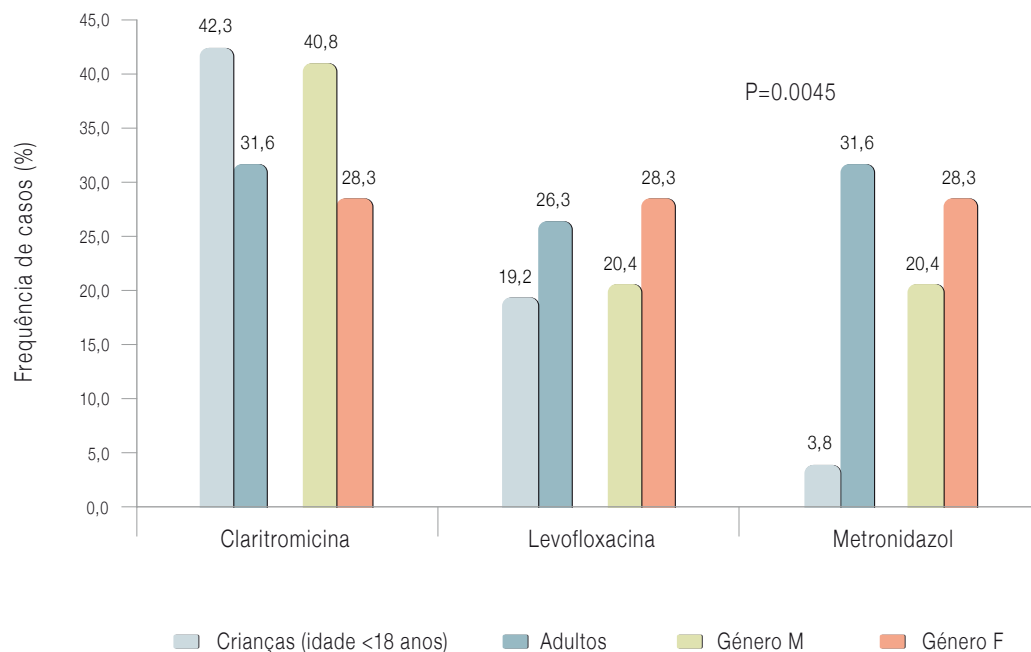
As linhas a tracejado correspondem aos cut-offs EUCAST para esta bactéria ("The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0, 2014. <http://www.eucast.org>)

Tabela 2: Perfil de suscetibilidade aos antibióticos claritromicina, levofloxacina e metronidazol das 102 estirpes de *Helicobacter pylori*.

Perfil de suscetibilidade aos antibióticos			
Claritromicina	Levofloxacina	Metronidazol	Nº de doentes (%)
S	S	S	43 (42,2)
R	S	S	17 (16,7)
S	R	S	9 (8,8)
S	S	R	10 (9,8)
R	R	S	8 (7,8)
R	S	R	7 (6,9)
S	R	R	5 (4,9)
R	R	R	3 (2,9)
			102 (100%)

S = sensível R = resistente

Gráfico 2: Distribuição das frequências de resistência global de *Helicobacter pylori* aos antibióticos claritromicina, levofloxacina e metronidazol, por idade e género.





## Hidatidose quística humana: análise retrospectiva de casos diagnosticados e em monitorização entre 2008 e 2013

Tânia Reis<sup>1</sup>, Anabela Vilares<sup>1</sup>, Idalina Ferreira<sup>1</sup>,  
Susana Martins<sup>1</sup>, Cristina Furtado<sup>2</sup>, Maria João Gargaté<sup>1</sup>

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

(1) Laboratório Nacional de Referência de Infeções Parasitárias e Fúngicas, INSA.  
(2) Unidade de Referência e Vigilância Epidemiológica. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

### Introdução

A hidatidose ou equinococose quística é uma doença parasitária zoonótica causada pelo estado larvar do cestoda *Echinococcus granulosus*. Este parasita tem como hospedeiro definitivo o cão, que alberga o verme adulto, e como hospedeiros intermediários diversos herbívoros, em particular os ovinos, bovinos, caprinos e suínos, portadores da forma larvar. O homem infeta-se pela ingestão acidental de ovos de *Echinococcus granulosus*, através da manipulação dos solos, da ingestão de frutas ou verduras mal lavadas, do contacto com poeiras ou com o pelo de animais que contenham ovos, tornando-se desta forma hospedeiro intermediário. Deste modo pode também desenvolver a forma larvar que irá parasitar órgãos como o fígado, os pulmões e o cérebro, desenvolvendo-se nestes uma enorme vesícula - quisto hidático. Os quistos hidáticos alojam-se preferencialmente no parênquima hepático (50-70%) e pulmonar (5-30%) (1).

A infeção pode ser assintomática ou manifestar-se de diferentes formas em função do tamanho e localização dos quistos e de complicações clínicas subsequentes, nomeadamente a rutura quística intrabiliar, que ocorre em 15-40% dos casos. Outras possíveis complicações são a compressão vascular, rutura da cavidade abdominal/pleural, infeção do quisto hidático, choque anafilático, sépsis e morte (1).

O tratamento mais comum é a remoção cirúrgica do quisto, complementado pela terapêutica com anti-helmínticos. O sucesso do tratamento verifica-se em 90% dos doentes, quando o quisto não está numa localização de risco ou quando a doença não estiver em fase avançada (2). No entanto, a cirurgia poderá não ser

possível em doentes com múltiplos quistos em vários órgãos (3). A estratégia de prevenção da doença assenta nos cuidados de saúde primários, através da adoção de hábitos de higiene saudáveis que limitem o contágio do homem pelo cão, da inspeção das carnes e do tratamento das águas nos meios rurais (3).

O diagnóstico da infeção baseia-se na maior parte das vezes na sintomatologia do doente, na imagiologia e no diagnóstico serológico laboratorial. Este último é efetuado por identificação e titulação de anticorpos (AC) específicos anti-*Echinococcus granulosus*. As imunoglobulinas da classe G (IgG) são as mais frequentes no soro do doente, mas a resposta humoral é condicionada por vários fatores, tais como as características genéticas do hospedeiro e do parasita e também a localização e viabilidade do quisto hidático (2).

A hidatidose quística apresenta uma distribuição geográfica à escala mundial, especialmente em regiões onde os habitantes vivem em condições sanitárias precárias e próximo de animais, sendo a Bacia Mediterrânea uma área em que esta parasitose assume maior relevância (4,5). Portugal encontra-se entre os países considerados pela Organização Mundial da Saúde como endémico com uma incidência nacional estimada em 2,2 casos/100 000 habitantes (3). No entanto, há estudos que indicam que este quadro epidemiológico está confinado à região do Alentejo, em particular aos concelhos de Elvas, Alandroal e Campo Maior (5,6).

Em Portugal, a equinococose é uma Doença de Declaração Obrigatória (DDO), conforme Portaria nº 1071/98 de 31 de dezembro. De acordo com a última edição do relatório da DGS, intitulado "Doenças de Declaração Obrigatória 2009-2012" (volume I), foram notificados, em Portugal 11 casos, todos em adultos, nestes 4 anos (7).

Em relação à Europa, no Relatório Epidemiológico Anual de 2013 publicado pelo ECDC é referida uma incidência de equinococose de 0,18/100 000 habitantes na população da União Europeia em 2011, sendo a Bulgária o país que apresenta maior incidência (4,09 casos/100 000 habitantes), contando com 39% do número total de casos notificados (8).



## \_Objetivo

Este estudo tem como objetivos: (i) descrever as características demográficas da hidatidose humana, em doentes com quadro clínico compatível e cujo diagnóstico laboratorial foi confirmado no Laboratório Nacional de Referência de Infecções Parasitárias e Fúngicas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre janeiro de 2008 e dezembro de 2013; (ii) descrever as características demográficas e conhecer os resultados da pesquisa de anticorpos IgG em doentes com hidatidose, que após tratamento cirúrgico, foram seguidos no INSA entre janeiro de 2008 e dezembro de 2013.

## \_Material e métodos

Foi realizada uma análise retrospectiva dos resultados laboratoriais de todos os casos com suspeita clínica de hidatidose quística, que recorreram ao Laboratório Nacional de Referência de Infecções Parasitárias e Fúngicas do INSA, para confirmação ou exclusão do diagnóstico, entre janeiro de 2008 e dezembro de 2013. Concomitantemente, foram também analisados os resultados laboratoriais de doentes com hidatidose que, após tratamento cirúrgico, foram seguidos no INSA no mesmo período de tempo. Foram analisados os dados demográficos de cada doente elegível para o estudo em cada um dos dois grupos em apreciação. As metodologias de diagnóstico laboratorial utilizado foram ELISA comercial (Vircell), ELIEDA "in house" e Immunoblot comercial (Ldbio Iberlab).

## \_Resultados

Entre janeiro de 2008 e dezembro de 2013 foram analisadas 992 amostras de soros, das quais 591 (59,6%) pertenciam a doentes com suspeita clínica de hidatidose quística, que foram enviadas ao INSA para confirmação ou exclusão do diagnóstico (grupo A), e 401 (40,4%) eram casos de hidatidose quística já confirmados, que após tratamento cirúrgico, foram também enviados ao INSA para monitorização laboratorial (grupo B).

No *Gráfico 1* encontra-se representada a distribuição de todos os casos estudados: casos clínicos suspeitos - grupo A (n=591) e em monitorização - grupo B (n=401) entre 2008 e 2013. Verificou-se que no grupo A foram confirmados laboratorialmente 22% (130/591) dos casos suspeitos e no grupo B obteve-se um título de anticorpos

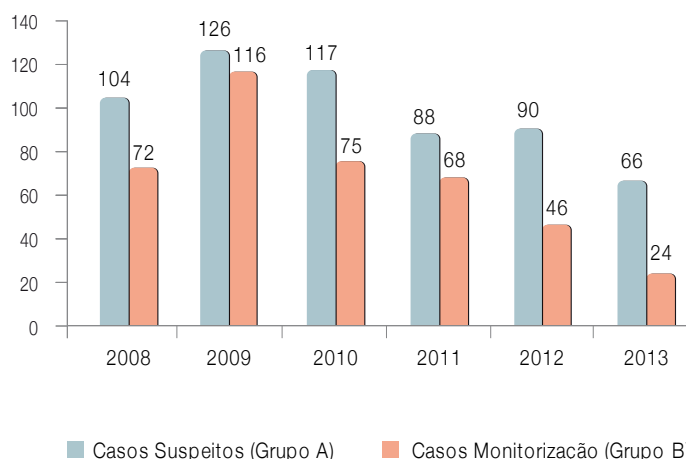
positivo em 71% (285/401) dos doentes em monitorização após tratamento cirúrgico (*Tabela 1*).

**Tabela 1:** Resultados da pesquisa de anticorpos dos casos suspeitos (grupo A) e casos em monitorização (grupo B), 2008-2013.

Grupo A – 591 casos		Grupo B – 401 casos	
Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
130	461	285	116
(22%)	(78%)	(71%)	(29%)

Foi possível conhecer a informação imagiológica em 25% (240/992) dos casos de ambos os grupos em análise. Da informação disponível verificou-se que em 80,5% dos casos a localização do quisto foi hepática, em 10,8%, a localização foi simultaneamente hepática e pulmonar em 2,2% foi cardíaca e em 1,1% a localização foi óssea.

**Gráfico 1:** Distribuição anual dos casos suspeitos (grupo A) e em monitorização (grupo B), 2008-2013.

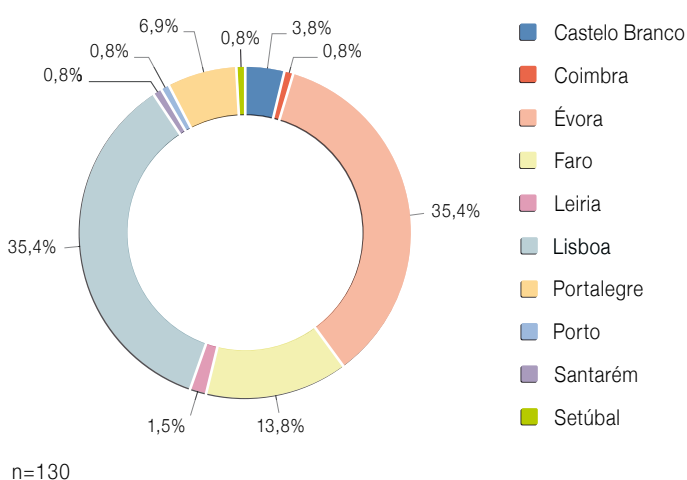


artigos breves\_ n. 9

Distribuição de casos dos grupos A e B por distrito de residência

A maioria dos casos pertencentes ao grupo A, confirmados no INSA durante 2008 e 2013, eram residentes nos distritos de Évora (46/130; 35,4%) e de Lisboa (46/130; 35,4%), seguidos do distrito de Faro (18/130; 13,8%) (Gráfico 2). Quanto aos casos positivos em monitorização pós cirurgia verificou-se que o distrito de Évora contribuiu para 85,3% (243/285) dos casos analisados (Gráfico 3).

Gráfico 2: Distribuição dos casos positivos para *Echinococcus granulosus* pertencentes ao grupo A por distrito de residência, 2008-2013.



Distribuição de casos dos grupos A e B por género e grupo etário

Dos 130 novos casos do grupo A confirmados ao longo do período em estudo, 54% (70/130) pertencem ao género feminino.

Durante os seis anos em avaliação foram confirmados 5 casos em crianças com idade inferior a 11 anos. Observou-se ainda que 72% (94/130) dos casos ocorreram em adultos com idade igual ou superior a 31 anos, sendo o grupo etário superior a 70 anos o que revelou uma maior número de infeções por *Echinococcus granulosus* 25% (33/130) (Gráfico 4).

Gráfico 3: Distribuição dos casos positivos para *Echinococcus granulosus* pós tratamento cirúrgico pertencentes ao grupo B por distrito de residência, 2008-2013.

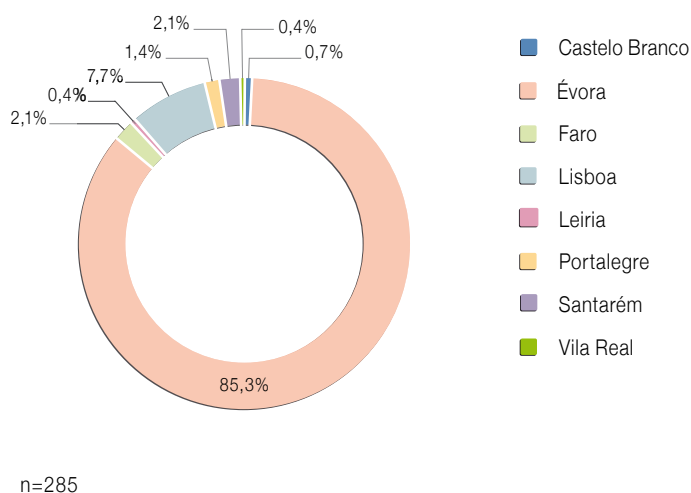


Gráfico 4: Distribuição dos casos positivos para *Echinococcus granulosus* pertencentes ao grupo A por grupo etário, 2008-2013.

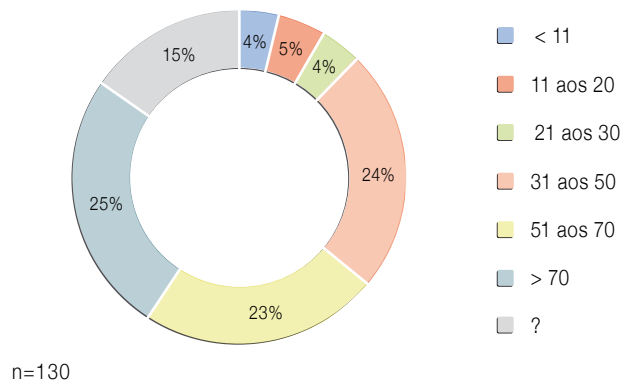
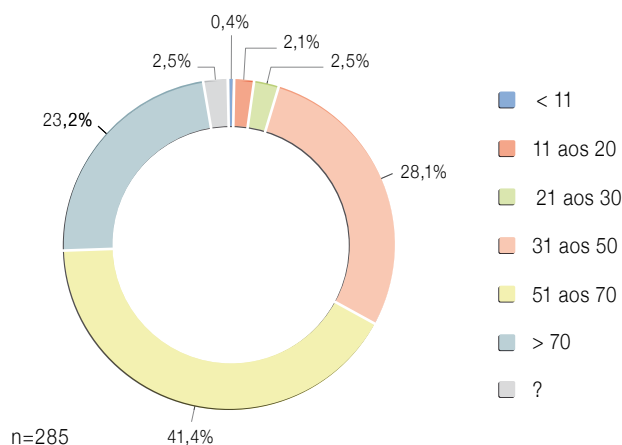


Gráfico 5: Distribuição dos casos positivos para *Echinococcus granulosus* pertencentes ao grupo B por grupo etário, 2008-2013.





Relativamente ao grupo dos doentes em monitorização do grupo B, 58% (165/285) dos casos positivos pertenciam ao género feminino. Verificou-se que o grupo etário 51-70 anos (41,4%, 118/285) foi o que apresentou maior número de doentes com resultado serológico positivo para *Echinococcus granulosus* após tratamento cirúrgico, seguido do grupo etário 31-50 anos (28,1%, 80/285). Dos 2 doentes com idade inferior a 11 anos do grupo B, apenas um confirmou serologia positiva para a hidatidose após cirurgia (*Gráfico 5*).

### Discussão e conclusões

No presente estudo observou-se uma diminuição gradual ao longo dos anos do número de doentes com suspeita clínica de hidatidose quística que recorreram ao INSA, para confirmação ou exclusão do diagnóstico (grupo A) entre janeiro de 2008 e dezembro de 2013. Para além de outras razões passíveis de explicar este facto, o mesmo pode também atribuir-se a uma maior informação da população, e consequentemente a uma maior atuação a nível da prevenção primária, como é exemplo a desparasitação regular dos cães, que constituem um dos principais elos de transmissão desta doença ao homem.

Em relação aos doentes em monitorização (grupo B), que após tratamento cirúrgico mantiveram as provas serológicas positivas (71%; 285/401), a literatura indica como causas, a não remoção total do quisto hidático, cuja consequência se traduz numa estimulação contínua do sistema imunitário do hospedeiro ou, a presença de moléculas antigénicas provenientes da atividade de outros quistos, na mesma localização ou em localizações diferentes (2). Contudo, o facto dos resultados serológicos serem negativos ou negativarem durante a monitorização dos doentes num curto período de tempo, não significa, por si só, a cura da doença. As reativações serológicas podem ocorrer, como resultado de uma maior estimulação do sistema imunitário, e verificam-se muitas vezes no período pós-operatório (2). De facto, uma reativação serológica sem cirurgia prévia pode significar reativação de um quisto antigo primário ou mesmo secundário (2,3). Acresce que, neste estudo, verificámos ainda que aproximadamente 80% dos quistos hidáticos tiveram localização hepática, o que está de acordo com o descrito na literatura (3,6).

Nos dois grupos de doentes em estudo verificou-se uma maior frequência de casos de hidatidose quística humana na população feminina. Em relação à idade, foram confirmados mais casos de doença em adultos com idade superior a 31 anos pertencentes ao grupo A e, também, nos adultos em monitorização acima dos 51 anos do grupo B. Entre 2008 e 2013, o INSA avaliou 7 casos de doença em crianças com menos de 11 anos de ambos os grupos A e B. De facto, e apesar da situação ter melhorado nas últimas décadas em termos de saúde animal, são importantes os casos humanos observados, quer em adultos, quer em crianças. O grupo etário das crianças é um verdadeiro indicador da incidência desta doença, de desenvolvimento lento, e cujo diagnóstico ocorre frequentemente várias décadas após o início do parasitismo (4).

Este estudo sugere, ainda, que a hidatidose quística humana pode ser endémica no distrito de Évora (35,4% de casos do grupo A; 85,3% de casos do grupo B). Em conclusão, e apesar das limitações da amostra de doentes envolvidos, muito provavelmente associadas a vieses de referenciação, esta constatação prova, por si só, a importância de se instituir uma vigilância ativa desta parasitose, que permita uma intervenção de saúde pública atempada e direcionada às populações alvo.

### Referências bibliográficas:

- (1) Eckert J, Thompson RC. Intraspecific variation of *Echinococcus granulosus* and related species with emphasis on their infectivity to humans. *Acta Trop*. 1997 Apr 1;64(1-2):19-34.
- (2) Galitza Z, Bazarsky E, Sneider R, et al. *Echinococcus granulosus*: effect of repeated chemotherapeutic treatment after surgical cyst removal on specific anti-echinococcal antibody activities. IX European Multicolloquium of Parasitology. Spain, 2004.
- (3) Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, et al. (eds). WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. France: World Organisation for Animal Health/ World Health Organization, reprint. 2002. [LINK](#)
- (4) David de Morais J. The issue concerning diffusion of echinococcosis/hydatidosis in Portugal: the role of transhumance". XVIII International Congress of Hydatidology, 1997.
- (5) David de Morais J. A Hidatidologia em Portugal. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1998. (Manuais universitários).
- (6) David de Morais J. Evolução da ocorrência da Hidatidose humana em Portugal: a falácia da hiperendemicidade. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas* 2013 jan-abr; 9(1):9-17.
- (7) Direção-Geral da Saúde. Doenças de Declaração Obrigatória 2009-2012. Lisboa: DGS, 2013. Vol. 1. [LINK](#)
- (8) European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2013. Stockholm: ECDC, 2013. [LINK](#)



## ficha técnica

**\_ Título:** Boletim Epidemiológico Observações

**\_ Periodicidade:** Trimestral

**\_ ISSN:** 2182-8873 (em linha)

**\_ ISSN:** 0874-2928

**\_ Numeração:** 2ª série

Volume 3, número 8

Abril-junho 2014

**\_ Diretor**

José Pereira Miguel, Presidente do INSA

**\_ Editores**

Carlos Matias Dias, Departamento de Epidemiologia

Elvira Silvestre, Biblioteca da Saúde

**\_ Conselho Editorial Científico**

Carlos Matias Dias, Departamento de Epidemiologia

Manuela Cano, Departamento de Saúde Ambiental

Jorge Machado, Departamento de Doenças Infecciosas

Manuela Caniça, Conselho Científico do INSA

Peter Jordan, Departamento de Genética Humana

Silvia Viegas, Departamento de Alimentação e Nutrição

Natércia Miranda, Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis

Layout - Nuno Almodovar Design, Lda | Composição e paginação - Francisco Tellechea

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2014.

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](http://www.insa.pt)