



2013

numero:

05

2ª série

Lisboa\_INSA, IP

public. trimestral \_ Julho - Setembro

ISSN: 2182 - 8873 (em linha)

# Observações

Boletim Epidemiológico

## editorial

### Promover a promoção da saúde

Realizaram-se, recentemente, duas reuniões da maior relevância no âmbito da promoção da saúde nas quais tive o privilégio de participar em representação do INSA:

a 8ª Conferência Global da Organização Mundial da Saúde sobre a Promoção da Saúde (Helsínquia – Finlândia)

o encontro da Rede Europeia Regional para a Equidade na Saúde (Roma, Itália)

Em ambas as reuniões a palavra de ordem foi – **Ação** – para o que entre nós, frequentemente, se traduz em inação, desvalorização e até desprezo, pelo conhecimento científico e prática da prevenção integrada das doenças crónicas. Entre nós, estas são vistas por vários sectores como “responsabilidade individual”, num ambiente sem visão, frequentemente hostil e totalmente à mercê das forças do mercado.

Presidentes, ministros, delegados nacionais e sociedade civil, juntaram-se em Helsínquia para reafirmarem o que há muito se sabe e que sai reforçado da Conferência.

*“Aprofundamos a nossa compreensão sobre o modo de integrar a saúde no desenvolvimento de todas as políticas e, deste modo, melhorar a saúde e a equidade em saúde, ao mesmo tempo que alcançamos outros objetivos sociais”* (Susanna Huovinen – Ministra da Saúde e Serviços Sociais, Finlândia).

O Presidente da República da Finlândia – Sauli Niistö realçou que

*“Muita da saúde é proveniente de sectores exteriores ao da saúde o que ilustra como decisões políticas nos diversos sectores podem influenciar os determinantes do bem-estar. No final da 2ª guerra mundial a nossa situação não era particularmente boa. Desde então trabalhamos arduamente para corrigir a situação o que foi acompanhado por desenvolvimentos positivos nos domínios da educação e da economia. O trabalho foi desenvolvido através de uma forte colaboração entre o governo, as autoridades locais, os profissionais, as organizações cívicas, peritos e o sector privado. Obviamente que a pedra de toque foi o grande envolvimento da população.”*

Pekka Puska, diretor do Instituto Nacional de Saúde e Bem-Estar pode, através do seu exemplo, ação e estratégia, afirmar

*“A Finlândia está numa posição avançada para enfrentar os problemas de saúde do futuro como resultado das nossas ações e experiências em saúde pública passadas e presentes”.*

[→ continua](#)

## neste número

**Editorial** Promover a promoção da saúde José M. Calheiros p 01

## Artigos Breves

**1. Avaliação da qualidade de águas subterrâneas:** estudo de alguns parâmetros físico-químicos p 03  
Catarina Mansilha, Helena Rebelo

**2. Estudos de especiação de arsénio em arroz** p 06  
Inês Coelho, Sandra Gueifão, Tânia Pinto, Isabel Castanheira

**3. Aplicação de scores de gravidade à anemia das células falciformes:** um problema ainda por resolver p 08  
Andreia Coelho, Alexandra Dias, Anabela Moraes, Baltazar Nunes, Paula Faustino e João Lavinha

**4. Variantes genéticas estruturais numa população de indivíduos com Perturbações do Espectro do Autismo (PEA):** caracterização genómica, heritabilidade e correlações clínicas p 10  
I Conceição, C Correia, B Oliveira, M Rama, G Oliveira, AM Vicente

**5. Mesoteliomas: breve caracterização da situação portuguesa a partir dos episódios de internamento hospitalar ocorridos no período 2000-2011** p 14  
Mariana Neto

**6. O primeiro caso de botulismo infantil em Portugal** p 17  
M Saraiva, I Campos Cunha, C Costa Bonito, C Pena, MM Toscano, TT Lopes, I Sousa, MA Calhau

**7. Infecção VIH e SIDA em homens que têm sexo com homens em Portugal (1983-2012):** caracterização dos casos notificados p 19  
Helena Cortes Martins

**8. Infecção por parvovírus B19 durante a gravidez:** análise retrospectiva de casos suspeitos diagnosticados no INSA (2009-2012) p 22  
Sílvia Lopo, Tânia Reis, Paula Palminha, Elsa Vinagre, Maria João Gargaté

**9. Valor de prognóstico da determinação do estado físico do DNA do Vírus do Papiloma Humano (HPV) dos tipos 16 e 18 no desenvolvimento de lesões do colo do útero** p 25  
Ana Gradissimo, Nuno Verdasca

**10. Diagnóstico da infeção por vírus da hepatite E no INSA, 2000-2012** p 27  
CM Ferreira, JA Santos, T Lourenço, C Benoliel, R Matos, HC Martins

**11. Diagnóstico imunológico de doenças associadas a vectores existentes em Portugal** p 29  
MJ Alves, T Luz, AS Santos, R De Sousa, I Lopes de Carvalho, L Zé-Zé, F Amaro, P Parreira, MS Nuncio

**Notícia** p 31  
Resultados preliminares do estudo e\_COR da região de Lisboa e da região Centro



Instituto Nacional de Saúde  
Doutor Ricardo Jorge

## editorial\_

\_A esta visão junta-se o trabalho científico associado à ação e *advocacy* desenvolvido por Sir Michael Marmot que nos interroga – o que andam a fazer os *leaders* da Europa ?

\_O seu estudo dos determinantes sociais da saúde <sup>(1)</sup> revela que

*“parte das diferenças entre os diversos países europeus no domínio da saúde se deve a diferenças na exposição a fatores preveníveis resultantes de iniquidades nos determinantes sociais de comportamentos e estilos de vida – tabaco, álcool, dieta não saudável, cancro do cervix, situações que levam aos acidentes de viação, condições de trabalho perigosas ou stressantes, poluição atmosférica e diferenças na acessibilidade e qualidade dos serviços de saúde.”*

\_Por proposta do UCL Institute of Health Equity o objetivo principal da reunião de Roma é a criação de redes regionais na Europa que possibilitem apoiar e sustentar a ação global sobre os determinantes da saúde, melhorar a saúde das populações e reduzir as iniquidades entre os países.

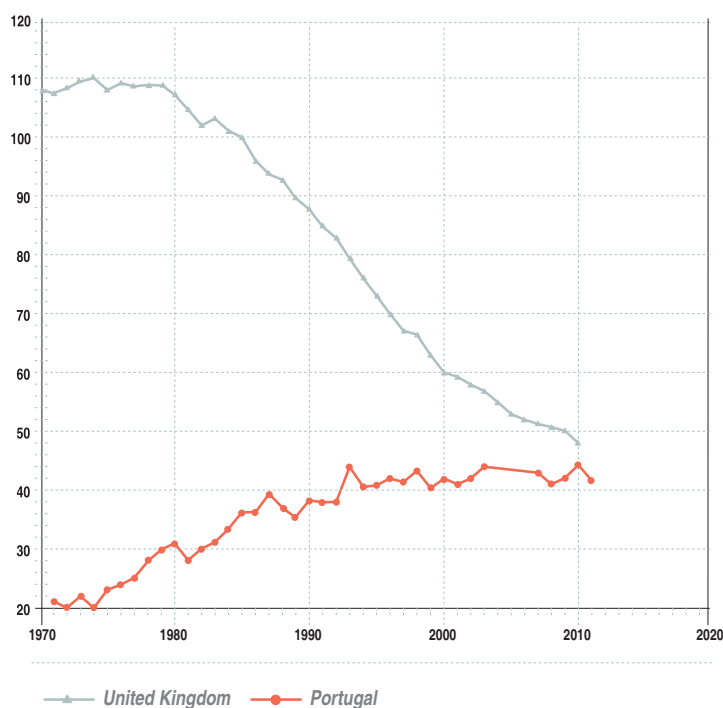
\_Como se depreende, a Portugal exige-se também uma profunda reformulação das políticas públicas incluindo a da saúde, promovendo cada vez mais a sustentabilidade do nosso Serviço Nacional de Saúde.

\_Este boletim documenta também o caminho que o INSA deverá percorrer. No Instituto desenvolve-se trabalho muito meritório em diversos domínios relevantes como os trabalhos apresentados ilustram. Contudo, importa dar também um passo gigante no crescimento de um moderno Instituto de Saúde Pública, reforçando competências e saber nos domínios anteriormente referidos. O Estudo e-COR é disto exemplo, aguardando-se com expectativa os seus resultados globais.

\_Entretanto, porque uma imagem vale mais que mil palavras fica uma pergunta – porquê ?

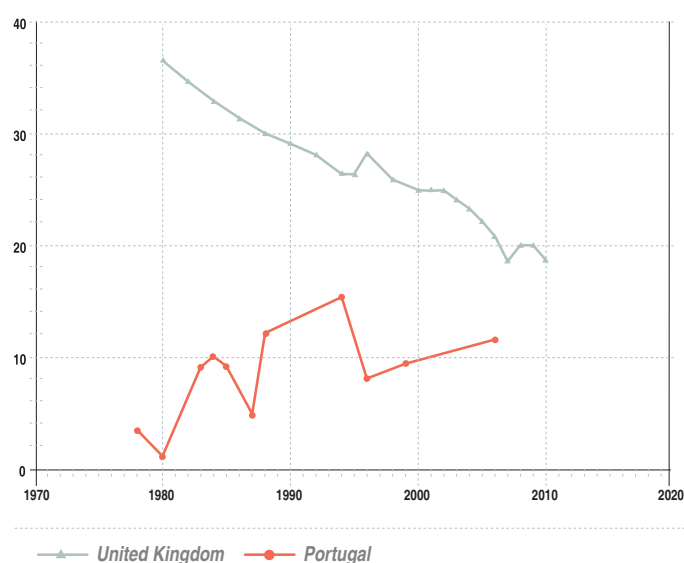
José M. Calheiros,  
Vogal do Conselho Diretivo do INSA, Professor Catedrático de Medicina Preventiva (UBI)

### SDR, trachea/bronchus/lung cancer, all ages per 1000000, male



**Homens (1970 - 2011):** Cancro da traqueia, brônquios e pulmão.  
Taxas de mortalidade padronizadas / 100000 habitantes.  
Fonte: WHO, HFA data base, 2013

### % of regular daily smokers in the population, age 15 +, female



**Mulheres 15 + anos (1980 - 2010):** Percentagem de fumadoras regulares.  
Fonte: WHO, HFA data base, 2013

### Referência bibliográfica:

- (1) Marmot M, Allen J, Bell R, Bloomer E, Goldblatt P, on behalf of the Consortium for the European Review of Social Determinants of Health and the Health Divide.  
WHO European review of social determinants of health and the health divide.  
Lancet 2012; 380 (9846): 1011–29

artigos breves\_ n. 1

## Avaliação da qualidade de águas subterrâneas: estudo de alguns parâmetros físico-químicos

Catarina Mansilha, Helena Rebelo

helena.rebelo@insa.min-saude.pt

Departamento de Saúde Ambiental, INSA.

### Introdução

Atendendo à conjuntura económica do país e ao atual panorama tarifário, tem vindo a aumentar o consumo de água subterrânea por parte das populações que recorrem, cada vez com maior frequência, a furos, poços, minas e nascentes para uso doméstico. Esta tendência tem sido verificada nos Laboratórios de análise de águas do INSA, havendo registo de um aumento significativo do número de pedidos de análise de águas subterrâneas de captações particulares destinadas ao consumo humano.

A qualidade da água para consumo humano segue o disposto no decreto-lei n.º 306/2007 de 27 de agosto que tem por objetivo garantir a salubridade da água caracterizada pela ausência de microrganismos patogénicos ou substâncias químicas em concentrações que constituam um perigo potencial para a saúde humana. No respeitante à água subterrânea, o decreto-lei n.º 208/2008 de 28 de outubro estabelece o regime de proteção destas águas contra a poluição e deterioração, transpondo para a ordem jurídica interna a diretiva n.º 2006/118/CE <sup>(1)</sup> do Parlamento Europeu e do Conselho, de 12 de dezembro. Refere este decreto que, tendo em conta a necessidade de obter níveis de proteção adequados, dever-se-ão cumprir os critérios já fixados para nitratos e pesticidas, exigindo-se aos Estados-Membros o estabelecimento de normas de qualidade para uma lista de poluentes / indicadores constante do anexo II da diretiva, bem como para um conjunto de outros parâmetros considerados pertinentes para o não cumprimento dos objetivos da Diretiva-Quadro da Água <sup>(2)</sup>.

Alguns países estabeleceram já limiares, tendo fundamentalmente por base padrões de água potável.

Este trabalho objetivou uma avaliação global da qualidade das águas subterrâneas no que respeita a alguns poluentes/indicadores e sua adequação para fins domésticos.

### Metodologia

Trabalho resultante de um estudo estatístico, longitudinal, realizado a partir de um total de 1518 amostras de água subterrânea provenientes de furos e poços particulares, nascentes e minas, localizadas em 17 distritos do país e analisadas nos Laboratórios de Química e Toxicologia do INSA, no Porto e em Lisboa, durante os anos de 2010 a 2012, para avaliação da qualidade da água para consumo humano no respeitante aos parâmetros pH, nitratos, sulfatos, cloretos, azoto amoniacal e condutividade elétrica.

### Resultados

21,1% das amostras analisadas apresentaram pelo menos um resultado acima do valor paramétrico (VP) de acordo com o decreto-lei n.º 306/2007.

Em 51,7% das amostras o pH estava abaixo do limite mínimo estabelecido. Contudo, este resultado traduz apenas a natureza geológica dos aquíferos de origem, pelo que este incumprimento não compromete a qualidade da água para consumo humano, tendo os limites fixados apenas como objetivo a prevenção de fenómenos de corrosão de tubagens e acessórios na rede de distribuição.

Relativamente aos compostos azotados, 15,6% das amostras analisadas revelaram teores de nitrato acima do VP (50mg/L), enquanto o ião amónio aparece alterado em 2,4 % destas amostras (VP = 0,5 mg/L). A presença de nitratos em elevadas concentrações nas águas subterrâneas representa habitualmente contaminação por fertilizantes minerais ou orgânicos utilizados na agricultura. O ião amónio é habitualmente indicador de uma deficiente qualidade higiénica e inaptidão para consumo humano. Algumas amostras revelaram também uma mineralização desadequada para consumo humano traduzida por elevados valores de condutividade elétrica, cloretos e sulfatos, indicadores de intrusão salina decorrente de processos naturais ou atividades antropogénicas (Tabela 1).

Tabela 1: Avaliação geral dos resultados obtidos - valores médios, amplitudes e percentagem de resultados acima do VP dos poluentes / indicadores analisados.

	N	Média	Amplitude	VP	>VP (%)
Nitratos (mg/L)	1518	24	0.50 - 314	50	15.6
Amónio (mg/L)	1387	0.11	0.02 - 13	0.5	2.4
Cloretos (mg/L)	1432	68	0.5 - 2797	250	3.7
Sulfatos (mg/L)	1422	46	0.5 - 1773	250	2.7
Condutividade (µS/cm)	1394	519	9 - 7800	2500	1.0
pH	1390	6.5	3.8 - 10.8	> ou = 6,5 e < ou = 9	51.7

→ continua

artigos breves\_ n. 1

Na análise por distrito, ressalta uma grande variabilidade de resultados para a generalidade dos parâmetros, o que evidencia a grande diversidade, do ponto de vista geológico, das massas de água de origem (*Gráfico 1*). Por outro lado, as médias calculadas para todos os parâmetros em estudo, em todos os distritos, foram inferiores aos respetivos VP, constituindo exceção os cloretos no distrito de Leiria.

Em 12 dos 17 distritos foram registadas amostras com um ou mais parâmetros acima do VP (*Gráfico 2*). Os distritos do Porto, Aveiro, Santarém, Lisboa, Portalegre, Évora e Beja detêm os valores de nitratos mais elevados. A falta de infraestrutura sanitária, com disposição superficial de esgotos, aliada a práticas agrícolas e à alta vulnerabilidade natural de alguns aquíferos, constituem-se fatores que justificam o comprometimento das águas subterrâneas utilizadas para consumo humano.

Gráfico 1: Valores médios obtidos para cada parâmetro por distrito.

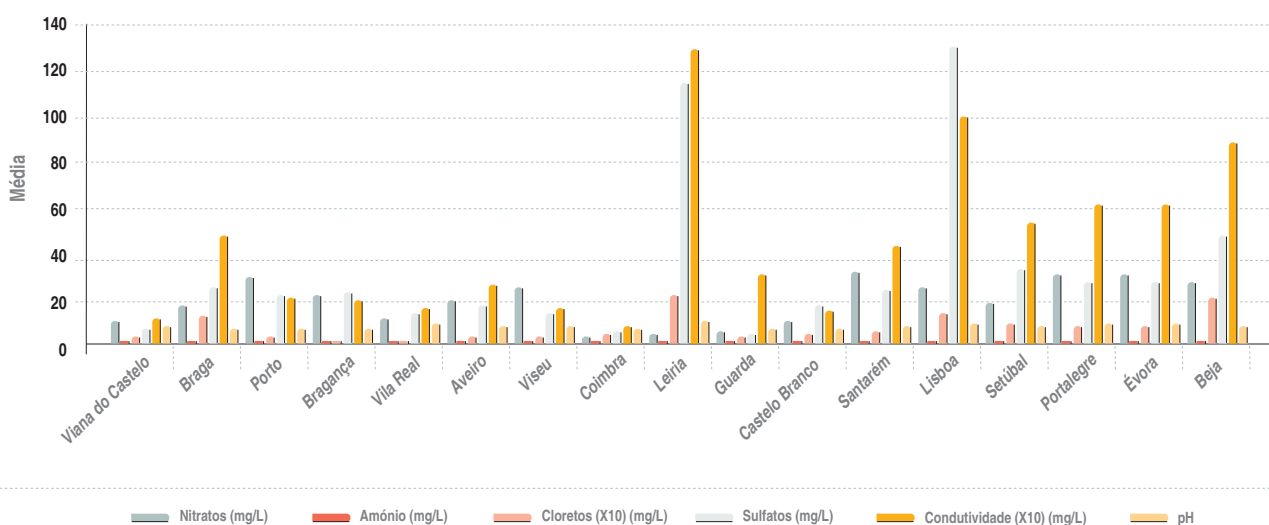
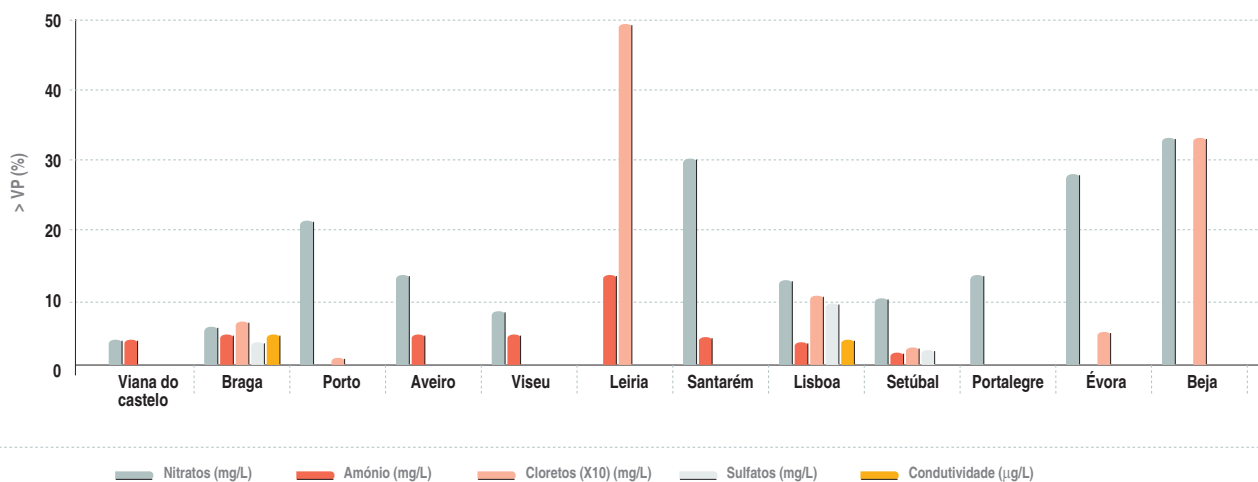


Gráfico 2: Distribuição percentual de resultados acima do VP por distrito.



artigos breves\_ n. 1

**Conclusões**

O trabalho permitiu identificar aquíferos poluídos, contendo água imprópria para consumo humano, situação que coloca riscos de saúde pública.

\_Tendo em conta a necessidade de obtenção de níveis de proteção da água subterrânea, conforme definido no DL 208/2008, considera-se necessário encetar medidas de proteção / recuperação das massas de água e estabelecer normas de qualidade e limiares para parâmetros ainda não regulamentados, como sejam os constantes no anexo II do referido DL, atendendo a que foram encontrados, para todos os parâmetros analisados, valores acima dos atualmente permitidos para consumo humano numa gama de resultados percentuais de 1%, para a condutividade, a 15,6% para os nitratos.

\_Os resultados levam-nos a discordar das conclusões apresentadas no Relatório da Comissão Europeia respeitante ao estabelecimento de limiares para as águas subterrâneas de 2010 (3). No total, 26 Estados-Membros comunicaram o estabelecimento de limiares, tendo este número variado, em cada país, entre zero (Portugal) e 62 (Reino Unido). Quase todos os poluentes mencionados no anexo II da Diretiva das Águas Subterrâneas foram objeto de limiares, já que as 10 substâncias em causa representam risco num número bastante elevado de Estados-Membros. Neste mesmo Relatório, Portugal refere ausência de risco para justificar o não estabelecimento de limiares.

**Referências bibliográficas:**

- (1) Diretiva n.º 2006/118/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 12 de Dezembro de 2006 relativa à proteção das águas subterrâneas contra a poluição e a deterioração.
- (2) Diretiva 2000/60/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 23 de Outubro de 2000.
- (3) European Commission. Commission Staff Working Document. Bruxelas, 5.3.2010 SEC(2010) 166 final.



artigos breves\_ n. 2

## Estudos de especiação de arsénio em arroz

Inês Coelho<sup>1</sup>, Sandra Gueifão<sup>1</sup>, Tânia Pinto<sup>1,2</sup>,  
Isabel Castanheira<sup>1</sup>

ines.coelho@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA.

(2) Instituto Superior Técnico, Lisboa.

### Introdução

O arroz é um dos cereais mais cultivados e consumidos no mundo, representando o principal alimento para mais de metade da população. Dados recentes mostram que Portugal teve um consumo de arroz de 15,8 kg/capita /ano, o maior da Europa<sup>(1)</sup>. Porém, este cereal, predominante na alimentação infantil, é uma das maiores fontes de exposição continuada ao arsénio, cuja toxicidade e biodisponibilidade estão fortemente dependentes da forma química em que este se apresenta. As espécies inorgânicas são mais tóxicas que as orgânicas e, dentro destas, nem todas apresentam o mesmo nível de toxicidade<sup>(2)</sup>.

### Objetivos

Caracterizar, em amostras de arroz:

**a)** o arsénio total por espectroscopia de massa com fonte de plasma indutivamente acoplada (ICP-MS); **b)** as suas espécies químicas, pela técnica hífenada de cromatografia líquida de alta eficiência com ICP-MS (HPLC-ICP-MS).

### Materiais e Métodos

Amostras de arroz foram analisadas por ICP-MS<sup>(3)</sup> e HPLC-ICP-MS (precedidas por extração em micro-ondas)<sup>(4)</sup>. Por forma a garantir que não ocorria interconversão entre espécies durante o processo de extração, foram adicionados às amostras volumes individuais de arsenobetaina (AsB), dimetilarsénico (DMA), arsenito (As(III)) e arseniato (As(V)). O valor da recuperação foi utilizado como critério de aceitação da qualidade dos ensaios.

### Resultados

Os resultados de arsénio total determinados nas amostras em estudo são apresentados no Gráfico 1. Os valores observados variam entre 114 µg/kg e 285 µg/kg. Resultados semelhantes são também reportados na literatura para amostras de arroz consumido em outros países da União Europeia e fora do espaço europeu<sup>(5)</sup>.

As espécies de arsénio encontradas são apresentadas no cromatograma do Gráfico 2. As espécies AsB e As(V) foram detetadas com teores abaixo do limite de quantificação (25 µg/kg). A espécie orgânica DMA predomina, seguida da espécie inorgânica As(III).

### Conclusões

Os níveis de arsénio total, observados nas amostras analisadas estão abaixo dos limites máximos estipulados pela legislação publicada para teores de arsénio em alimentos (somente disponível nos EUA, Austrália e China). As análises de especiação evidenciaram que o DMA, com toxicidade moderada, é a espécie química predominante. Os teores de arsénio inorgânico encontrados nas amostras e, em condições robustas de controlo da qualidade, são inferiores aos reportados, em outros estudos internacionais.

→ continua

Gráfico 1: Valores de arsénio (total) determinados em amostras recolhidas.

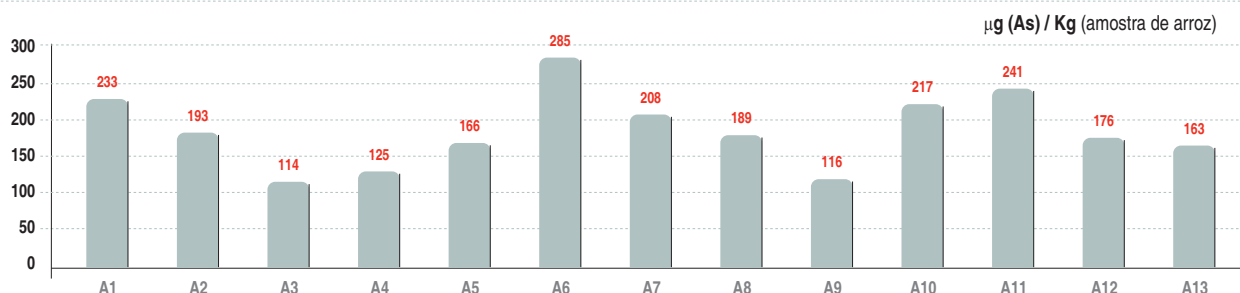
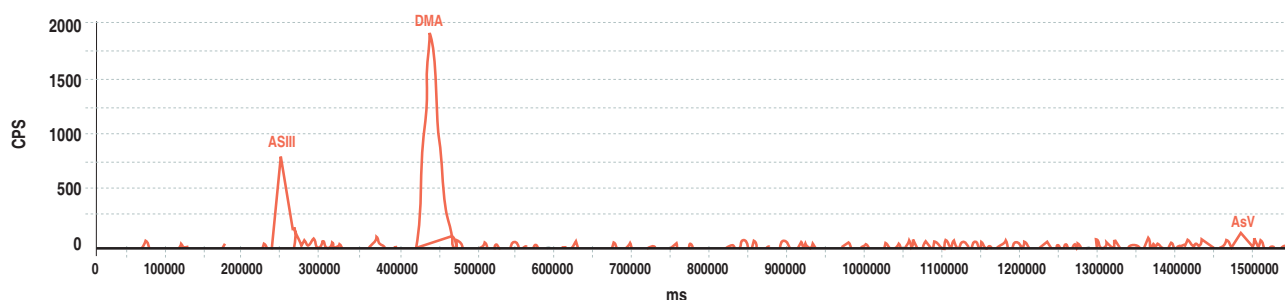


Gráfico 2: Perfil cromatográfico das espécies de arsénio identificadas nas amostras de arroz, em estudo.



artigos breves\_ n. 2

**\_Referências bibliográficas:**

- (1) Instituto Nacional de Estatística. Balanços de Aproveitamento de Produtos Vegetais: Consumo humano de arroz branqueado e semibranqueado per capita (kg/ hab.) por Comprimento do grão Anual 2010/2011. Lisboa: INE, 2012. [atualizado em: 03.02.2012].
- (2) Caruso JA, Klaue B, Michalke B, et al. Group assessment: elemental speciation. Ecotoxicology and environmental safety, 2003;56:32-44.
- (3) EN 15763:2009. Foodstuffs - Determination of trace elements - Determination of arsenic, cadmium, mercury and lead in foodstuffs by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after pressure digestion. Austrian Standards Institute.
- (4) Llorente-Mirandes T, Calderon J, Lopez-Sanchez J, et al. A fully validated method for the determination of arsenic species in rice and infant cereal products. Pure and Applied Chemistry. 2012;84(2):225-238.
- (5) EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. Scientific Opinion on Arsenic in Food. EFSA Journal. 2009;7(10):1351.

artigos breves\_ n. 3

## Aplicação de scores de gravidade à anemia das células falciformes: um problema ainda por resolver\*

Andreia Coelho<sup>1</sup>, Alexandra Dias<sup>2</sup>, Anabela Morais<sup>3</sup>, Baltazar Nunes<sup>4</sup>, Paula Faustino<sup>1</sup> e João Lavinha<sup>1</sup>  
paula.fautino@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Genética Humana, INSA.

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

(3) Departamento de Pediatria, Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar de Lisboa Norte, EPE.

(4) Departamento de Epidemiologia, INSA.

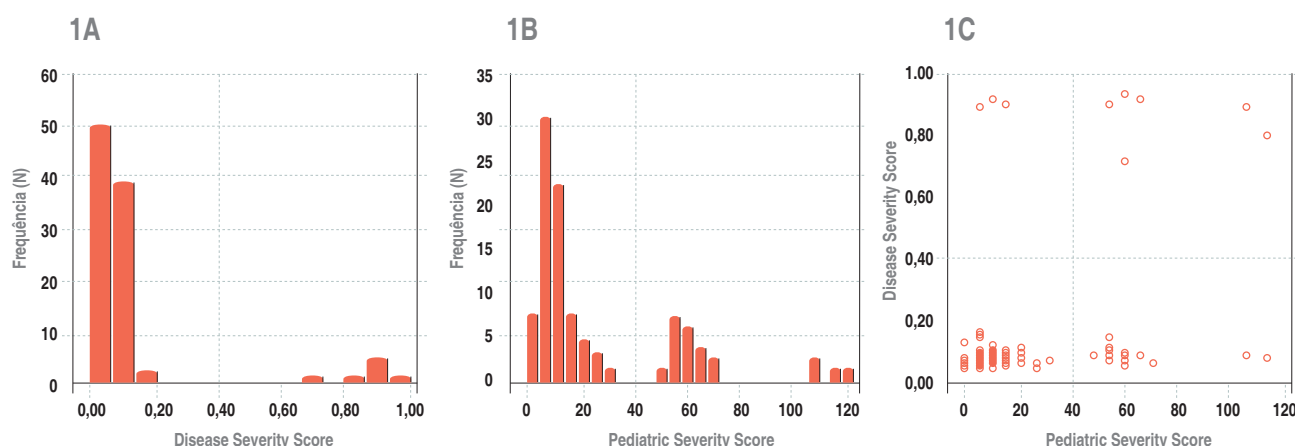
(\*) Artigo original publicado em Eur. J. Haematol. 2012 Dec;89(6): 501-2. doi: 10.1111/ejh.12011

A anemia das células falciformes, ou drepanocitose, é uma doença monogénica causada pela homozigotia da mutação HBB:c.20A>T, o que dá origem, ao invés da hemoglobina A normal, a uma hemoglobina variante denominada Hemoglobina S. A patologia caracteriza-se por anemia hemolítica crónica com episódios vaso-oclusivos e de infeção recorrentes mas com frequência e gravidade bastante variáveis. A grande heterogeneidade nas manifestações clínicas, devida à influência moduladora de múltiplos fatores ambientais e genéticos, torna difícil a estratificação dos doentes por gravidade da doença.<sup>(1,2)</sup> Nesse sentido, tem sido proposta na literatura uma série de scores a aplicar nesta patologia, que integram diversa informação clínica e laboratorial, com o intuito de revelarem o nível de morbilidade e/ou o risco de morte num certo período de tempo.

Pretendeu-se com este estudo comparar dois desses scores, o Disease Severity Score (DSS)<sup>(3)</sup> e o Paediatric Severity Score (PSS)<sup>(4)</sup> num grupo de 99 doentes com anemia das células falciformes provenientes das consultas de pediatria do Hospital de Santa Maria e do Hospital Fernando Fonseca. Estes doentes apresentam ascendência maioritariamente sub-Sahariana (97%), têm uma mediana de idades de 9,9 anos e uma razão masculino/feminino de 1,17.

Criou-se uma base de dados com a respetiva informação clínica, recolhida retrospectivamente com base nos registos médicos, sendo de 5,0 anos a mediana do seguimento por doente. Os scores foram, então, calculados para cada doente atendendo à informação contida na base de dados. A análise estatística foi efetuada usando o software SPSS v20 (IBM Corp. Armonk, NY, USA). A normalidade da distribuição dos scores foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk ( $\alpha=0,05$ ) e a sua relação estatística foi avaliada pela correlação de Spearman. O resultado do cálculo dos scores DSS e PSS revelou uma distribuição multimodal não-normal ( $p<0,01$ ) (Gráfico 1A e 1B). Os valores de cut-off foram definidos arbitrariamente, respetivamente, a 0,4 e 40. O coeficiente de correlação de Spearman entre DSS e PSS foi de 0,280, o qual é significativo ( $p=0,01$ ) (Gráfico 1C). Contudo, esta fraca correlação positiva, conjuntamente com um valor kappa<sup>(5)</sup> de 0,281, indicam a existência de uma reduzida concordância entre estes scores, o que sugere que a comparação entre eles, embora no geral seja convergente, mede diferentes aspetos do fenótipo, em diferentes estadios do desenvolvimento (pediátrico vs adulto) e com diferentes pesos. Por exemplo, a sépsis é a variável que, por si só, mais influencia o valor de DSS, mas este, por outro lado, não considera a sua incidência ao longo da vida. Pelo contrário, o cálculo do PSS atende a um largo espetro de episódios agudos e à recorrência de algumas complicações.

Gráfico 1: Comparação da aplicação de dois "scores" de gravidade na anemia das células falciformes.



→ continua



artigos breves\_ n. 3

Os Gráficos 1A e 1B representam a distribuição por gravidade dos 99 doentes de acordo, respetivamente, com o *Disease Severity Score* (DSS) e com o *Paediatric Severity Score* (PSS). As linhas verticais representam o *cut-off* entre a baixa e a alta gravidade clínica, cujos valores foram arbitrariamente definidos como 0,4 para o DSS e 40 para o PSS. O Gráfico 1C mostra um gráfico de dispersão correlacionando a aplicação dos dois *scores* no mesmo grupo de doentes. De notar que, pela aplicação dos critérios de DSS e de PSS, 20 dos 99 doentes foram discordantemente classificados quanto à gravidade.

Em conclusão, a aplicação dos *scores* em apreço revelou que estes não são a ferramenta efetiva para a classificação e estratificação dos doentes com anemia das células falciformes, tanto na análise da relação genótipo/fenótipo como na descoberta e validação de marcadores de prognóstico do, em larga medida imprevisível, curso clínico da doença. A existência de um *score* ideal seria particularmente útil para aplicação em grandes estudos multicêntricos envolvendo o recrutamento e caracterização de doentes provenientes de países de baixo, médio e alto nível de desenvolvimento humano, refletindo as correspondentes diferenças nas condições ambientais e de acessibilidade aos cuidados de saúde.

**Agradecimentos**

Este estudo foi parcialmente financiado pela FCT: projeto PIC/IC/83084/2007 e financiamento plurianual do CIGMH.

**Referências bibliográficas:**

- (1) Steinberg MH. Predicting clinical severity in sickle cell anaemia. *Br J Haematol.* 2005;129:465-81.
- (2) Steinberg MH. Genetic etiologies for phenotypic diversity in sickle cell anemia. *Scientific World Journal.* 2009;18:46-7.
- (3) Sebastiani P, Nolan VG, Baldwin CT, et al. A network model to predict the risk of death in sickle cell disease. *Blood.* 2007;110:2727-35.
- (4) van den Tweel XW, van der Lee JH, Heijboer H, et al. Development and validation of a pediatric severity index for sickle cell patients. *Am J Hematol.* 2010;85:746-51.
- (5) Altman DG. *Practical Statistics for Medical Research.* London: Chapman & Hall, 1991.

## **Variantes genéticas estruturais numa população de indivíduos com Perturbações do Espectro do Autismo (PEA): caracterização genómica, heritabilidade e correlações clínicas**

Inês **Conceição**<sup>1</sup>, Catarina **Correia**<sup>1</sup>, Bárbara **Oliveira**<sup>1</sup>,  
Margarida **Rama**<sup>1</sup>, Guiomar **Oliveira**<sup>2</sup>, Astrid **Moura Vicente**<sup>1</sup>  
astrid.vicente@insa.min-saude.pt

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

(2) Centro de Desenvolvimento da Criança,  
Hospital Pediátrico, Centro Hospitalar de Coimbra.

\_As Perturbações do Espectro do Autismo (PEA) constituem uma patologia complexa do neurodesenvolvimento, clinicamente heterogénea e com etiologia pouco clara <sup>(1)</sup>. Foi considerada no passado uma doença rara, mas as estimativas de prevalência têm vindo a aumentar nas últimas décadas, como consequência de uma maior sensibilização da parte dos pais, clínicos e professores, e eventualmente também devido a fatores genéticos e ambientais desconhecidos.

\_Fatores genéticos contribuem claramente para a etiologia das PEA, e na última década foram feitos progressos significativos na sua identificação e caracterização, conhecimento esse que está cautelosamente a ser incorporado na prática clínica <sup>(2,3)</sup>. Os estudos de epidemiologia genética mais recentes, realizados em grandes amostras populacionais por consórcios de investigação internacionais, evidenciaram o papel preponderante na etiologia das PEA de variantes genéticas raras, convergentes num número reduzido de vias biológicas. Em particular, o rastreio genómico de variantes estruturais submicroscópicas designadas *Copy Number Variants* (CNVs), que causam deleções e duplicações de genes ou partes de genes, mostrou que estes CNVs são responsáveis pelo autismo numa fração substancial de casos <sup>(4)</sup>. No entanto, a grande heterogeneidade encontrada nestas deleções e duplicações implica que o significado clínico de cada CNV tem de ser devidamente esclarecido, antes deste conhecimento poder ser traduzido em ferramentas de diagnóstico molecular para as PEA. A caracterização extensa dos CNVs em populações de pacientes, incluindo taxas de recorrência em PEA, segregação em famílias, conteúdo génico e correlações clínicas, é fundamental para melhorar a distinção entre variantes estruturais benignas e variantes causais de patologia, definindo os aspetos clínicos e genómicos com melhor poder preditivo para o desenvolvimento de métodos de diagnóstico molecular.

\_No âmbito do consórcio internacional *Autism Genome Project* (AGP) foi efetuado um rastreio de CNVs em mais de 3000 indivíduos com autismo e seus pais. A equipa do INSA, em colaboração com o Hospital Pediátrico de Coimbra, participou nesta investigação com a análise de 342 amostras de pacientes portugueses e seus pais, obtendo um mapa detalhado dos CNVs destes indivíduos. No presente estudo, procedemos à caracterização detalhada e validação dos CNVs com potencial significado clínico identificados nesta população. Inicialmente foram selecionados CNVs génicos (contendo genes ou partes de genes deletados ou duplicados) ausentes em indivíduos controlo (N = 5459) ou cuja sequência não tinha uma sobreposição significativa (<20%) com CNVs benignos descritos em bases de dados públicas. Foram ainda incluídos todos os CNVs que continham genes ou regiões síndromicas associadas às PEA. Um total de 180 CNVs génicos foi identificado, variando entre 5 kb e 3 Mb, a maioria dos quais (62%) eram deleções. Estes CNVs continham entre um (73% dos CNVs génicos) a 25 genes num único CNV, e 23.5% eram *de novo*. A maioria dos CNVs (86%) estava presente num único indivíduo, com exceção de 23 CNVs comuns (frequência de 1% ou mais na população analisada), distribuídos por seis regiões genómicas, e que foram identificados em 26 indivíduos. Cada um destes CNVs comuns estava presente em 3 a 6 pacientes, e incluía genes/regiões anteriormente implicados no autismo, tais como a região 16p13.11 (N = 3), e os genes *DPYD* (N = 5), *PARK2* (N = 6), e *VPS13B* (N = 3).

\_Para categorização fenotípica, foram analisadas as correlações entre características genómicas dos 180 CNVs génicos (por ex. tamanho, deleções ou duplicações, nº de genes por CNV, conteúdo génico) e a apresentação clínica dos 139 indivíduos em que estavam presentes. Foram definidas como categorias fenotípicas a existência de défice intelectual (QI<70, N= 59), de distúrbios menores (N = 17) e de história familiar de perturbação neuropsiquiátrica (N=78) (**Gráfico 1**). Nesta amostra encontraram-se mais deleções do que duplicações, independentemente da apresentação clínica. Indivíduos com défice intelectual, distúrbios menores e/ou história familiar apresentavam uma tendência para uma maior sobrecarga de CNVs génicos, assim como para um maior número de genes em CNVs, por indivíduo, e um maior tamanho médio dos CNVs.

\_A análise genética dos pais mostrou que 76,5% dos CNVs génicos eram herdados de um ou ambos os progenitores. Usando a informação obtida através de ferramentas que permitem avaliar traços sub-clínicos de autismo, como o *Social Responsiveness Scale* (SRS) e o *Broad Autism Phenotype Questionnaire* (BAPQ) <sup>(5,6)</sup> foi analisada a correlação entre a heritabilidade dos CNVs e cotações positivas nestes questionários para os pais. Um excesso significativo de traços sub-clínicos de autismo foi observado em pais que transmitiam CNVs, para os resultados do BAPQ, no que diz respeito à personalidade "indiferente" (*aloof*), caracterizada pela falta de interesse na interação social (**Gráfico 2**). Análise de correlações entre pares de familiares (pais/filhos, mães/filhos e pais/mães), utilizando o questionário SRS, mostraram ainda uma correlação significativa entre ambos os pais.

→ continua

**artigos breves\_ n. 4**

**Gráfico 1:**  *Relação entre as diferentes categorias fenotípicas dos indivíduos com PEA e as várias características dos CNVs destes indivíduos.*

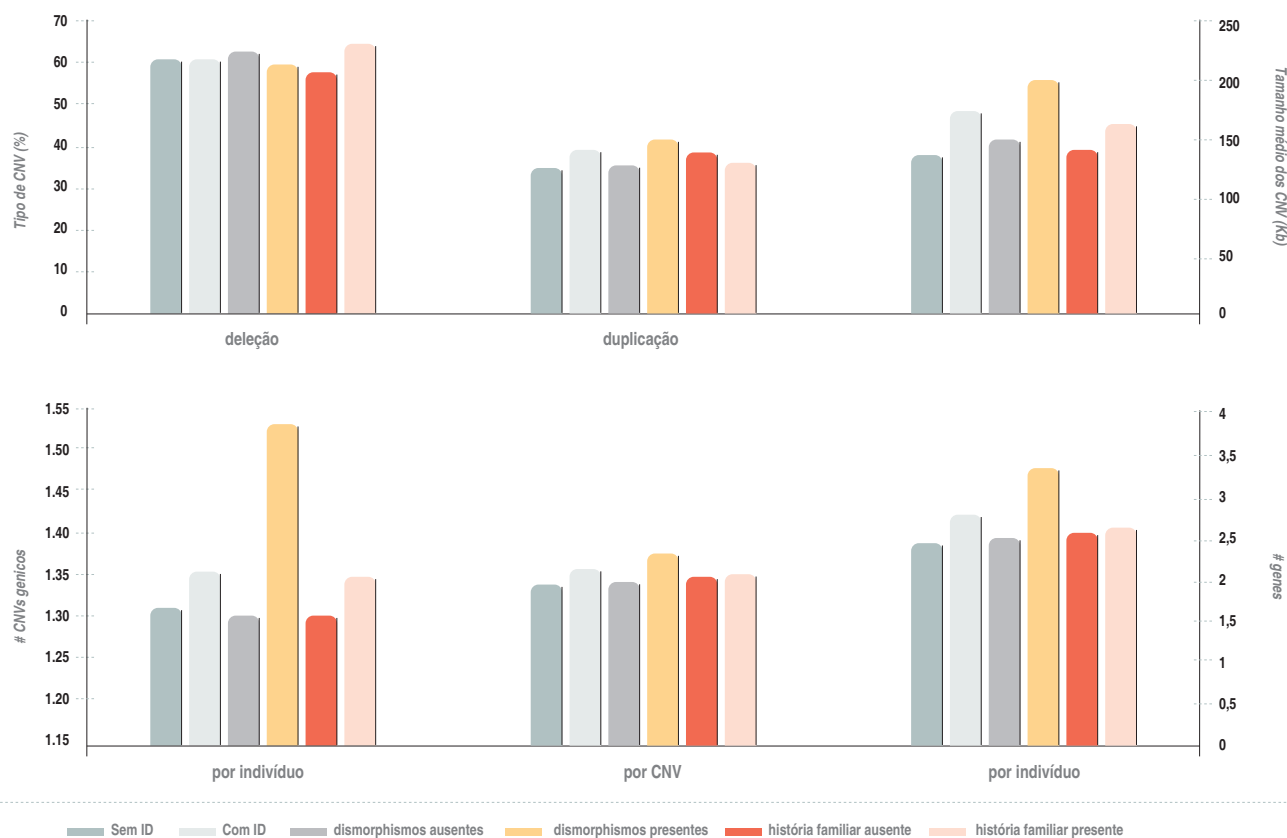
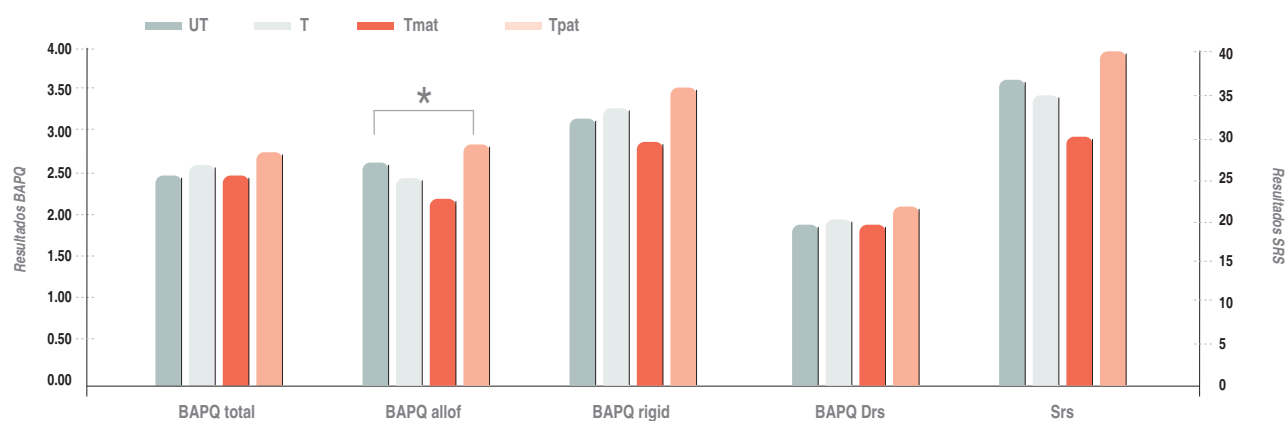


Gráfico 2:  Média dos resultados do BAPQ e SRS realizados aos pais vs heritabilidade dos CNVs, usando o teste U de Mann-Whitney.



Foram feitas comparações entre: 1) UT vs T, 2) UT vs Tmat e 3) UT vs Tpat. UT, progenitores que não transmitem CNVs génicos; T, progenitores que transmitem CNVs; Tmat, mães que transmitem CNVs; Tpat, pais que transmitem CNVs. Personalidade indiferente (aloof), falta de interesse na interação social; personalidade pragmática (prs), com défices de comunicação; personalidade rígida (rigid), falta de capacidade de adaptação. \*  $P < 0.05$ .

artigos breves\_ n. 4

\_Para identificação de possíveis vias fisiológicas convergentes dos genes contidos nestes CNVs, foi ainda realizada uma análise de *networks* de genes, partindo dos 314 genes duplicados ou deletados. Esta análise definiu uma *network* compreendendo 85 genes, uma fração dos quais previamente implicados nas PEA (*p.ex.* *CACNA1C*, *PTEN*, *FOXP1*, *NRG1*, *NRG4*, *CHD7*). Utilizando os algoritmos de definição de vias fisiológicas KEGG e GO, observou-se um enriquecimento nesta *network* de genes implicados no desenvolvimento do sistema nervoso central e na regulação de processos catabólicos celulares (*Figura 1*), consistente com resultados de estudos genéticos e funcionais prévios para as PEA.

\_O rastreio e caracterização de CNVs em pacientes com PEA com informação clínica detalhada, e a sua integração em bases de dados internacionais, tem possibilitado uma distinção cada vez mais rigorosa entre variantes patológicas e variantes benignas. No estudo presente foi possível um aumento substancial no número de diagnósticos etiológicos neste grupo de pacientes. A implementação de algoritmos de *data mining* permitirão uma categorização ainda mais rigorosa dos CNVs de acordo com os dados clínicos, na ausência de hipóteses estabelecidas *a priori*. O estudo mostra também a importância de não limitar os diagnósticos etiológicos aos CNVs *de novo*, uma vez que em casos de CNVs transmitidos os progenitores por vezes apresentam traços sub-clínicos de PEA, que ao não serem aparentes poderão mascarar um CNV patológico que é transmitido. Finalmente, este estudo identificou uma *network* funcional de genes implicados no autismo, contribuindo para o conhecimento das vias fisiológicas na base desta patologia.

Figura 1:  Network funcional de 85 genes contidos nos CNVs identificados nesta amostra de pacientes, usando o software String (7).





**artigos breves\_ n. 4**

**Referências bibliográficas:**

- (1) Losh M, Sullivan PF, Trembath D, et al. Current developments in the genetics of autism: from phenome to genome. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2008;67:829-837.
- (2) Anney R, Klei L, Pinto D, et al. A genome-wide scan for common alleles affecting risk for autism. *Hum Mol Genet.* 2010;19:4072-4082.
- (3) Holt R, Sykes NH, Conceição IC, et al. CNVs leading to fusion-transcripts in individuals with autism spectrum disorder. *Eur J Hum Genet.* 2012;20:1141-1147.
- (4) Pinto D, Pagnamenta AT, Klei L, et al. Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders. *Nature.* 2010;466:368-372.
- (5) Constantino JN, Todd RD. Intergenerational transmission of subthreshold autistic traits in the general population. *Biol Psychiatry.* 2005;57:655-660.
- (6) Hurley RS, Losh M, Parlier M, et al. The broad autism phenotype questionnaire. *J Autism Dev Disord.* 2007;37:1679-1690.
- (7) Franceschini A, Szklarczyk D, Frankild S, et al. STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(Database issue): D808-15.



artigos breves\_ n. 5

## Mesoteliomas: breve caracterização da situação portuguesa a partir dos episódios de internamento hospitalar ocorridos no período 2000-2011

Mariana Neto [mariana.neto@insa.min-saude.pt](mailto:mariana.neto@insa.min-saude.pt)

Departamento de Epidemiologia, INSA.

### Introdução

Os mesoteliomas são um conjunto de tumores primitivos do tecido conjuntivo (mesotelio) bem documentados, raros no contexto geral das neoplasias, mas relevantes pela sua conhecida associação à exposição ao amianto. O amianto é constituído por fibras minerais naturais de vários tipos, cujas características de resistência ao calor e à tração levaram à sua utilização, durante as décadas de 40 a 80 do sec. XX numa gama muito vasta de produtos, desde a indústria, ao lazer até à sua inclusão em objetos do quotidiano. A sua utilização é proibida desde os anos 90, mas o potencial de exposição permanece devido à realização de obras de manutenção ou remoção de resíduos, sem que previamente tenham sido identificados os materiais perigosos. O grande interesse em saúde pública nesta patologia específica, com relevo para as variantes malignas por serem de prognóstico, em geral, muito reservado, reside na possibilidade de serem potencialmente preveníveis em relação à exposição atual ao amianto <sup>(1)</sup>, sobretudo ocupacional. Este tipo de exposição parece ser dominante, mas o tumor também ocorre associado a exposições domésticas de familiares de trabalhadores, ambientais e a outros materiais (erionite, por exemplo) que não o amianto. A passagem da barreira placentar está documentada <sup>(9)</sup>.

O período que medeia entre a data da primeira exposição e o surgimento do tumor é, geralmente, muito longo, sendo referido por alguns estudos como 30 ou 40 anos, mas estão descritos casos com um período de latência muito mais curto <sup>(2)</sup>.

Alguns, como o tumor adenomatoide e o mesotelioma quístico, têm características histológicas benignas evidenciando, porém, elevada tendência para a recidiva, localizando-se principalmente ao nível do trato genital: testículo, epidídimo, corpo uterino e trompas de Falópio. Podem ocorrer no pâncreas e glândulas suprarrenais, por exemplo, e estão descritos casos de transformações malignas <sup>(3)</sup>.

O mesotelioma da pleura, visceral e parietal, é a apresentação mais comum, seguindo-se-lhe, em frequência de incidência, o peritонеu. Localizações mistas ocorrem em cerca de 30 a 40% dos casos. Outras serosas atingidas são o pericárdio, a tunica vaginalis e os ovários, na dependência do peritонеu <sup>(4)</sup>.

Este tipo de patologia envolve um volume elevado de cuidados hospitalares. A Administração Central dos Sistemas de Saúde <sup>(5)</sup> recolhe mensalmente, de forma centralizada <sup>(6)</sup>, os dados relativos aos episódios de internamento e de ambulatório registados nos hospitais do SNS e classificados em Grupos de Diagnósticos Homogéneos (GDH), pelo que constituirão uma boa base de consulta para o presente estudo.

### Metodologia

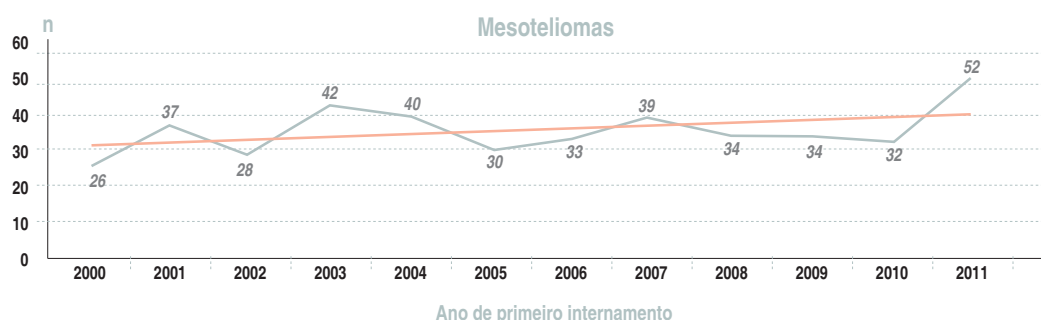
Foram extraídos da Base de Dados Nacional de Grupos de Diagnósticos Homogéneos (GDH) todos os casos de internamento registados com os códigos de Morfologia 905xx (CID-9) referentes ao período 2000-2011. A partir destes registos foram identificados, de forma anonimizada, os doentes internados com patologia daquele grupo. Procedeu-se à caracterização destes doentes em relação ao género, grupo etário, distrito de residência e localização das lesões. Foi ainda determinada a tendência linear do número de casos com primeiro internamento no ano.

### Resultados

Ocorreram, no período 2000-2011, nos hospitais portugueses do SNS, 744 internamentos correspondendo ao código de morfologia 905xx (CID-9), perfazendo um total de 8337 dias de internamento. Apesar de se tratar de dados administrativos anonimizados, foi possível identificar 427 casos, cuja distribuição por ano do primeiro internamento foi a apresentada no (Gráfico 1), com uma média de primeiros internamentos por ano de 35 (Gráfico 1):

→ continua

Gráfico 1: Mesoteliomas (CID 9 - 905XX) por ano do primeiro internamento (n=427, tendência linear).





artigos breves\_ n. 5

\_Observou-se uma proporção superior de casos no sexo masculino, com 66% dos casos e 34% no sexo feminino. Estes casos deram origem a 257 intervenções cirúrgicas e a 88 óbitos em meio hospitalar (36% dos casos). 23 óbitos (26%) ocorreram em idades inferiores a 70 anos.

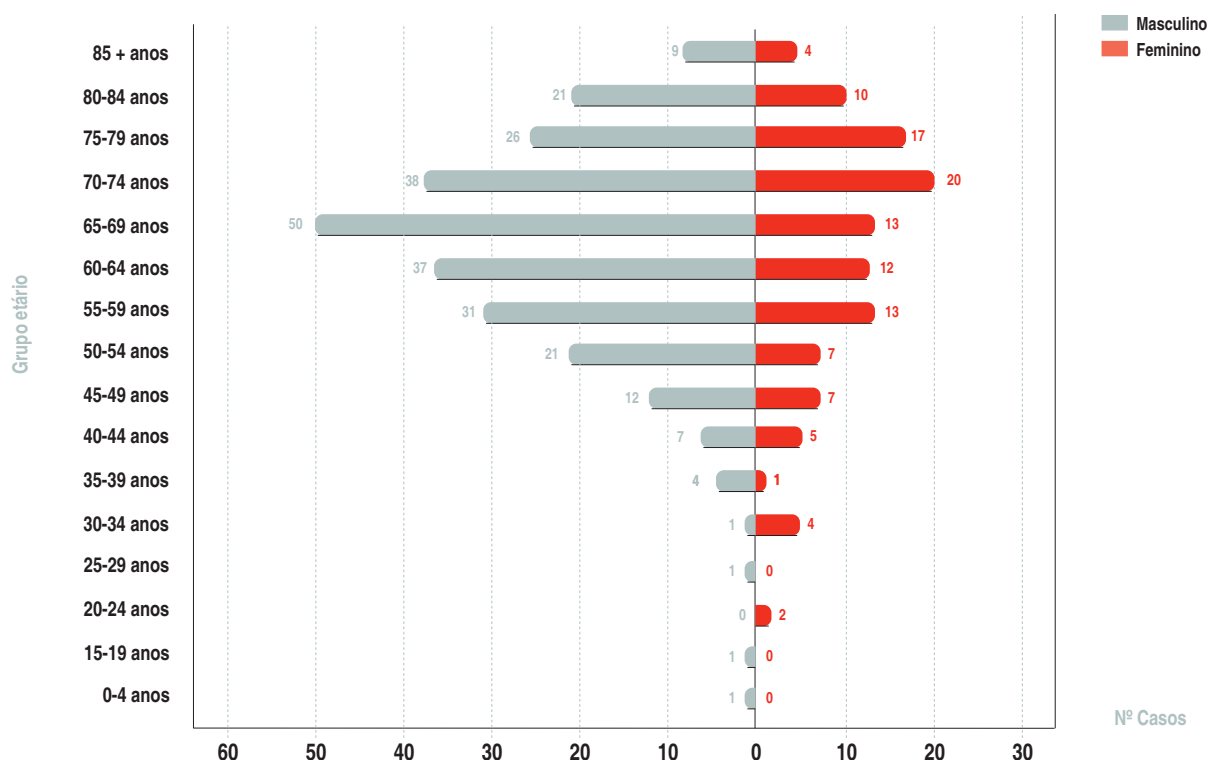
\_Verificou-se que a proporção de casos benignos (12% do total de casos, **Quadro 1**) foi ligeiramente superior no sexo feminino (58%), envolvendo sobretudo mulheres em idade fértil (15-64 anos). Salienta-se a ocorrência de tumores, benignos e malignos, em idades inferiores a 20 anos – 4 casos. As idades registaram uma média de 63 anos e uma mediana de 65.

\_Analisando com mais detalhe os casos malignos, observou-se a distribuição apresentada no **Gráfico 2**:

**Quadro 1:** Tumores mesoteliais - casos com internamento hospitalar.

	Morfologia (CID-9)	n	%
Tumores benignos	Tumor adenomatoide, SOE	22	5
	Mesotelioma quístico	1	0,2
	Mesotelioma epiteliode benigno	1	0,2
	Mesotelioma fibroso benigno	2	0,5
	Mesotelioma benigno	25	6
	Mesotelioma bifásico benigno	1	0,2
	<b>Total tumores benignos</b>	<b>52</b>	<b>12</b>
Tumores malignos	Mesotelioma fibroso maligno	2	0,5
	Mesotelioma bifásico maligno	12	2,8
	Mesotelioma maligno	313	73
	Mesotelioma epiteliode maligno	48	11
	<b>Total tumores malignos</b>	<b>375</b>	<b>88</b>
<b>Total tumores</b>			<b>427</b>

**Gráfico 2:** Casos de mesoteliomas, formas malignas, por idade do primeiro internamento hospitalar e por sexo.



→ continua



artigos breves\_ n. 5

\_Cerca 96% dos casos dos doentes portadores de mesoteliomas malignos residem nas zonas Norte, Centro e LVT e 65%, em distritos do litoral.

\_Apenas foi possível de caracterizar a topografia das lesões, de forma inequívoca, em 75% dos casos, uma vez que os motivos registados na base de dados para os internamentos (Diagnóstico) poderiam referir-se, além da descrição da afeção, a complicações, tratamentos ou sequelas de tratamentos. Nos casos apurados, as localizações pleurais, parietais e viscerais, constituíram 77% (n=217) e as localizações peritoneais, 20% (n=56). Não foi possível identificar casos de localização mista (peritonal e pleural) mas registaram-se 3 casos de localização pericárdica e 6 de localização ao nível do aparelho reprodutor (1 testículo e 5 ovários). Outras localizações foram de difícil confirmação inequívoca e não foram consideradas.

### \_Discussão, conclusões e sugestões

Tratando-se de dados administrativos anonimizados, a sua exploração direta sofre de algumas limitações mas permite, não obstante, a caracterização do fenómeno em análise com algum rigor nas suas linhas macro. Os dados observados são consistentes com a informação disponível na literatura científica, nomeadamente no que respeita ao aumento do número de casos resultantes de exposições ocorridas há 30 ou 40 anos atrás <sup>(1)</sup>, tal como é sugerido pelo **Gráfico 1. (7,11)**.

\_Os factos observados são, não obstante, sugestivos de que a exposição ocupacional ocorrida terá sido bastante superior ao que geralmente se aceita para o nosso país e é possível que tenha ocorrido em setores de atividade menos evidentes que a construção civil e indústria naval, ou até por exposição ambiental não ocupacional. O facto de 50% dos casos malignos terem ocorrido em pessoas com idades inferiores ou iguais a 65 anos e 3% (11), em pessoas com idades inferiores ou iguais a 30 anos, justifica a realização de um estudo mais profundo e detalhado, por poderem estar em causa fontes de exposição menos óbvias e mais atuais.

\_No plano estritamente médico seria também útil proceder a uma melhor caracterização das lesões e do estadiamento à data de diagnóstico. No entanto, a questão mais importante relaciona-se com a necessidade de determinar a fração etiológica do risco em relação à exposição ocupacional, de modo a esclarecer com maior rigor as fontes de exposição existentes, nomeadamente, as mais atuais. Este tipo de abordagem irá permitir minimizar a gravidade dos novos casos através da sua deteção precoce, mas permitirá também mapear as fontes existentes, ocupacionais ou não, permitindo às entidades competentes desenvolver atividades dirigidas ao seu controlo.

\_Acrece que a confirmação dos mesoteliomas como doença profissional permite que os seus portadores sejam alvo da aplicação do regime de compensação previsto na lei. Verificou-se que os serviços responsáveis

confirmaram no mesmo período temporal desta análise 9 casos de mesoteliomas. Se aplicarmos aos valores observados a partir do GDH a fração etiológica observada em outros estudos (58% e 88% para localizações peritoneais e pleurais, respetivamente) **(8,10,12)** estima-se que o número de casos devidos a exposição ocupacional se situará entre 218 e 330 mesoteliomas malignos, o que equivale a uma taxa de subnotificação estimada de 97% em 12 anos.

### \_Referências bibliográficas:

- (1) World Health Organization. Elimination of asbestos-related diseases. Geneva: WHO, 2006.
- (2) Gibbs, AR. Determination of asbestos exposure by pathology and clinical history [em linha]. In Harvey I, Pass MD, Nicholas J, et al. eds. Malignant Mesothelioma. New York: Springer, 2005: 259-266. [consult. 11-6-2013]. Disponível em: [http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F0-387-28274-2\\_16#page-2](http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F0-387-28274-2_16#page-2)
- (3) González-Moreno S, Yan H, Alcorn KW, et al. Malignant Transformation of "Benign" Cystic Mesothelioma of the Peritoneum. J Surg Oncol. 2002;79(4):243-51.
- (4) Leithner K, Leithner A, Clar H, et al. Mesothelioma mortality in Europe: impact of asbestos consumption and simian virus 40. Orphanet J Rare Dis. 2006;1:44.
- (5) Administração Central do Sistema de Saúde. Sistema de Classificação de Doentes em Grupos de Diagnósticos Homogêneos (GDH). Informação de Retorno – Nacional [Em linha]. Lisboa: ACSS, 2006. [consult. 11-6-2013]. Disponível em: [http://www.acss.min-saude.pt/Portals/0/Nacional\\_RR2006.pdf](http://www.acss.min-saude.pt/Portals/0/Nacional_RR2006.pdf)
- (6) Administração Central do Sistema de Saúde, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Serviço de Bioestatística e Informática Médica. Portal de Codificação e dos GDH - Grupos de Diagnósticos Homogêneos (GDH) [Em linha] Disponível em: [http://portalcodgdh.min-saude.pt/index.php/Grupos\\_de\\_Diagn%C3%B3sticos\\_Homog%C3%A9neos\\_\(GDH\)](http://portalcodgdh.min-saude.pt/index.php/Grupos_de_Diagn%C3%B3sticos_Homog%C3%A9neos_(GDH)) [consult. 11-6-2013].
- (7) Editorial: Asbestos scandal. Nature. 2010 Dec 16; 468:868. doi:10.1038/468868a
- (8) Lacourt A, Rolland P, Gramond C, et al. Attributable risk in men in two French case-control studies on mesothelioma and asbestos. Eur J Epidemiol. 2010;25(11):799-806. doi: 10.1007/s10654-010-9502-0.
- (9) Linton A, Vardy J, Clarke S, et al. The ticking time-bomb of asbestos: Its insidious role in the development of malignant mesothelioma. Crit Rev Oncol Hematol. 2012;84(2):200-12.
- (10) Spirtas R, Heineman EF, Bernstein L, et. Malignant mesothelioma: attributable risk of asbestos exposure. Occup Environ Med. 1994;51(12):804-11.
- (11) Bianchi C, Broilo A, Ramani L, et al. Asbestos exposure in malignant mesothelioma of the pleura: a survey of 557 cases. Ind Health. 2001;39(2):161-7.
- (12) Moore A J, Parker R J, Wiggins J. Malignant mesothelioma. Orphanet J Rare Dis. 2008; 3: 34. doi:10.1186/1750-1172-3-34

artigos breves\_ n. 6

## O primeiro caso de botulismo infantil em Portugal

Margarida **Saraiva**, Isabel **Campos Cunha**,  
Conceição **Costa Bonito**, Cláudia **Pena**, Maria Manuel **Toscano**,  
Teresa **Teixeira Lopes**, Isabel **Sousa**, Maria Antónia **Calhau**  
marigarda.saraiva@insa.min-saude.pt

Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA.

O botulismo é uma doença neuroparalisante, rara e grave. As neurotoxinas botulínicas (NTBo) que causam doença no homem (A, B, E e F) podem ser produzidas por três espécies de *Clostridium*: o clássico *C. botulinum* e duas estirpes raras de *C. butyricum* e *C. baratii*, que produzem toxinas semelhantes às toxinas dos tipos E e F (1). As NTBo bloqueiam a libertação de acetilcolina na junção neuromuscular, resultando uma paralisia descendente flácida simétrica. Em humanos, estão descritas cinco formas de botulismo: o botulismo alimentar, o botulismo com origem em feridas, o botulismo infantil, o botulismo intestinal e o botulismo iatrogénico (1). O botulismo infantil e o botulismo intestinal ocorrem quando esporos de bactérias germinam e produzem NTBo no cólon (1).

### Introdução

O primeiro caso de botulismo infantil notificado em Portugal ocorreu em Novembro de 2009 (2). Uma criança de um mês de idade, do sexo masculino, filho de pais imigrantes da Moldávia, natural e residente em Cascais, recusando-se a comer durante 3 dias, foi levado para o Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental (CHLO). Após admissão, verificou-se existir prostração hipotónica, obstipação, alterações no som do choro e disfagia. Após inquérito do INSA, para casos onde há suspeita de botulismo, determinou-se que era alimentado com leite materno, ingerindo também mel e uma infusão de folhas de camomila. Tanto as folhas de camomila como o mel eram provenientes da Moldávia.

### Identificação laboratorial

O Departamento de Alimentação e Nutrição do INSA IP, no Porto, recebeu amostras de fezes e soro do doente com suspeita de botulismo infantil, provenientes do CHLO. Após efetuado o inquérito, foram ainda enviadas ao laboratório amostras de mel e folhas de camomila, para pesquisa de esporos de *C. botulinum*. O bioensaio em ratinhos *Balb-C* foi o método utilizado para deteção de toxinas ativas, no soro, nos extratos de fezes e nos meios de cultura onde a produção de toxina foi promovida. Os ratinhos foram injetados antes e após neutralização com antitoxinas A, B, E e trivalente (ABE) assim como neutralização com calor, de acordo com o preconizado pelo *Center for Disease Control* (CDC), Atlanta, USA (3,4). Para confirmar a identificação bioquímica da estirpe isolada utilizou-se o bioensaio.

### Resultados

Foi detetada toxina botulínica tipo B nas amostras de fezes da criança. Adicionalmente, isolou-se *C. botulinum* tipo B nas amostras de fezes, no mel e nas folhas de camomila. A pesquisa de toxina no soro foi negativa. Após tratamento, a criança recuperou.

### Exposição a esporos de *Clostridium botulinum*

Os esporos de *C. botulinum* existem no solo e no pó e, muitas vezes, podem contaminar diferentes produtos agrícolas (5). O mel é um reconhecido veículo de esporos de *C. botulinum* (6,7,8). As causas primárias da contaminação do mel e das folhas de camomila devem ser o pólen, o trato digestivo das abelhas, as poeiras e o solo (9). Considera-se como causa secundária, a contaminação cruzada pelas mãos de manipuladores e pelo equipamento (5). O mel, pelas suas características, não pode sofrer tratamentos térmicos capazes de destruir os esporos de *C. botulinum* (6). A água quente utilizada para preparar infusões de ervas habitualmente designadas como “chá”, não destrói os esporos de *Clostridium* e pode ativar a sua germinação (3).



artigos breves\_ n.6

**Conclusões-Prevenção**

Em contraste com o botulismo alimentar, que está associado à ingestão de toxina preformada em alimentos, o botulismo infantil aparece após ingestão de esporos que germinam e formam toxina no intestino de crianças com menos de 1 a 2 anos de idade (2,10,11,12). Em muitos países, o mel é colocado na chupeta dos bebés para os manter mais calmos (5). Frequentemente, em livros, revistas e em *sites* da *internet* encontram-se conselhos, dirigidos às mães, no sentido de darem chá de camomila às crianças, caso necessitem de as acalmar, para aliviar dores de dentes ou tratar cólicas infantis. Esta desinformação pode contribuir para o aumento do número de crianças em situação de risco. Neste sentido, os pais deverão ser advertidos que não devem disponibilizar a crianças com idade inferior a dois anos, mel e chá de ervas não indicadas para alimentação infantil.

No caso de suspeita de botulismo infantil, as amostras clínicas (soro e fezes) e alimentares a analisar devem ser enviadas ao Laboratório de Microbiologia do Departamento de Alimentação e Nutrição do INSA IP, no Porto. As amostras devem ser colhidas o mais cedo possível após o aparecimento de sintomas, mantidas refrigeradas (não congelar) e enviadas ao laboratório juntamente com o inquérito fornecido pelo INSA.

A notificação às unidades locais de saúde dos casos identificados ou suspeitos, é obrigatória e crucial para a identificação dos veículos alimentares e controlo precoce de alimentos fontes de botulismo.

**Agradecimentos**

Aos Clínicos do Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental que realizaram o diagnóstico clínico, enviaram as amostras e responderam ao inquérito epidemiológico solicitado.

**Referências bibliográficas:**

- (1) Nantel, A. J. (2002) Clostridium Botulinum. International Programme on Chemical Safety, Poisons Information Monograph 858. (Ed. Tempowski, J. (IPCS)). World Health Organization. URL <http://www.who.int/csr/deliberedemics/clostridiumbotulism.pdf> Accessed 2007 Jul 10
- (2) Saraiva, M.; Campos Cunha, I.; Costa Bonito C.; Pena C.; Toscano M.M.; Teixeira Lopes T.; Sousa I.; Calhau M. A. (2012). First case on infant botulism in Portugal. Food Control, vol. 26,(1), P 79-80.
- (3) Centres for Disease Control. Clostridium botulinum Monovalent and Polivalent Antitoxins. Atlanta, Georgia: CDC, 1987.
- (4) Solomon HM, Timothy L Jr. Clostridium botulinum [Em linha]. In U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual, 2001. [consult. 11-6-2013]. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070879.htm>
- (5) Bianco MI, Lúquez C, de Jong LI, et al. Presence of Clostridium botulinum spores in Matricaria chamomilla (chamomile) and its relationship with infant botulism. Int J Food Microbiol. 2008 10;121(3):357-60.
- (6) Koepke R, Sobel J, Aron SS. Global occurrence of infant botulism, 1976-2006 [Em linha]. Pediatrics. 2008 Jul;122(1):e73-82. doi: 10.1542/peds.2007-1827. [consult. 11-6-2013]. Disponível em: <http://pediatrics.aappublications.org/content/122/1/e73.full>
- (7) Nevas, M., Hielm, S., Lindström, M., Horn, H., & Korkeala, H. (2002). High Prevalence of Clostridium botulinum Types A and B in honey samples detected by polymerase chain reaction. International Journal of Food Microbiology, 72(1-2), 45-52.
- (8) Küplülü, O., Göncüoğlu, M., Özdemir, H., & Koluman, A. (2006). Incidence of Clostridium botulinum spores in honey in Turkey. Food Control, 17(3), 222-224.
- (9) Finola MS, Lasagno CM, Marioli JM. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. Food Chemistry. 2007;100(4):1649-1653.
- (10) Wolters B. First case of infant botulism in the Netherlands [Em linha]. EuroSurveillance. 2000 Dec 7;4(49). [consult. 11-6-2013]. Disponível em: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=1478>
- (11) Lindström M, Korkeala H. Laboratory diagnostics of botulism. Clin Microbiol Rev. 2006 Apr;19(2):298-314.
- (12) Health Protection Agency. Guidelines for Action in the Event of a Deliberate Release: Botulism. (version 4.5.1) HPA, 2009 Centre for Infections. [consult. 11-6-2013]. Disponível em: [http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb\\_C/1194947315628](http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1194947315628)





artigos breves\_ n. 7

## Infeção VIH e SIDA em homens que têm sexo com homens em Portugal (1983-2012): caracterização dos casos notificados

Helena Cortes Martins [helena.cortes-martins@insa.min-saude.pt](mailto:helena.cortes-martins@insa.min-saude.pt)

Núcleo de Vigilância Laboratorial de Doenças Infecciosas.  
Unidade de Referência e Vigilância Epidemiológica.  
Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

De acordo com o último relatório do *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) referente à vigilância epidemiológica da infeção por vírus da imunodeficiência humana (VIH) e síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA) na região europeia, o sexo entre homens é a forma de transmissão mais frequentemente indicada no total dos casos diagnosticados nos países que compõem a União Europeia (EU), correspondendo a 39% dos novos casos diagnosticados em 2011<sup>(1)</sup>.

Em Portugal, a 31 de dezembro de 2012 encontravam-se notificados 42580 casos de infeção por VIH em todos os estádios clínicos, dos quais 31255 (73,4%) correspondem a homens. Atualmente, a maioria dos casos acumulados refere transmissão sexual (n=24416), 43,5% por contacto heterossexual e 13,8% por relações sexuais entre homens<sup>(2)</sup>. A transmissão associada ao consumo de drogas representa a segunda maior causa de infeção estando associada a 37,8% do total dos casos. Ao longo dos trinta anos da epidemia VIH/SIDA em Portugal verificou-se uma alteração do padrão epidemiológico, particularmente quanto às categorias de transmissão predominantes. Assim, se nos 24715 casos de infeção registados nos primeiros 20 anos a transmissão está maioritariamente associada ao consumo de drogas (n=11961; 48,4%), na última década são os casos de transmissão heterossexual que representam a maioria dos novos casos (n=10271; 57,5%), registando-se 4125 casos em toxicodependentes (23,1%). Em ambos os períodos a categoria de transmissão associada ao sexo entre homens foi a terceira categoria a reunir mais casos de infeção, com 3010 casos entre 1983 e 2002 e 2867 casos na última década, o que corresponde a, respetivamente, 12,2% e 16,0% do total de casos registados em cada período.

A identificação de tendências recentes de aumento do número absoluto e relativo de casos notificados referentes a homens que têm sexo com homens (HSH), bem como do decréscimo da idade mediana destes casos<sup>(3)</sup>, contrárias ao verificado para as outras categorias de transmissão, motivou um olhar mais detalhado à informação reunida nas variáveis de caracterização desses casos.

Assim, é objetivo deste trabalho a análise das características dos casos acumulados de infeção VIH em homens que têm sexo com homens, notificados em Portugal entre 1985 e 2012, e identificação de tendências recentes nas variáveis estudadas.

O total acumulado de casos referentes a HSH era de 5877 no final de 2012, 97,8% dos quais associados ao VIH do tipo 1. Registaram-se 187 novos casos diagnosticados nesse ano, número que contudo deve ser encarado como provisório devido ao atraso habitualmente verificado na notificação. Dos dados apresentados na **Tabela 1** é possível determinar que entre 2002 e 2011 o aumento registado no número de casos em HSH foi de 53,1%. É ainda possível aferir que os casos de HSH correspondem a 18,8% dos casos registados em homens. A análise da sua distribuição para os anos mais recentes evidencia que a proporção dos casos de HSH no total anual de casos masculinos regista tendência crescente, observando-se que para os anos de diagnóstico 2002 e 2011 correspondem a, respetivamente, 12,5% e 34,9% do total de casos masculinos. Contudo, esse aumento percentual estará relacionado não só com o aumento real do número de casos em HSH mas também com a redução do número de casos associados ao consumo de drogas que pode ser constatada no

**Gráfico 1.**

A análise das idades à data de diagnóstico que foi efetuada em estudo anteriormente publicado<sup>(3)</sup> e mostrou que a idade mediana para o total dos casos de HSH é de 34,0 anos (IC95%: 34,0-34,0). Esta idade mediana apresentou-se estável entre 1995 e 2005, observando-se a partir de então uma ligeira tendência decrescente que é contrária ao verificado nos casos de transmissão heterossexual e em toxicodependentes.

Lisboa é o distrito em que cumulativamente residiam maior número de casos à data do diagnóstico (n=2668; 45,4%), seguido do Porto (n=804; 13,7%), Setúbal (n=630; 10,7%) e Faro (n=311; 5,3%), distribuição que se mantém para os casos diagnosticados nos anos mais recentes. A análise da informação referente à nacionalidade revela que são portugueses 87,6% dos casos em que a nacionalidade é conhecida (n=5692) e que 69,6% dos casos estrangeiros são originários da América do sul. A partir de 2004 observa-se um aumento da proporção anual de casos em estrangeiros que representam 19,0% dos casos diagnosticados em 2011 (**Gráfico 2**) e destes, 84,7% oriundos de países sul-americanos.

Os dados relativos ao estadio clínico mostram-nos que 50,8% (n=2983) dos casos acumulados eram portadores assintomáticos (PA), 12,5% (n=734) estavam sintomáticos mas sem critérios de SIDA e 36,7% (n=2160) dos casos encontravam-se no estadio mais avançado da infeção. As tendências encontradas mostram um aumento de 97,4 % entre os números de casos PA registados em 2002 (n=116) e em 2011 (n=229). No entanto, verifica-se uma redução de 27,1% entre o número de casos de SIDA diagnosticados nos mesmos anos.

→ continua



## artigos breves\_ n. 7

A análise das doenças indicadas, sob a forma isolada ou concomitantes, nas notificações dos 2160 casos de SIDA registados em HSH mostra que a doença definidora de SIDA mais frequentemente referida é a pneumonia por *Pneumocystis jirovecii* (PPj), anteriormente designado *Pneumocystis carinii*, identificada em 642 casos (29,7%), seguida do sarcoma de Kaposi (SK) em 471 casos (21,8%) e da candidíase do esófago, traqueia, pulmões ou brônquios em 350 casos (16,2%), resultados que estão de acordo com o descrito para os casos de SIDA em HSH da UE1. A tuberculose não tem para esta categoria de transmissão o peso percentual verificado nos casos de transmissão heterossexual ou associados ao consumo de drogas, mas se consideradas em conjunto a apresentação pulmonar e extrapulmonar, é referida em 535 (24,8%) casos em HSH. A análise comparativa das doenças indicadas nos casos de SIDA diagnosticados nos anos 2002 (n=75) e 2011 (n=59) revela que a PPj é para ambos a doença mais frequentemente indicada, com valores de, respetivamente, 25 (33,3%) e 21 (35,6%) casos, e o SK é a segunda doença mais frequente nesses anos sendo registada, respetivamente, em 14 (18,7%) e 15 (25,4%) casos. Essa análise mostra ainda que o número de casos referindo tuberculose em qualquer forma clínica no ano 2011 (n=5) é bastante inferior ao registado no ano 2002 (n=15).

### Considerações finais

Em Portugal o sexo entre homens é na atualidade o segundo modo de transmissão da infeção VIH mais frequentemente indicado nos casos notificados, particularmente entre os casos registados no sexo masculino, verificando-se uma tendência crescente no número de casos anualmente diagnosticados e registados nesta categoria. Os casos registam-se em indivíduos tendencialmente mais jovens, maioritariamente residentes no distrito de Lisboa e de nacionalidade portuguesa, embora com aumento percentual de casos em estrangeiros, particularmente sul-americanos. O número de casos diagnosticados em estadios clínicos mais avançados apresenta-se em decréscimo.

As características constatadas nos casos diagnosticados mais recentemente podem indiciar não só um aumento da transmissão, mas também um diagnóstico mais precoce que o verificado para as outras categorias de transmissão, resultado de melhor perceção do risco incorrido e maior frequência na realização do teste, já descrito na literatura (4,5). Embora os dados obtidos da vigilância dos casos notificados sejam insuficientes para identificação dos determinantes da epidemia nos grupos em maior risco, em que se incluem os HSH, por não incluírem informação sobre conhecimentos e comportamentos, as tendências recentes constatadas nesta análise dos dados nacionais alertam para a importância do reforço das medidas de prevenção dirigidas a homens que têm sexo com homens, com particular enfoque nos indivíduos mais jovens e incluindo imigrantes, bem como da importância do seu acesso à informação e aos cuidados de saúde adequados.

### Referências bibliográficas:

- (1) European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2011. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control, 2012.
- (2) Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Infeção VIH/SIDA em Portugal: situação a 31 de dezembro de 2012. Lisboa: INSA, IP, 2013 (Doc.144).
- (3) Cortes Martins H, Kislaya I, Nunes B. Evolução temporal da idade à data de diagnóstico de infeção VIH/SIDA em Portugal: 1983-2012. Boletim Epidemiológico Observações. 2013;2(4):2-5
- (4) European Centre for Disease Prevention and Control. STI and HIV prevention in men who have sex with men in Europe. Stockholm: ECDC, 2013.
- (5) The EMIS Network. EMIS 2010: The European Men-Who-Have-Sex-With-Men Internet Survey. Findings from 38 countries. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control, 2013.

**Tabela 1:** Casos de infeção VIH (1983-2012): distribuição dos casos registados em homens e em homens que têm sexo com homens segundo ano de diagnóstico.

Ano de diagnóstico	Total	H		HSH		
		Nº	%	Nº	% (Total)	% (H)
1983	3	2	66,7	2	66,7	100,0
1984	6	5	83,3	3	50,0	60,0
1985	42	40	95,2	19	45,2	47,5
1986	78	65	83,3	25	32,1	38,5
1987	157	126	80,3	50	31,8	39,7
1988	260	213	81,9	93	35,8	43,7
1989	372	308	82,8	113	30,4	36,7
1990	523	431	82,4	178	34,0	41,3
1991	661	522	79,0	176	26,6	33,7
1992	942	764	81,1	203	21,5	26,6
1993	1046	838	80,1	199	19,0	23,7
1994	1312	1025	78,1	211	16,1	20,6
1995	1648	1273	77,2	229	13,9	18,0
1996	2128	1624	76,3	219	10,3	13,5
1997	2438	1911	78,4	226	9,3	11,8
1998	2647	1990	75,2	213	8,0	10,7
1999	2789	2153	77,2	238	8,5	11,1
2000	2795	2108	75,4	220	7,9	10,4
2001	2475	1785	72,1	180	7,3	10,1
2002	2393	1704	71,2	213	8,9	12,5
2003	2220	1556	70,1	222	10,0	14,3
2004	2147	1458	67,9	225	10,5	15,4
2005	1997	1405	70,4	245	12,3	17,4
2006	2046	1395	68,2	303	14,8	21,7
2007	1983	1353	68,2	281	14,2	20,8
2008	1983	1375	69,3	373	18,8	27,1
2009	1787	1234	69,1	345	19,3	28,0
2010	1605	1109	69,1	360	22,4	32,5
2011	1321	934	70,7	326	24,7	34,9
2012	776	549	70,7	187	24,1	34,1
<b>Total</b>	<b>42580</b>	<b>31255</b>	<b>73,4</b>	<b>5877</b>	<b>13,8</b>	<b>18,8</b>

Nota: H=Homens; HSH=Homens que têm sexo com homens.

→ continua



artigos breves\_ n. 7

Gráfico 1: Casos de infeção VIH em homens (1983-2012): distribuição segundo ano de diagnóstico e categoria de transmissão.

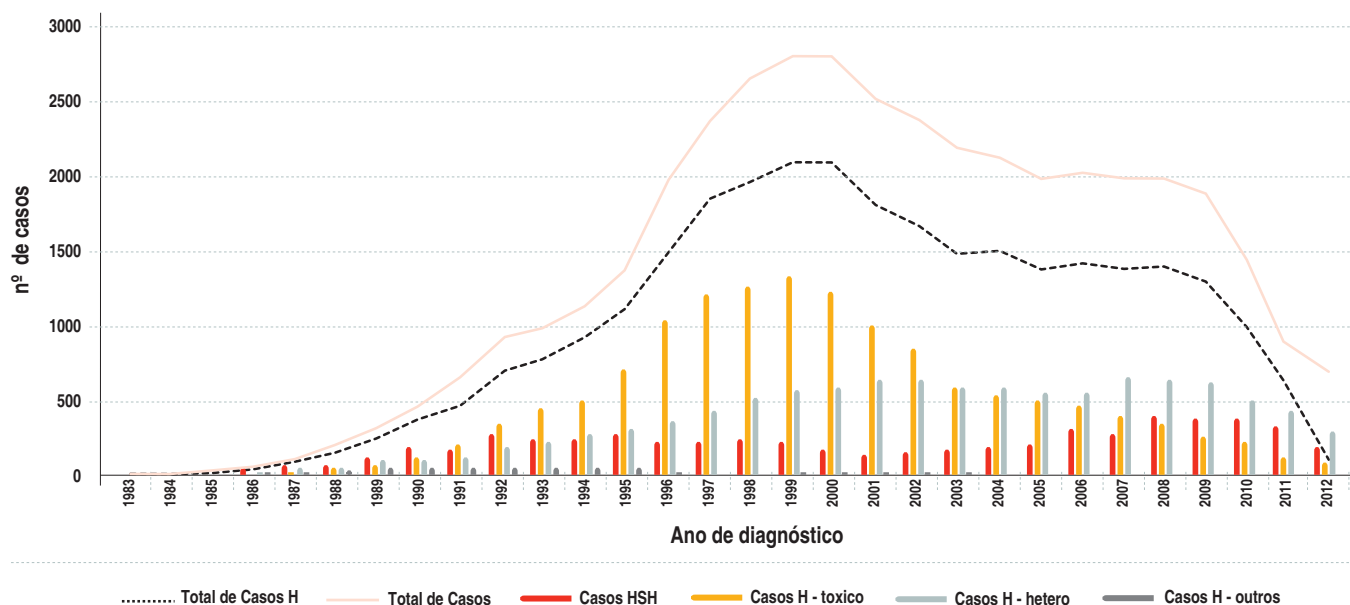


Gráfico 2: Casos de infeção VIH em homens (2000-2012): distribuição percentual segundo a nacionalidade e ano de diagnóstico.



artigos breves\_ n. 8

## Infeção por parvovírus B19 durante a gravidez: análise retrospectiva de casos suspeitos diagnosticados no INSA (2009-2012)

Sílvia Lopo, Tânia Reis, Paula Palminha, Elsa Vinagre,  
Maria João Gargaté  
silvia.lopo@insa.min-saude.pt

Laboratório Nacional de Referência de Infecções Sistémicas e Zoonoses  
para Citomegalovírus e Parvovírus B19.  
Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

### Introdução

A infeção por Parvovírus B19 (B19V) durante a gravidez pode causar danos graves ao feto, uma vez que a infeção das células endoteliais da placenta, pode levar a casos de hidropsia fetal e/ou morte fetal intrauterina.

Em Portugal, a seroprevalência da infeção pelo B19V é inferior a 15,2% entre os 2 e os 4 anos de idade e vai aumentando nos grupos etários seguintes, com valores, no sexo feminino, de 54,6%, entre os 20 e os 24 anos, de 63,8% entre os 25 e os 29 anos, de 64,6% entre os 30 e 34 anos, até valores de 82,7% em mulheres com mais de 65 anos de idade <sup>(1)</sup>.

Na infeção pelo B19V o período de contágio, através das secreções respiratórias infetadas, surge durante a fase inicial (período de virémia), antes do aparecimento do característico rash cutâneo “slapped cheek rash”; durante este estadio, o indivíduo de um modo geral já não é transmissor do vírus, pelo que, a transmissão do B19V faz-se praticamente de forma silenciosa. Uma vez que a infeção pelo B19V é comum na idade escolar e a transmissão viral é facilitada pelo contacto direto pessoa a pessoa, as crianças e jovens adolescentes são os potenciais transmissores da infeção às suas mães ou educadores, com taxas de ataque de 50% entre membros da família, sendo esta uma via de transmissão importante e muita vez esquecida <sup>(2)</sup>.

Na mulher grávida não imune, não estão descritas complicações maternas graves da infeção pelo B19V, no entanto, pode ocorrer transmissão transplacentar, com valores que variam entre ~ 25% - 50%, dependendo da idade gestacional e com perda fetal associada a este vírus entre 1,6% - 9,0% <sup>(3,4,5)</sup>. A hidropsia fetal é considerada a complicação mais grave da infeção pelo B19V na gravidez, sobretudo nas primeiras 20 semanas, sendo nos EUA, o agente etiológico mais comum dos casos de hidropsia fetal e o responsável por 2% - 6% dos casos de morte fetal <sup>(4,6,7)</sup>. A infeção congénita pelo B19V, apesar do vírus não ser teratogénico, pode estar associada a doenças graves, tais como anemia grave, restrição do crescimento intrauterino, miocardite e pericardite.

Neste trabalho fizemos uma análise retrospectiva dos casos suspeitos de infeção pelo B19V durante a gravidez, recebidos no INSA entre Maio de 2009 e Dezembro de 2012, correlacionando os respetivos dados clínicos, laboratoriais e epidemiológicos. Avaliámos a frequência de casos positivos e a importância do B19V como agente etiológico de casos de hidropsia.

### Metodologia

Estudaram-se 33 líquidos amnióticos correspondentes a 33 grávidas com idades compreendidas entre os 17 e os 39 anos (idade média: 29,4 anos) com amniocentese efetuada entre as 13 e as 36 semanas de gestação. As indicações clínicas referiam rash cutâneo (2 casos), morte fetal (3 casos) e anomalia fetal não especificada detetada em ultrassonografia (28 casos).

A pesquisa de DNA do B19V foi efetuada por PCR em tempo real com a amplificação específica de uma região de 76 pb do gene VP1 do genoma do vírus (*artus® Parvo B19 RG PCR Kit*, Qiagen) na plataforma de amplificação Rotor-Gene™ 3000. Os líquidos amnióticos positivos foram quantificados com base em padrões de quantificação que permitem a construção de uma curva de calibração. Os resultados negativos foram validados por uma amplificação heteróloga à amplificação do DNA alvo, de um controlo interno que controla o procedimento de extração e de amplificação.

### Resultados

A distribuição dos casos suspeitos de infeção pelo B19V de acordo com o diagnóstico clínico e as semanas de gestação estão descritas no *Quadro 1*.

O Parvovírus B19 foi detetado em 4/33 líquidos amnióticos (12,1%), todos com diagnóstico clínico de hidropsia fetal às 21, 22, 23 e 25 semanas de gestação, pelo que, dos 10 casos com diagnóstico clínico de hidropsia, o B19V foi o agente etiológico responsável em 4 casos (40,0%). Não encontramos associação entre morte fetal e infeção congénita pelo B19V nos 3 casos estudados.

Em 2 dos 4 casos positivos para B19V houve morte fetal: um dos casos antecedendo a transfusão intrauterina e outro após a transfusão. Noutro caso deu-se a resolução da hidropsia após transfusão intrauterina e no último caso detetado, o feto continuou vivo *in utero*, após terapêutica, desconhecendo-se evolução próxima ao termo da gravidez. Em todos os casos positivos, fez-se a vigilância ecográfica regular até à morte fetal ou até à resolução da hidropsia. No *Quadro 2* descreve-se o *outcome* fetal associado ao resultado do DNA quantificado:

→ continua

artigos breves\_ n. 8

Quadro 1: Distribuição dos casos suspeitos de infeção pelo B19V de acordo com o diagnóstico clínico e as semanas de gestação.

Número de casos		Diagnóstico clínico		Semanas de gestação
3		Morte fetal		13, 21, 33
2		Rash cutâneo		14, 17
28	10	Anomalia fetal detetada por ultrassonografia	Hidropsia fetal	2x21, 22, 23, 2 x 25, 4 x não especificado
	10		Anomalia fetal não especificada	13, 15, 16, 18, 21, 22, 23, 27, 2 x 30
	3		Ventriculomegalia Hipoplasia do corpo caloso	22, 27, 36
	2		Oligodrámnio	22, 23
	1		Intestino hiperecogénico	24
	1		Microftalmia à esquerda	28
	1		Focomelia (mão esquerda)	26
Total = 33				

Quadro 2: Associação entre o outcome fetal e o resultado do DNA quantificado.

Casos confirmados de hidropsia fetal pelo B19V (semanas de gestação)	B19V DNA (IU/ml)	Outcome fetal
21	2,48 x 10E3	Resolução sem sequelas após transfusão intrauterina
22	1,14 x 10E9	Feto vivo in utero, após transfusão intrauterina
23	7,85 x 10E6	Morte fetal após transfusão intrauterina
25	1,42 x10E4	Morte fetal sem transfusão intrauterina

## Discussão

O valor anual de seroconversão em mulheres suscetíveis à infeção pelo B19V estima-se em cerca de 1,5%, variando a proporção de casos de transmissão vertical entre 25,0%-50,0%. A infeção pelo B19V durante a gravidez é a causa mais comum das hidropsias não imunes e pode resultar em morte fetal em 2%-6% dos casos (7). A resolução de 94%-98% dos casos de hidropsia após transfusão intrauterina é uma resposta eficiente à terapêutica, no entanto, há casos em que a anemia grave e a hidropsia desenvolvem-se rapidamente, não havendo regressão após tratamento.

Neste trabalho detetámos 4 casos de infeção congénita pelo B19V (12,1%) todos com diagnóstico de hidropsia fetal; de acordo com os nossos resultados e com a literatura, o risco de desenvolvimento de hidropsia fetal, bem como de morte fetal é elevado, se a infeção materna ocorrer antes das 20 semanas de gestação, sendo que a infeção fetal ocorre 1a 12 semanas após a infeção materna. Apesar dos resultados do estudo não terem a representatividade nacional dos casos suspeitos de infeção pelo B19V durante a gravidez, o número de casos positivos mostram uma provável associação entre a infeção materna / hidropsia fetal / morte fetal, mas não se encontrou relação entre a quantificação

do DNA e o outcome fetal, que permita concluir da relação entre o número de cópias de DNA e a gravidade da infeção fetal ou do sucesso da terapêutica, devendo contudo esta associação ser estudada com maior número de casos.

O rastreio para o B19V não está contemplado na circular normativa da DGS sobre a prestação de cuidados pré-concepcionais, no entanto, aproximadamente 36% de mulheres em idade fértil são suscetíveis à infeção por este vírus. A técnica de PCR para deteção do B19V no líquido amniótico, é a metodologia adequada para confirmação laboratorial da infeção por este vírus. Não havendo vacina ou terapêutica que previna a infeção pelo B19V durante a gravidez, a adoção de boas práticas de higiene é a medida recomendada para diminuir os casos de infeção materna e consequente infeção fetal (8).

artigos breves\_ n. 8

**Referências bibliográficas:**

- (1) Direcção-Geral da Saúde. Avaliação do Programa Nacional de Vacinação e melhoria do seu custo-efectividade: 2º Inquérito Serológico Nacional: Portugal Continental 2001-2002 [Em linha]. Lisboa: DGS, 2004. [consult. 11-6-2013]. Disponível em: <http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i009552.pdf>
- (2) Centers for Disease Control and Prevention. Parvovirus B19 and fifth disease [Em linha]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/parvovirusB19/pregnancy.html> [consult. 11-6-2013].
- (3) Cherry JD, Schulte DJ. Human Parvovirus B19. In Feigin RD, Cherry JD, Demmler-Harrison GJ, et al. eds. Feigin & Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases. Vol 2. 6th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier, 2009:1902-1920.
- (4) Adler SP, Koch WC. Human Parvovirus Infections. In Remington JS, Klein JO, Wilson CB, et al. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. 6th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier, 2006:868-892.
- (5) Tolfvenstam T, Broliden K. Parvovirus B19 infection. Semin Fetal Neonatal Med. 2009; 14(4):218-221.
- (6) Brown KE. Parvovirus B19. In Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Vol 2. 6th ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone Elsevier, 2005:1891-1902.
- (7) American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Diseases. Parvovirus B19. In Pickering LK, Baker CJ, Kimberlin DW, et al. eds. 2009 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 28th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics, 2009:491-493.
- (8) Centers for Disease Control and Prevention. Parvovirus B19 and fifth disease [Em linha]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/parvovirusB19/fifth-disease.html> [consult. 11-6-2013].



artigos breves\_ n. 9

## Valor de prognóstico da determinação do estado físico do DNA do Vírus do Papiloma Humano (HPV) dos tipos 16 e 18 no desenvolvimento de lesões do colo do útero

Ana Gradíssimo, Nuno Verdasca  
ana.oliveira@insa.min-saude.pt

Laboratório Nacional de Referência das Infecções Sexualmente Transmissíveis.  
Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

O cancro do colo do útero é uma das neoplasias ginecológicas mais frequentes nas mulheres, tendo exclusivamente o Vírus do Papiloma Humano (HPV) como agente etiológico. De entre os genótipos de alto risco, os HPV 16 e 18 assumem uma maior relevância dado que são responsáveis por cerca de 70% dos casos de cancro do colo do útero a nível mundial (1,2). Em Portugal, o HPV 16 é o genótipo mais frequente (19,7%), independentemente do resultado citológico, enquanto o HPV 18 apresenta uma baixa prevalência (4,4%) no nosso país (3).

Numa infeção persistente por genótipos de alto risco, o processo de carcinogénese do colo do útero pode envolver a integração do genoma viral no genoma da célula hospedeira favorecendo o processo de desenvolvimento de lesões pré-malignas (4,5). A integração resulta de uma disrupção no genoma viral, sendo que o número de cópias de genoma viral integrado (no epitélio infetado) aumenta em função da gravidade do diagnóstico clínico (6-8). Este fenómeno pode ser considerado um importante marcador de prognóstico nas mulheres infetadas por HPV, fornecendo informações úteis sobre o risco de progressão e/ou transformação maligna das células do colo do útero.

O presente estudo destinou-se a comparar a proporção das diferentes formas virais (epissomal, linear, ou concomitante – presença conjunta das anteriores), através de uma metodologia de PCR em tempo real (9,10), em mulheres infetadas por HPV 16 ou 18, de acordo com o diagnóstico citopatológico e a estabelecer associações suscetíveis de determinar o valor de prognóstico deste marcador na prática clínica. Foram estudadas 248 amostras de DNA cuja tipificação do HPV tinha revelado infeção por HPV 16 (n=132) ou 18 (n=116). A população estudada correspondia a mulheres entre os 18 e os 65 anos e com um diagnóstico citológico sugestivo da infeção por HPV que efetuaram a genotipagem no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge IP, em Lisboa. Foi também recolhido o resultado histológico como referência na avaliação do valor preditivo desta metodologia por forma a estimar o risco de desenvolvimento e/ou progressão de lesões pré-malignas.

De entre os casos positivos para o HPV 16, 40,2% (53/132) dos casos encontravam-se na forma epissomal, 58,3% (77/132) apresentavam a forma concomitante, e apenas 1,5% (2/132) na forma linear, ou seja, completamente integrado no genoma da célula hospedeira. Os dados obtidos revelaram que as formas epissomais eram mais frequentes em casos de citologia normal, ao passo que a proporção de formas concomitantes aumentava significativamente em função da gravidade do diagnóstico citopatológico ( $p<0,001$ ; Gráfico 1).

Relativamente aos casos de infeção por HPV 18, em 13,6% (16/116) dos casos foi identificada a presença da forma epissomal, 65,5% (76/116) correspondiam à forma concomitante, e em 20,7% (24/116) apenas foi identificada a forma linear. Apesar de a forma concomitante ter sido a mais frequente (>60%), a presença da forma linear aumentou significativamente com a gravidade do diagnóstico citológico. A avaliação por diagnóstico histológico permitiu evidenciar uma relação linear entre a diminuição da proporção de formas concomitantes e o aumento da proporção de formas lineares, em função da gravidade da lesão diagnosticada ( $p<0,001$ ; Gráfico 1).

Os resultados obtidos noutros estudos demonstraram proporções das formas virais semelhantes às descritas neste estudo (5,9,11). Especialmente, no que diz respeito aos casos de infeção por HPV 16, os dados apresentados sugerem que a integração do genoma viral no genoma da célula hospedeira é um evento que ocorre precocemente durante o processo de carcinogénese. Este facto é constatado pela elevada proporção de casos com formas concomitantes, independentemente do diagnóstico clínico (5,8,11,12). A designação concomitante resulta da presença de formas epissomais (menor risco) em conjunto com formas lineares (maior risco) em proporções diferentes no epitélio infetado. Mesmo em lesões pré-malignas foi identificada a presença da forma epissomal, o que pode sugerir que, para além da integração, outros mecanismos estejam envolvidos no processo de carcinogénese desencadeado pela infeção persistente por HPV 16.

Relativamente ao HPV 18, outros estudos demonstraram que a proporção de casos de cancro do colo do útero com o DNA viral na forma linear pode ser variável (13,14). No entanto, os nossos dados revelaram que todos os casos estudados de adenocarcinoma apresentaram a forma linear, sugerindo um comportamento biológico mais agressivo (15) deste genótipo no desenvolvimento do cancro do colo do útero. Nos nossos dados pode mesmo observar-se uma transposição da proporção da forma epissomal pela forma linear. Atendendo à história natural da infeção por HPV16 e/ou 18, e à importância desta neoplasia em saúde pública, é importante elaborar planos de gestão das mulheres infetadas, tendo por base as diferentes características destes genótipos (8,15). Os dados apresentados revelam que a determinação do estado físico do DNA viral, especialmente para os casos de infeção por HPV 18, parece ser importante na identificação de infeções clinicamente relevantes, contribuindo para uma melhor prevenção do cancro do colo do útero. Os dados completos sobre o estudo foram recentemente publicados (16).

→ continua



artigos breves\_ n. 9

**Gráfico 1:** Determinação do estado físico do DNA do (a) HPV 16 em função do resultado citológico; (b) HPV 16 em função do resultado histológico; (c) HPV 18 em função do resultado citológico; (d) HPV 18 em função do resultado histológico. NILM, citologia normal; ASC-US, atipia de significado indeterminado; LSIL, lesões de baixo grau; HSIL, lesões de alto grau; ICC, carcinoma invasivo; CIN1-3, neoplasia intraepitelial de grau 1 a 3.



**Referências bibliográficas:**

- (1) Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human Papilloma virus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol. 1999;189:12-19.
- (2) Munoz N, Bosch FX, Castellsague X, et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. Int J Cancer. 2004;111:278-285.
- (3) Pista A, de Oliveira CF, Cunha MJ, et al. Prevalence of human papillomavirus infection in women in Portugal: The CLEOPATRE Portugal Study. Int J Gynecol Cancer. 2011;21:1150-1158.
- (4) Munger K, Baldwin A, Edwards KM et al. Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. J Virol. 2004;78:11451-11460.
- (5) Saunier M, Monnier-Benoit S, Mauny F, et al. Analysis of human papillomavirus type 16 (HPV16) DNA load and physical state for identification of HPV16-infected women with high-grade lesions or cervical carcinoma. J Clin Microbiol. 2008;46:3678-3685.
- (6) Tonon SA, Picconi MA, Bos PD, et al. Physical status of the E2 human papillomavirus 16 viral gene in cervical preneoplastic and neoplastic lesions. J Clin Virol. 2001;21:129-134.
- (7) Hudelist G, Manavi M, Pischinger KI, et al. Physical state and expression of HPV DNA in benign and dysplastic cervical tissue: Different levels of viral integration are correlated with lesion grade. Gynecol Oncol. 2004;92:873-880.
- (8) Cricca M, Morselli-Labate AM, Venturoli S, et al. Viral DNA load, physical status and E2/E6 ratio as markers to grade HPV16 positive women for high-grade cervical lesions. Gynecol Oncol. 2007;106:549-557.
- (9) Huang L-W, Chao S-L, Lee B-H. Integration of human papillomavirus type-16 and type-18 is a very early event in cervical carcinogenesis. J Clin Pathol 2008;61:627-632.
- (10) Ho CM, Chien TY, Huang SH et al. Integrated human papillomavirus types 52 and 58 are infrequently found in cervical cancer, and high viral loads predict risk of cervical cancer. Gynecol Oncol 2006;102:54-60.
- (11) Peitsaro P, Johansson B, Syrjanen S. Integrated human papillomavirus type 16 is frequently found in cervical cancer precursors as demonstrated by a novel quantitative real-time PCR technique. J Clin Microbiol 2002;40:886-891.
- (12) Kulmala SM, Syrjanen SM, Gyllenstein UB et al. Early integration of high copy HPV 16 detectable in women with normal and low-grade cervical cytology and histology. J Clin Pathol 2006;59:513-517.
- (13) Badaracco G, Venuti A, Sedati A et al. HPV16 and HPV18 in genital tumours: Significantly different levels of viral integration and correlation to tumour invasiveness. J Med Virol 2002;67:574-582.
- (14) Park JS, Hwang ES, Park SN et al. Physical status and expression of HPV genes in cervical cancers. Gynecol Oncol 1997;65:121-129.
- (15) Woodman CBJ, Collins S, Rollason TP et al. Human papillomavirus type 18 and rapidly progressing cervical intraepithelial neoplasia. The Lancet 2003;361:40-43.
- (16) Gradissimo Oliveira A, Delgado C, Verdasca N, et al. Prognostic value of human papillomavirus types 16 and 18 DNA physical status in cervical intraepithelial neoplasia. Clin Microbiol Infect. 2013 May 9. doi: 10.1111/1469-0691.12233.





artigos breves\_ n. 10

## Diagnóstico da infeção por vírus da hepatite E no INSA, 2000-2012

Carla **Manita Ferreira**, João **Almeida Santos**, Teresa **Lourenço**,  
Camalavati **Benoliel**, Rita **Matos**, Helena **Cortes Martins**  
*helenacortesmartins@insa.min-saude.pt*

Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas.  
Unidade Laboratorial Integrada. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

A hepatite E tem como agente causal um vírus, denominado vírus da hepatite E (VHE), membro da família *Hepeviridae* e cujo genoma é constituído por uma cadeia simples de RNA, não segmentado. Este vírus infeta mamíferos, incluindo o homem. A sua principal via de transmissão é a via fecal-oral, sendo a contaminação da água com matéria fecal a forma mais comum de disseminação (1,2).

Clinicamente a hepatite E pode ser assintomática ou manifestar sintomas típicos de infeção por outros vírus hepatotrópicos, nomeadamente icterícia, urina escura, anorexia, aumento de volume hepático, transaminases elevadas e dor abdominal acompanhada de vômitos, náuseas e febre.(3) A infeção aguda, em jovens e adultos imunocompetentes, é normalmente autolimitada, com duração entre 4 a 6 semanas.(1) A taxa de mortalidade é mais elevada em crianças até aos dois anos e em mulheres grávidas no terceiro trimestre, devido a falência hepática e complicações obstétricas.(1) No contexto de imunossupressão, como é o caso dos transplantados, a infeção por VHE pode evoluir para a cronicidade ou mesmo para cirrose hepática (4).

O diagnóstico laboratorial da infeção pode ser efetuado através de métodos diretos, nomeadamente pela pesquisa do RNA viral, no entanto, a sua deteção no sangue e fezes só é possível durante, respetivamente, quatro e seis semanas, a maioria das quais no período de incubação da infeção. Assim, muitos dos diagnósticos assentam na pesquisa de marcadores serológicos, mais concretamente das imunoglobulinas classe G (IgG) e M (IgM) específicas. A dinâmica destes marcadores obedece ao padrão clássico da resposta imunitária, sendo geralmente possível a deteção de IgM quatro semanas após a infeção, aquando do aparecimento da sintomatologia, seguida da IgG específica detetável uma a duas semanas depois (1,2).

A infeção causada por este vírus tem sido considerada como tendo pouca relevância clínica e epidemiológica nos países desenvolvidos, onde os casos detetados são, habitualmente, importados de países em desenvolvimento da Ásia, África e América Central e do Sul, onde a endemicidade da infeção está associada com as precárias condições de saneamento básico.(4)

No entanto, nos últimos anos têm sido descritos casos isolados ou pequenos surtos de hepatite E em regiões de baixa endemicidade, como Estados Unidos da América, Europa (ex.: Reino Unido e França), países desenvolvidos da Ásia (ex. Japão) e Austrália, sem qualquer evidência de associação a viagens a países endémicos (2).

Nestes casos de infeção por VHE, aparentemente autóctone, a transmissão zoonótica parece desempenhar um papel preponderante na transmissão do vírus, quer por consumo de produtos derivados de animais infetados, quer por exposição a fluidos corporais desses animais (2). Em países industrializados foi detetado o vírus em diferentes animais de consumo humano, tais como o porco, o veado e o coelho (1,2), facto que alerta para um potencial problema de saúde pública.

Em Portugal, embora tenha sido evidenciada a presença de anticorpos para VHE na população (6,7) e existam relatos de infeções agudas (8), não se conhece a incidência da hepatite por VHE uma vez que não é doença de declaração obrigatória. Recentemente foi descrita a presença de RNA do VHE em fezes de suínos criados na região norte e centro do país, destinados a consumo humano (9).

Com o objetivo de aumentar o conhecimento referente à infeção por VHE no nosso país, realizou-se uma análise retrospectiva dos casos estudados no INSA nos últimos doze anos.

Neste estudo apurou-se que entre janeiro de 2000 e dezembro de 2012 foram recebidos no INSA amostras de soro referentes a 297 casos com diagnóstico de hepatite de etiologia desconhecida, para os quais foi solicitada a pesquisa de anticorpos específicos para VHE, das classes IgG e IgM, realizada através de ensaios imunoenzimáticos ELISA.

Dos casos estudados, essencialmente provenientes da região Centro e Sul do país, 155 (52.2%) correspondiam a indivíduos do sexo masculino e 142 (47.8%) a indivíduos do sexo feminino, e cuja idade média era de 37,0 anos.

Na **Tabela 1** é apresentada a casuística anual de acordo com os padrões reacionais possíveis. Os padrões IgG-/IgM+ e IgG+/IgM+ são sugestivos de infeção aguda ou recente, o padrão IgG+/IgM- é compatível com infeção convalescente ou passada e o padrão IgG-/IgM- revela a ausência de resposta imunológica para o VHE.

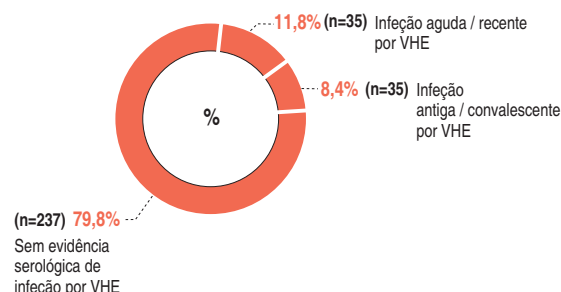
→ continua

artigos breves\_ n. 10

**Tabela 1:** Distribuição dos resultados obtidos na pesquisa de anticorpos para VHE por ano do caso e padrão reacional identificado.

Ano	Padrão reacional				Total (n)
	IgG - / IgM + (n)	IgG + / IgM + (n)	IgG + / IgM - (n)	IgG - / IgM - (n)	
< ou = 2006	0	1	2	78	81
2007	1	3	2	10	16
2008	4	3	2	14	23
2009	1	4	4	18	27
2010	4	2	3	17	26
2011	1	7	7	53	68
2012	1	3	5	47	56
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>23</b>	<b>25</b>	<b>237</b>	<b>297</b>

**Gráfico 1:** Distribuição dos casos em estudo de acordo com o estadio de infeção por VHE.



\_Na análise global dos casos estudados (Gráfico 1) constatou-se que foi detetada a presença de anticorpos para o VHE em 20,2 % (n=60) das amostras analisadas, sendo que em 11,8% (n=35) a resposta imunológica detetada era compatível com infeção aguda ou recente e em 8,4% (n=25) a presença isolada de anticorpos IgG sugeria infeção antiga ou convalescente.

\_Estes resultados permitem comprovar a presença da infeção por VHE em Portugal e, pela primeira vez, evidenciar o diagnóstico anual de vários casos de infeção aguda ou recente no país. Este facto vem reforçar a importância de, em Portugal, se pesquisar o envolvimento do VHE em hepatites cuja causa não é conhecida, já referida por outros autores (8).

\_A ausência de informação epidemiológica para a maioria dos casos impossibilitou a sua adequada caracterização, facto que reconhecemos empobrecer a análise efetuada.

Entende-se ser da maior importância melhorar o conhecimento do padrão epidemiológico desta infeção em Portugal, de modo a permitir a identificação e caracterização de eventuais casos de transmissão autóctone e a possibilitar intervenções para prevenção de futuras infeções.

\_No sentido de aumentar o contributo do INSA para este objetivo, em alinhamento com a sua missão como laboratório de referência e as suas atribuições para realização de atividades de vigilância epidemiológica laboratorial, estão a ser implementados, no Departamento de Doenças Infeciosas, os procedimentos para deteção e caracterização molecular do VHE.

**Referências bibliográficas:**

- (1) Kamar N, Bendall R, Legrand-Abravanel F, et al. Hepatitis E. Lancet. 2012 Jun 30;379(9835): 2477-88.
- (2) World Health Organization. The Global Prevalence of Hepatitis E Virus Infection and Susceptibility: a systematic review. Geneva: WHO, 2010.
- (3) Smith JL. A review of hepatitis E virus. J Food Prot. 2001;64(4):572-86.
- (4) Vasickova P, Psikal I, Kralik P, et al. Hepatitis E virus: a review [Em linha]. Veterinari Medicina (Praha). 2007;52:365-84. [consult. 11-6-2013]. Disponível em: <http://www.vri.cz/docs/vetmed/52-9-365.pdf>
- (5) Lhomme S, Dubois M, Abravanel F, et al. Risk of zoonotic transmission of HEV from rabbits. J Clin Virol. 2013 Mar 6. pii: S1386-6532(13)00047-4. doi: 10.1016/j.jcv.2013.02.006.
- (6) Marinho RT. A Hepatite E existe em Portugal? Claro que sim [Em linha]. J Port Gastrenterol. 2009;16(5): 185-186. [consult. 11-6-2013]. Disponível em: [http://www.scielo.oces.mctes.pt/scielo.php?pid=S0872-81782009000500002&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.oces.mctes.pt/scielo.php?pid=S0872-81782009000500002&script=sci_arttext)
- (7) Folgado S, Pires S, Félix J, et al. Prevalência da hepatite E em população não endémica – estudo prospetivo. GE – J Port Gastrenterol. 2009;16:191-197
- (8) Duque V, Ventura C, Seixas D, et al. First report of acute autochthonous hepatitis E in Portugal. J Infect Dev Ctries. 2012;6(2):201-3.
- (9) Berto A, Mesquita JR, Hakze-van der Honing R, et al. Detection and Characterization of Hepatitis E Virus in Domestic Pigs of Different Ages in Portugal. Zoonoses Public Health. 2012;59(7):477-81. doi: 10.1111/j.1863-2378.2012.01488.x.

## artigos breves\_ n. 11

## Diagnóstico imunológico de doenças associadas a vectores existentes em Portugal

Alves MJ, Luz T, Santos AS, De Sousa R, Lopes de Carvalho I, Zé-Zé L, Amaro F, Parreira P, Nuncio MS  
m.joão.alves@insa.min-saude.pt

Centro de Estudos de Vectores e Doenças Infecciosas  
Doutor Francisco Cambournac. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

### Introdução

As doenças infecciosas de transmissão vectorial têm emergido como resultado de alterações nas políticas da saúde, alterações demográficas, sociais e ecológicas, resistência aos insecticidas e antimicrobianos e alterações genéticas dos agentes patogénicos. Investigação em vacinas, insecticidas não poluentes, alternativas nas medidas de controlo de populações de vectores e a implementação de programas de formação para trabalhadores na área da saúde e ambiente são alguns exemplos de acções que podem contribuir para o controlo destas doenças. Para atingir este objectivo é necessário determinar quais os problemas existentes em cada zona geográfica e caracterizar a eco-epidemiologia das diferentes patologias. Em 1987 o Centro de Estudos de Vectores e Doenças Infecciosas Doutor Francisco Cambournac (CEVDI) iniciou vários projectos de investigação e disponibilizou métodos de diagnóstico laboratorial de referência em Portugal. Neste trabalho apresentam-se os resultados obtidos, em 2012, no diagnóstico laboratorial de referência de algumas doenças associadas a vectores (anaplasmose humana, arboviroses, arenaviroses, bartonelose, borreliose de Lyme, ehrlichiose humana, febre escaro-nodular, febre Q, hantaviroses e tularémia).

### Material e Métodos

Neste estudo foram incluídos todos os doentes para os quais em 2012 foi recepcionada no CEVDI pelo menos uma amostra biológica (sangue, soro, plasma e/ou LCR) com requisição para diagnóstico imunológico. Os métodos utilizados foram IFA, ELISA e *Immunoblot*, conforme padronizado para os diferentes agentes etiológicos. Os limiares de positividade foram adoptados com base em estudos prévios efectuados na população portuguesa (Quadro I). O CEVDI está integrado em vários painéis de controlo de qualidade a nível europeu garantindo desta forma a qualidade dos resultados que produz.

### Resultados

Em 2012 foram estudadas 1848 amostras com pedido de diagnóstico para anaplasmose humana (n= 10), arboviroses (n= 323), bartonelose (n= 189), borreliose de Lyme (n= 287), coriomeningite linfocitária (n=22), ehrlichiose humana (n=32), febre escaro-nodular (n=543), febre Q (n=411), hantaviroses (n=18) e tularémia (n= 13).

O diagnóstico laboratorial permitiu confirmar em média 21% (0-37%) das amostras, sendo que a febre escaro nodular foi a que apresentou maior casuística (n= 123), seguida pelas arboviroses (n=118) e febre Q (n=104). Em relação às arboviroses, a casuística foi muito superior ao habitual, devido à ocorrência do surto de Dengue na Ilha da Madeira. Os resultados globais encontram-se no **Quadro 1**. No **Gráfico 1** pode-se observar quais as patologias associadas a vectores com maior impacto em 2012 – febre escaro-nodular, arboviroses, febre Q e borreliose de Lyme.

### Discussão

Em Portugal, já foi comprovada a circulação de vários agentes etiológicos de transmissão vectorial. Muitas destas patologias apresentam sintomatologia inespecífica, pelo que a contribuição do laboratório, sobretudo dos laboratórios de referência, é essencial para o esclarecimento da etiologia dos casos clínicos. A abordagem laboratorial depende muito do solicitado pelo clínico, do tipo de amostra enviada e do tempo que passou desde o início da sintomatologia. Assim, a cultura e a detecção dos ácidos nucleicos habitualmente é realizada durante a fase aguda da doença. A utilidade do diagnóstico imunológico está limitada à utilização de amostras de doentes em já decorreu pelo menos uma semana desde o início da infecção, sendo que é recomendada para validação da técnica a análise de duas amostras consecutivas com 2 a 3 semanas de intervalo. Se as informações obtidas a partir da cultura e pelas técnicas de biologia molecular são muito mais completas e informativas, por norma os métodos imunológicos são rápidos e permitem detectar o contacto com o agente etiológico mesmo nos casos em que a infecção já se iniciou há meses ou mesmo anos, como é o caso da borreliose de Lyme.

A análise dos resultados no período em estudo confirmou que as doenças associadas a vectores com maior casuística em Portugal são a febre escaro nodular e a febre Q. Excepcionalmente, devido à ocorrência do surto de Dengue na Ilha da Madeira, em 2012 as arboviroses apresentaram um elevado número de amostras positivas. Uma vez que o CEVDI/INSA é o laboratório de referência para esta patologia, os resultados positivos foram confirmados neste laboratório.

Para algumas patologias incluídas neste estudo como por exemplo a tularémia e a anaplasmose humana, o número de pedidos foi muito baixo e não foram detectados casos positivos. Este facto não é inédito uma vez que muitas vezes os testes laboratoriais não são pedidos por existir uma suspeita clínica clara mas sim para excluir possíveis etiologias. Contudo, a execução destes diagnósticos no laboratório de referência é extremamente importante quer porque são doenças cujos agentes etiológicos circulam no nosso território, podendo existir casos de importação, quer porque pode não existir mais nenhum laboratório a executá-los.

Muito positivo tem sido também o intercâmbio de informação entre os clínicos e o laboratório, o que permite cada vez mais que o método de diagnóstico laboratorial, o tipo de amostra e as condições de colheita e transporte até ao laboratório sejam as mais adequadas a cada caso, o que se traduzirá em benefícios para o doente e em ganhos para a saúde pública.

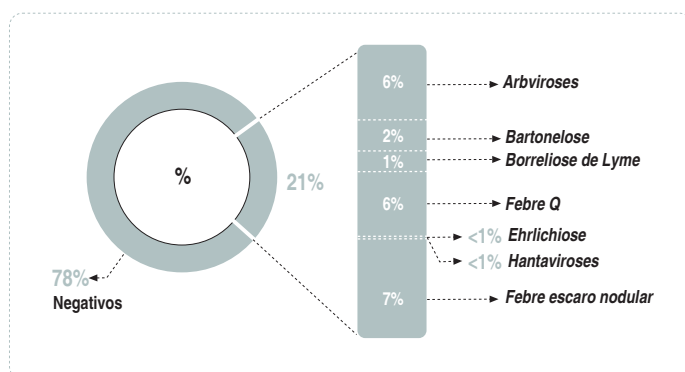
→ continua

artigos breves\_ n. 11

Quadro 1: Métodos utilizados neste estudo, respectivos limiares de positividade e casuística.

Doença	Agente	Método imunológico	Limiar de Positividade (Soro/Plasma)		Limiar de Positividade (LCR)	Nº amostras Positivas / Nº total de amostras (%)
			IgM	IgG / IgA, M, G	IgA / M, G	
Anaplasrose humana	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	IFA, <i>A. phagocytophilum</i> IFA IgM/ IgG substrate slides, comercial	> ou = 80	> ou = 80	> ou = 4	0 / 10 (0%)
Arboviroses	Arbovírus (Dengue, Febre Amarela, West Nile, TBE, Dhoti, Thogoto, Chikungunya e Toscana)	IFA, <i>in house</i> e comercial ELISA Comercial	> ou = 16	> ou = 32	> ou = 4	118 / 323 (37%)
Bartonelose	<i>Bartonella henselae</i> e <i>Bartonella quintana</i>	IFA comercial	> ou = 32	> ou = 128	> ou = 4	32 / 189 (17%)
Borreliose de Lyme	<i>Borrelia burgdorferi</i> s.l.	IFA, <i>in house</i> ELISA, comercial Western-blot, comercial	> ou = 32	> ou = 256	> ou = 4	17 / 287 (6%)
			> ou = 5	> ou = 5	> ou = 5	0 / 22 (0%)
			1 banda específica	1 ou 2 bandas específicas	1 ou 2 bandas específicas	1 / 32 (3%)
Febre Q	<i>Coxiella burnetii</i>	IFA, <i>C. burnetii</i> Phase I + II, comercial	> ou = 50	> ou = 200	> ou = 4	123 / 543 (23%)
Ehrlichiose humana	<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	IFA, <i>E. chaffeensis</i> IFA IgM/ IgG substrate slides, comercial	> ou = 32	> ou = 128	> ou = 4	104 / 411 (25%)
Hantaviroses	Hantavírus (Hantaan, Puumala, Seoul e Saarema)	IFA, <i>in house</i> e comercial	> ou = 16	> ou = 32	> ou = 4	1 / 18 (6%)
Febre escaro nodular	<i>Rickettsia conorii</i> (grupo das febres exantemáticas)	IFA, <i>in house</i> e comercial	> ou = 32	> ou = 128	> ou = 4	0 / 13 (0%)
Coriomeningite linfocitária	Arenavírus (vírus LCM)	IFA, <i>in house</i>	> ou = 16	> ou = 32	> ou = 4	
Tularémia	Francisella tularensis	Microaglutinação <i>in house</i>	> ou = 128		Não relevante	
Total						396 / 1848 (21%)

Gráfico 1: Impacto de cada patologia na amostra estudada.



## notícia

## **Resultados preliminares do estudo e\_COR (Prevalência de fatores de risco na população Portuguesa) da região de Lisboa e da região Centro**

Os resultados preliminares do estudo e\_COR (Prevalência de fatores de risco cardiovascular na população Portuguesa) da região de Lisboa e da região Centro foram divulgados no INSA dia 11 de abril último, na sessão de comemoração do Dia Mundial da Saúde dedicado à Hipertensão. Em relação à hipertensão, o fator de risco biológico mais frequente na nossa população, a prevalência encontrada numa amostra da população da região de Lisboa foi de 49,4%. Foi ainda encontrado um controlo da doença eficaz em 44,3% dos doentes tratados na região de Lisboa e em 29,3% na região do Centro. Estes dados indicam que ainda há muito trabalho a ser realizado junto dos profissionais de saúde e dos doentes para aumentar a adesão ao tratamento e a prescrição correta de medicamentos anti-hipertensores. Dos restantes resultados do e\_COR 2012 apresentados salienta-se um aumento do consumo de tabaco para 24,9% para a região de Lisboa (28,7% nos Homens e 20,6 % nas Mulheres) e de 17,5% para a região Centro (23,0% nos Homens e 11,8% nas Mulheres), em relação ao estudo da Direção Geral de Saúde de 2008, que apresentou uma prevalência nacional de 16,4% (24,5% nos Homens e 9,5% nas Mulheres). As prevalências em ambas as regiões aumentaram em relação ao estudo da DGS, em particular para o género feminino. Estes resultados demonstram a necessidade da revisão da lei do tabaco. Os dados apresentados são, de momento, apenas indicativos do estado de saúde da nossa população uma vez o estudo e\_COR foi definido para ter representatividade nacional e não regional. Os resultados finais do estudo e\_COR esperam-se para finais de 2014.

**Mafalda Bourbon**

mafalda.bourbon@insa.min-saude.pt

Unidade de I&amp;D. Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis, INSA.

## ficha técnica

\_Título: Boletim Epidemiológico Observações

\_Periodicidade: Trimestral

\_ISSN: 2182-8873 (em linha)

\_ISSN: 0874-2928

\_Numeração: 2ª série,  
Volume 2, número 5  
Julho-Setembro 2013

## \_Diretor

José Pereira Miguel, Presidente do INSA

## \_Editores

Carlos Matias Dias, Departamento de Epidemiologia

Elvira Silvestre, Biblioteca

## \_Conselho Editorial Científico

Carlos Matias Dias, Departamento de Epidemiologia

Elsa Alverca, Departamento de Saúde Ambiental

Jorge Machado, Departamento de Doenças Infecciosas

Manuela Caniça, Conselho Científico do INSA

Peter Jordan, Departamento de Genética Humana

Sílvia Viegas, Departamento de Alimentação e Nutrição

Sofia Guiomar, Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2013.

Reprodução autorizada desde que a fonte seja citada, exceto para fins comerciais.  
Isento de Registo no ERC ao abrigo do decreto-regulamentar 8/99 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