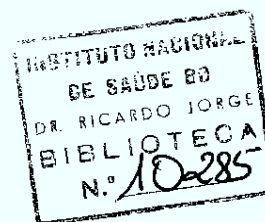


Arquivos  
do Instituto Nacional  
de Saúde

Volume II

LISBOA—1973



# **Arquivos do Instituto Nacional de Saúde**



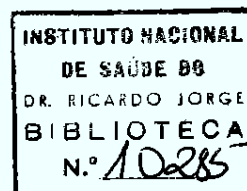
**Arquivos  
do Instituto Nacional  
de Saúde**

**II Volume**

**LISBOA—1973**







## 1.ª SECÇÃO

- 1 — Política de investigação em saúde  
*F. A. Gonçalves Ferreira*
- 2 — Política de saúde e reforma dos serviços de saúde  
(Metodologia e vias de execução)  
*Pedro Morais Barbosa*
- 3 — Modernas condições de saúde, habitação e urbanismo  
*F. A. Gonçalves Ferreira*



## POLÍTICA DE INVESTIGAÇÃO EM SAÚDE

F. A. Gonçalves Ferreira<sup>1</sup>

1 — O Ministério da Saúde e Assistência tem desenvolvido nos últimos tempos actividade acentuada para estimular os serviços responsáveis no sentido de acompanharem o movimento geral de pesquisa em curso no mundo civilizado, que, relativamente ao problema da saúde das populações, se intensificou de forma rápida, nos diversos ramos das ciências da saúde e da tecnologia médica, depois da Segunda Grande Guerra.

Durante os anos de 1970 e 1971, o Ministério procurou mesmo definir, simultaneamente, as bases duma política de saúde e duma política de investigação aplicada nos seus sectores de trabalho ainda pouco evoluídos ou mais directamente carecidos de novos métodos de organização e de técnicas especializadas de estudo.

Não pode, hoje, estabelecer-se uma política de saúde segura, correcta e consequente nos resultados práticos, sem que se disponha para o seu delineamento e para o prosseguimento das actividades concretas, gerais ou especializadas, em que ela se especifica, de uma base sólida de conhecimentos, permanentemente renovados e aperfeiçoados, fornecidos por adequada investigação dos factores ambientais e humanos intervenientes.

Esta investigação tem-se orientado, ao longo do tempo, quase só por forma pragmática não planeada, em duas direcções:

- no sentido de estabelecer objectivos, prioridades e programas para o estudo das condições existentes, de que depende a *saúde* da população, para alargar o conhecimento das suas características actuais e tendências evolutivas e avaliar o nível do seu estado real pelo estabelecimento de índices e medições concretas do estado de saúde ou de doença dos indivíduos e das comunidades;
- na via da pesquisa em campos determinados do controlo das doenças e, também, do problema mais geral da *doença*, em conjunto, como estado oposto ao de *saúde*, com a finalidade imediata de desenvolver ou seleccionar métodos de luta contra as doenças, e aperfeiçoá-los, por forma a poderem ser aplicados com eficácia crescente de resultados.

Adiante se acentuará, que não se trata, aqui, de considerar apenas a tradicional investigação clínica, relacionada com uma ou outra doença ou com doenças raras ou esotéricas e

<sup>1</sup> Director do Instituto Nacional de Saúde — Lisboa.

organizada em moldes simplistas que, pelos fins e formas próprias, reveste uma individualidade de âmbito tão restrito que quase permite abstrair dela. Pensa-se, sim, na investigação de campo coordenada, cobrindo áreas específicas que correspondem a necessidades ou exigências postas às actividades da administração de saúde pública e dos serviços executivos, ao procurarem a melhoria da saúde, e facilitem o alargamento e a eficácia da sua intervenção.

Certamente que não é possível aos países com reduzidos rendimentos sustentar múltiplas fontes originais completas de investigação em saúde, nos moldes das que os países mais experientes e com maiores disponibilidades financeiras, técnicas e humanas mantêm e desenvolvem.

Mas há que conhecer os problemas e aproveitar a facilidade de comunicações internacionais, a difusão rápida de informações e os contactos entre investigadores para, sem atrosos, saber incorporar, em cada país ou região e com as adaptações reconhecidas indispensáveis, a experiência e resultados já adquiridos por outros, poupando tempo e utilizando melhor os meios disponíveis, que podem, assim, ser seleccionados e aplicados com objectividade.

O que, em qualquer caso, não pode dispensar-se é a montagem e a manutenção das instituições e dos sistemas de trabalho que assegurem, pela obtenção de novos conhecimentos mais precisos, obtidos directamente e importados, a aplicação dos meios que servem de base às actividades dos serviços nos diversos níveis de intervenção da administração de saúde pública.

2 — Será neste caminho que convém dispor todas as potencialidades existentes e admitir que é indispensável concentrar grande parte da investigação nos sectores mais produtivos, de que depende o processo do desenvolvimento e o bem-estar, e não num domínio qualquer ou mesmo em qualquer caso particular.

A este respeito, sabe-se como as universidades têm sempre favorecido a investigação erudita e demorada de carácter fundamental — a investigação pura, como agora parece acertado designá-la — e, ao mesmo tempo, mostrando pouca tendência para se debruçarem sobre as coisas simples e importantes à nossa volta, cujo estudo traria mais benefícios im-

ediatos, quer para os indivíduos e comunidades, quer para o desenvolvimento de alguns sectores da própria ciência e da tecnologia.

E sabe-se, também, como outras instituições e entidades se têm sempre empenhado em desenvolver, no campo da saúde, a investigação de interesse imediato — a chamada investigação aplicada, em grande parte de natureza tecnológica — para melhorar os métodos e técnicas de luta contra as doenças e os processos de tratamento e reabilitação.

Uma e outra são indispensáveis no mundo de hoje. Mas há benefícios que precisamos de conseguir em primeiro lugar, isto é, com a rapidez que estiver ao nosso alcance, e, para a melhoria da saúde, estes benefícios ou conquistas, que se estendem por áreas especificadas da biotecnologia, consideram-se necessidades urgentes a satisfazer, porque representam em toda a parte impulsos decisivos para o progresso e bem-estar, como a experiência tem demonstrado, e correspondem a passos que é preciso dar e sem os quais não há mudanças de situação.

3 — Convirá acentuar, repetindo frases e conceitos estabelecidos de há muito, o modo como a investigação deve ser entendida e que ligações se estabelecem entre ela e o avanço tecnológico no campo da saúde ou em qualquer outro.

Entre técnica e investigação científica há relações muito íntimas, como as há entre ciência (conhecimento nos diversos ramos do saber) e investigação (meio de obter novos conhecimentos e técnicas), pois, se a técnica depende em grande parte do estado de avanço da ciência, esta depende ainda mais da técnica, isto é de possibilidades técnicas novas, sendo um facto histórico que, quando a sociedade moderna resolve impor-se maiores progressos técnicos imediatos, resultantes de objectivos fixados imperativamente, o impulso dado à ciência, nos ramos envolvidos pela investigação a empreender, é sempre grande.

A investigação tem sido favorecida pela sociedade com o objectivo de satisfazer necessidades novas ou crescentes, e, sob o ponto de vista da política geral e da economia, pode ser considerada um investimento como qualquer outro.

Não é remuneradora por si própria, mas pelas técnicas que cria ou melhora — na medida em que estas técnicas são aplicadas,

directa ou indirectamente, em benefício do interesse comum — e pelos esclarecimentos que proporciona no conhecimento do mundo e dos seus problemas.

As condições de sucesso da investigação são múltiplas e estão na dependência:

- a) da natureza dos objectivos e extensão dos meios postos à sua disposição, sob a forma de número e qualidade de investigadores, amplitude das dotações, organização e equipamento dos serviços em que é praticada;
- b) das condições ambientais, que, por necessidade de novas técnicas e novos conhecimentos e muitas vezes por emulação entre países, serviços e pessoas ou pela intervenção de entidades e do público em geral, impulsionam o desenvolvimento científico; e, finalmente,
- c) de certas condições morais e espirituais oferecidas aos investigadores — como a possibilidade de recrutar livremente colaboradores e formar escola, de elaborar projectos de trabalho e de os seguir e de poder manter liberdade de espírito crítico e criador na apreciação do trabalho científico e dos seus condicionalismos.

A investigação, pela sua importância para a sociedade e pelos meios que exige, não se pode hoje estimular e coordenar no abstracto, mas, sim, tendo em vista objectivos claramente definidos, o que lhe tem retirado, progressivamente, o carácter inicial de actividade praticada de forma anárquica. Custa caro, pelo menos em muitos sectores, e é legítimo que os cientistas e os técnicos que a realizam prestem contas à Nação do emprego dos créditos que lhes são oferecidos e dos resultados com estes obtidos.

Por outro lado, e este ponto é fundamental, não basta que o Estado ponha à sua disposição certa soma de créditos, de resto sempre insuficientes entre nós e, também, nas conhecidas proporções, lá fora, mesmo nos países mais experientes dos benefícios da investigação. É preciso que se defina um princípio organizador da investigação e se criem perspectivas de trabalho produtivo que estabeleçam uma ligação efectiva entre ciência, tecnologia e necessidades da comunidade.

A este respeito, os investigadores estão divididos pessoalmente, pela sua preparação e características individuais de temperamento,

segundo duas tendências: de um lado, os que preferem trabalhar de acordo com o seu génio, curiosidade, inspiração ou fantasia; de outro, os que participam em obra de interesse geral e têm a preocupação de desenvolver as suas próprias investigações pessoais no quadro de trabalhos de determinada orientação científica, técnica ou social, directamente ligada aos interesses da colectividade.

Para os primeiros, há que saber distinguir os que são na verdade geniais e aproveitar a sua alta capacidade de descoberta, proporcionando-lhes as condições necessárias de trabalho, mesmo com o risco de atrasar outras iniciativas. Sabe-se que a proporção de génios é muito pequena, pois, mesmo entre os investigadores que representam já uma selecção muito grande, não irá além de 1 ou 2 por 1000 e com distribuição irregular no tempo.

Para os segundos, há que desenvolver os serviços próprios dentro da orientação da política de investigação estabelecida em cada país.

4 — A investigação que interesse directamente à melhoria imediata da saúde compreende:

- 1) O estudo dos estados de saúde e de doença, cobrindo os campos da promoção da saúde e da luta contra a doença — considerando-se, neste último domínio, a prevenção das doenças (no sentido da sua erradicação), a epidemiologia e a investigação clínica, esta para efeito de mais eficaz recuperação e reabilitação dos doentes;
- 2) o estudo do meio ambiente, para esclarecimento dos problemas de adaptação dos indivíduos às condições existentes, da alteração das condições naturais no exterior e nos locais de trabalho, que haja de modificar ou corrigir, e dos riscos e perigos da poluição.

No campo da luta contra a doença, a investigação visa directamente dois objectivos essenciais:

- a) o controlo das doenças existentes, como estados ou entidades indesejáveis, perturbadoras do bem-estar e da capacidade de trabalho e de adaptação dos indivíduos, que, por alteração da saúde de maior ou menor número de pessoas, simultaneamente ou ao longo do tempo,



acarretam prejuízos de toda a ordem para os indivíduos, atingindo famílias e comunidades.

- b) a pesquisa biológica ou de estudo dos factores e mecanismos de que dependem as doenças, para que se possa compreender a cadeia de fenómenos biológicos que condicionam o seu aparecimento e promover a elevação do nível de saúde e a prevenção dos riscos a que esta se encontra sujeita nas diversas comunidades.

*O primeiro destes objectivos — o do controlo das doenças existentes — depende de dois grupos de factores de intervenção em permanente desenvolvimento:*

- *esclarecimento de problemas precisos* respeitantes a cada uma das doenças (particularmente da sua causa, modo de aparecimento, maneira como se distribuem na população, processos específicos de prevenção e de tratamento e outros meios de profilaxia), de forma a poderem ser estabelecidos e aplicados métodos de luta eficientes por acções coordenadas que conduzam à sua erradicação.

O termo erradicação significa o desaparecimento da doença na população considerada, pela mudança das condições de que dependia a sua persistência.

A erradicação tem sido conseguida por fases sucessivas de ataque, geralmente sob a forma de campanhas, primeiro, e, depois, pela aplicação regular e continuada de meios adequados de prevenção e vigilância.

São exemplos, entre nós, o desaparecimento do tifo exantemático (por medidas de isolamento e de higiene pessoal), da varíola (por imunização maciça da população receptiva), da raiva (por vacinação do animal hospedeiro), do paludismo (por aplicação conjunta de medidas de luta contra o vector no ambiente e de tratamento dos doentes) e a diminuição progressiva da poliomielite, da difteria, do tétano, da febre tifóide, da lepra e da tuberculose, entre outras.

Mas, ao lado do aperfeiçoamento dos meios de luta, há que obter novos conhecimentos em todos os domínios de es-

tudo das doenças e, em particular, da epidemiologia, para que se possam compreender as suas causas, distribuição e efeitos em cada comunidade.

- *organização de estruturas* que assegurem a aplicação oportuna dos conhecimentos adquiridos. A investigação no domínio das estruturas tem como objectivo o seu aperfeiçoamento, desenvolvendo e melhorando os métodos de trabalho. Envolve medidas de planeamento, programação e avaliação, com ensaios experimentais.

Enquanto o esclarecimento de cada um dos problemas apresentados pelas doenças depende, em grande parte, de estudos próprios ou da importação de novas ideias e conhecimentos, obtidos sobretudo dos países com mais experiência e meios de acção mais eficazes, a organização das estruturas adequadas de serviços de saúde é indispensável e insubstituível, implicando a adaptação precisa destes aos objectivos e actividades a empreender, distribuindo-os pelas áreas local, regional e nacional, dentro da cronologia de execução das tarefas correspondentes.

*O segundo dos objectivos — o da pesquisa biológica ou biomédica — é de outra índole, porque corresponde, não a um fim prático bem definido e avaliável em termos de programas de acção determinados, mas ao alargamento dos conhecimentos no sentido de se encontrar explicação lógica para a doença como processo de alteração do que chamamos saúde, avaliada essa alteração pelo estado de normalidade das funções orgânicas (fisiológicas e metabólicas).*

Exige o estudo dos processos biológicos de ordem físico-química, molecular e citológica (biologia celular), que estão na origem das anomalias ou perturbações causadores do estado de doença, processos que resultam da intervenção de factores anormais transportados pelo próprio organismo (caso das doenças ou incapacidades devidas a material genético alterado e a perturbações metabólicas endógenas), de factores estranhos vindos do meio ambiente exterior (vírus, bactérias, parasitas, substâncias tóxicas ou incómodas, radiações, ruídos) ou ainda de desequilíbrios entre a capacidade de meios do organismo e necessidades fisiológicas inerentes e a maneira como são

utilizados ou satisfeitos (faltas e excessos de alimentação e sua repercussões em nutrição, actividades desregradas ou inadaptadas, desajustamentos sociais ligados à urbanização e à instabilidade da vida comunitária).

A investigação da saúde no domínio do ambiente procura, fundamentalmente, esclarecer os problema das condições higiénicas das comunidades, da urbanização ou renovação urbana e transportes, do «contrôle» da poluição e da adaptação tão completa quanto possível aos indivíduos das condições especiais de trabalho e outras ocupações.

5 — Das múltiplas formas por que a investigação precisa de ser organizada no sector da saúde, a mais conhecida — investigação médica — cobre os campos da ciências básicas da medicina, da medicina clínica, da saúde pública e da tecnologia médica, e apoia-se em métodos de planeamento, programação e avaliação de resultados, que têm sido aperfeiçoados progressivamente por técnicas de administração evolutivas.

A aplicação coordenada da investigação médica, combinada com a investigação de novas técnicas de administração, constitui objectivo fundamental de toda a política nacional de saúde que procure servir-se da investigação científica e tecnológica como meio de obter os conhecimentos cada vez mais precisos que são necessários para encontrar a solução correcta dos problemas a resolver.

É este, de resto, o único caminho, que se conhece, para realizar obra útil e sem grandes atrasos.

Para melhor se compreender o panorama actual da investigação médica, pode esta ser separada em campos de actividade individualizados que correspondem a zonas de acção, finalidades e metodologias diferentes, de acordo com os programas parcelares estabelecidos.

É exemplificativo fazer a classificação, segundo quatro vias de actividade:

- a) investigação fundamental, pura, ou biomédica, para explicação dos mecanismos de base que estão na origem dos fenómenos normais e patológicos, responsáveis pela saúde e a doença;
- b) investigação clínica, a realizar nos doentes, para melhorar os meios de diagnóstico e tratamento;
- c) investigação de saúde pública, para estudo dos meios de prevenir as doen-

ças e os riscos que se apresentam à saúde e ao desenvolvimento equilibrado dos indivíduos e das colectividades, e que, correntemente, engloba a investigação clínica;

- d) investigação tecnológica médica, de apoio às anteriores pela criação e aperfeiçoamento de meios físicos, químicos e fisiológicos.

*A investigação fundamental ou biomédica* não tem relação imediata com fins práticos e procura esclarecer os fenómenos de que dependem as entidades que chamamos saúde e doença, a sua natureza e os seus mecanismos (normais e alterados) para alargar os conhecimentos sobre a vida e o comportamento do homem, como indivíduo e elemento da sociedade nas condições em que esta se está a desenvolver.

Estende-se por três domínios sem limites estabelecidos: a medicina, propriamente dita, em contacto directo com o indivíduo — físico e mental; a biologia, como ciência dos fenómenos da vida; e a sociodemografia, que procura esclarecer a evolução e as tendências do homem em sociedade.

Tem uma perspectiva de aplicação a longo prazo e desenvolve-se no campo de disciplinas fundamentais com métodos de estudo próprios: bioquímica e biofísica, fisiologia, genética, biologia molecular, farmacologia, psicologia e sociologia.

*A investigação clínica* diz respeito aos doentes e às doenças respectivas e tem-se desenvolvido pelo estudo directo do indivíduo atingido, primeiro por meios reduzidos de interpretação, segundo a medicina clínica antiga feita à cabeceira do doente, depois pelo estudo das causas mais aparentes das doenças, implicando já alguma organização de serviços técnicos de diagnóstico, e, nos nossos dias, pela utilização de meios de investigação técnico-científica que ajudam a compreender e explicar as causas multifactoriais das doenças nas comunidades.

A investigação clínica utiliza sobretudo técnicas e conhecimentos práticos fornecidos por diversas disciplinas, tendo desenvolvido métodos e instrumentos de observação e pesquisa muito aperfeiçoados, que compreendem:

- técnicas e métodos físicos e fisiológicos, bem como numerosos instrumentos de medida, registo e fixação, que têm por

fin definir com maior precisão a natureza dos processos mórbidos e melhorar os meios práticos de diagnóstico e de tratamento;

- métodos químicos e bioquímicos, incluindo a bioquímica molecular que está na via de descobertas cada dia mais importantes para a explicação dos fenómenos fisiopatológicos, ao nível das estruturas ultramicroscópicas em que actuam os seus mecanismos essenciais;
- métodos de isolamento e de identificação de organismos e microrganismos causadores de doenças;
- métodos imunológicos, presentemente em fase de grande desenvolvimento com os estudos relativos a doenças de auto-imunidade e às intervenções de transplantação de órgãos, tecidos e células;
- ensaios de medicamentos, drogas e produtos biológicos com fins terapêuticos, que dependem em larga medida de provas clínicas e estão directamente relacionadas com a farmacologia clínica;
- métodos epidemiológicos, na prática mais ligados à investigação em saúde pública, mas que se podem considerar de investigação clínica pela sua natureza e modo como são aplicados na parte que diz directamente respeito aos indivíduos doentes.

A investigação clínica que não é enquadrada em estudos epidemiológicos procura fundamentalmente conhecer melhor as características médicas das doenças e as reacções dos doentes, para fins de diagnóstico e terapêutica e ainda de recuperação e reabilitação.

A *investigação em saúde pública* é uma investigação coordenada, que visa a promoção da saúde e o «contrôle» das doenças e a sua erradicação, bem como dos riscos a que está sujeita a saúde dos indivíduos e das comunidades, apoiando-se sobretudo nos métodos epidemiológicos e de investigação operacional (estudo do sistema de saúde e das prioridades recomendáveis), que adquiriram nos anos recentes acentuado carácter de precisão.

Utiliza um sistema moderno de colheita de dados, baseado, por sua vez em métodos estatísticos próprios, e compreende, além da investigação clínica na parte que se refere à identificação das doenças, as investigações ecológicas (relações entre o ambiente próprio

e o indivíduo) e etológicas (relações com a formação do carácter e comportamento).

A investigação em saúde pública considera a população, tal como é, um conjunto de pessoas de todas as idades distribuídas pelos dois sexos e que não podem ser separadas do ambiente em que têm de viver e com o qual formam uma entidade ecológica indissociável. A sua saúde deve corresponder a desenvolvimento harmonioso e natural de todos os indivíduos, em que intervêm três grupos de factores desigualmente contribuintes:

- as características genéticas do indivíduo (composição genética, genótipo ou genoma);
- factores do ambiente favoráveis para a saúde (factores positivos ou promotores de saúde);
- factores de ambiente desfavoráveis ou negativos (agentes produtores de doença, deficiência de factores promotores de saúde por alteração das condições do meio, aparecimento de factores novos desfavoráveis).

O primeiro grupo é o mais estável. A composição genética, na realidade, sofre alterações raras, pelo que o seu estudo para avaliar a importância da influência, como conhecimento da realidade existente e avaliação mais precisa das alterações no futuro. Também é indispensável conhecer a sua influência no envelhecimento (normal e patológico).

Os dois outros grupos (factores favoráveis e desfavoráveis do ambiente) está a sofrer modificações importantes na nossa época, tanto num sentido como noutro, e há que fazer todos os esforços para reforçar o primeiro na base da investigação (melhor conhecimento) do que se passa.

A *investigação em tecnologia médica* tem por objectivo o aperfeiçoamento e a descoberta de novos medicamentos, vacinas e outros produtos biológicos e a realização de aparelhagens aperfeiçoadas e de órgãos artificiais. A investigação tecnológica, no campo da saúde, apoia-se sobretudo nas ciências físicas, químicas e fisiológicas, mas a pesquisa no domínio dos medicamentos e vacinas exige investigação baseada em programas organizados para áreas precisas no domínio da química orgânica e da biologia, de acordo com os programas a executar na luta contra as doenças específicas.

6 — Ao considerar os grandes objectivos e prioridades da política de investigação em saúde, deve ter-se em vista que a sua definição geral ou com finalidades concretas, não é fácil nem tem sido preocupação importante dos responsáveis na maior parte dos países. Apesar disso, considera-se hoje essencial, como linha orientadora — sobretudo nos países e para os serviços no primeiro plano das responsabilidades, que dispõem de meios muito limitados de investigação e não podem desenvolvê-la simultaneamente e de forma útil em todos os níveis — que sejam concentradas as potencialidades de estudo e de pesquisa especial, à medida que forem sendo materializadas e tornadas operantes, na luta contra as doenças dominantes de maior risco, que oferecem perspectivas de prevenção e podem virtualmente ser eliminadas em prazos curtos de tempo, a fim de se libertar a população de tais flagelos.

A este respeito é ponto bem assente que uma correcta definição de objectivos e programas na luta contra as doenças deverá considerar, como linha orientadora de prioridades, a relevância destas doenças em função da sua importância e características sociais tendo em atenção:

- a responsabilidade pela maior mortalidade prematura, isto é, pelos casos de morte antes da idade que, estatisticamente, os indivíduos deveriam atingir na comunidade de que fazem parte;
- a responsabilidade pela maior morbilidade, considerada esta especialmente sob os pontos de vista da gravidade e do número de casos que ocorrem na população;
- a maior probabilidade de cada doença ou grupo de doenças serem debeladas — mais rapidamente e com menor custo.

A medida que as populações se libertam das doenças infecciosas e parasitárias de grande influência na sua saúde, como está a acontecer nos países evoluídos, as quatro causas mais importantes de morte prematura são as doenças do coração, cancro, acidentes e perturbações vasculares cerebrais. Em termos de duração, a mais importante causa individual da morbilidade parece ser a doença mental, especialmente sob a forma de esquizofrenia e psicose depressiva, vindo depois o cancro e algumas doenças dos aparelhos respiratório (bronquite, asma) e circulatório. A distribuição

das doenças de longa duração por ordem da sua perspectiva de debelação é muito mais difícil, como é o caso das psicoses e cancro, ainda que o tratamento das psicoses tenha feito relativamente mais progressos do que o do cancro. Sabe-se que este tratamento, em qualquer dos casos, não pode ser considerado bom, até agora.

A história tem mostrado que o mais importante factor de «contrôle» das doenças causadoras de morte prematura, assim como das que estão largamente disseminadas e são de longa duração ou principalmente depauperantes e impeditivas do trabalho, embora de índice baixo ou mederado de letalidade, tem sido a prevenção, a qual, por sua vez, tem dependido muito mais dos estudos de epidemiologia de que dos de biologia celular.

Desta realidade se tira a conclusão prática de que nos tempos presentes, em que há ainda muitas doenças importantes a debelar e poucos meios financeiros para o fazer, se deve dispensar maior esforço na profilaxia que ofereça boas perspectivas de êxito, do que na investigação biológica básica que ofereça poucas. E, daqui, a outra conclusão: — que é urgente efectuar os estudos que conduzem à elaboração de programas adequados de levantamento dos problemas existentes e de investigação dos dispositivos de luta contra as doenças domináveis, cujo «contrôle» seja considerado possível e prioritário, dentro dos planos estabelecidos.

A uma tal orientação, que procura conseguir a rápida melhoria da situação sanitária da população, com a desejável economia de meios, expressa pela relação custo/resultado, há-de corresponder o desenvolvimento da estrutura própria de serviços executantes e o cálculo do volume de meios de que precisam, em função do que lhes é pedido.

Como estes dois factores — estruturas de serviços e meios a utilizar — não se podem separar, é fundamental tomar posição, a seu respeito, em conjunto, nos planos a empreender.

7 — Os planos de investigação em saúde tendem no presente a considerar certos estudos urgentes, distribuídos por projectos cobrindo áreas especificadas que podem esquemática e prioritariamente incluir-se em quatro grupos:

- 1 — *Problemas de saúde distribuídos por áreas de investigação aplicada em saúde pública e tecnologia médica*

- 1.1 Prevenção das doenças que constituem as principais causas de morte prematura: doenças infecciosas e parasitárias, doenças do coração, cancro, acidentes. Procurar a erradicação, sempre que possível, na base da maior rapidez e do menor custo;
  - 1.2 Idem, para as doenças que são causa de maior morbilidade, têm longa duração e conduzem a perda de trabalho, separadas pelas suas características de incidência e prevalência, incluindo as doenças mentais;
  - 1.3 Inquéritos de saúde e de morbilidade na população e estudo de problemas especiais;
  - 1.4 Organização de serviços de saúde capazes da prestação, a toda a população, de cuidados de saúde generalizados e bem distribuídos, na base dos estudos de morbilidade, da aplicação de métodos de massa e da coordenação rural-urbana e regional;
  - 1.5 Organização de cuidados médicos de urgência e de cuidados de reabilitação;
  - 1.6 Órgãos artificiais e próteses correntes. Transplantações;
  - 1.7 Medicamentos e drogas. Qualidade, preço, orientação do consumo. Verificação da qualidade e pureza. Vigilância no mercado;
  - 1.8 Nutrição das populações e métodos de medida nos diversos grupos populacionais mais em risco: pré-natal, crianças, trabalhadores, pessoas idosas. Educação alimentar persistente, desde a infância;
  - 1.9 Habitação, urbanização, condições higiénicas das comunidades e luta contra a poluição.
- 2 — *Problemas de saúde distribuídos por áreas de investigação biomédica*
- 2.1 Microbiologia e imunologia;
  - 2.2 Genética humana;
  - 2.3 Diferenciação e regeneração de organelas, células, tecidos e órgãos;
  - 2.4 Envelhecimento;
  - 2.5 Ecologia e orientação biológica dos estudos da poluição;
  - 2.6 Ciência neurológicas, biopsicologia e comportamento;
  - 2.7 Demografia, socio-demografia e sistemas de população;
  - 2.8 Estudo dos grupos nas comunidades, saúde emocional, habitação, transportes, lazeres.
  - 2.9 Educação médica. Análise dos sistemas e adaptação dos métodos e serviços de ensino às necessidades da sociedade em evolução.
- 3 — *Problemas da população e suas tendências*
- 3.1 Desenvolvimento e diminuição da fertilidade e da mortalidade. Métodos contraceptivos e racionalização da reprodução. Planificação familiar;
  - 3.2 Grupos étnicos;
  - 3.3 Mobilidade das pessoas: rural-urbana, novas regiões, emigração;
  - 3.4 Pressão da população e condições modernas de vida.
- 4 — *Problemas da alimentação racional da população*
- 4.1 A produção dos alimentos convenientes na dependência da agricultura — novas sementes, genética, fertilizantes, industrialização — da produção;
  - 4.2 Alimentos fornecedores de proteínas, provenientes dos oceanos;
  - 4.3 Alimentos provenientes de novas fontes microbiológicas (petróleo, etc.);
  - 4.4 Adaptação da indústria e do comércio dos alimentos.
- 5 — *Problemas presentes e previsíveis do ambiente*
- 5.1 Urbanismo e condições modernas de saúde (física e mental);
  - 5.2 Política da água e gestão dos recursos;
  - 5.3 Política do ar e gestão dos recursos;
  - 5.4 Sistemas ecológicos fundamentais para a saúde.
- 8 — Como já foi dito em publicação recente (*Política de Saúde em Portugal — Uma experiência de definição legislativa e de organização de serviços*, 1972), o Ministério da Saúde e Assistência pensa que a investigação neste campo, em ligação com a investigação médica geral que possa ser efectuada noutros depar-

tamentos, deve ser rapidamente incrementada e progressivamente integrada em planos e programas.

Foi dado o primeiro passo nesse sentido, ao criar-se um organismo — Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge — com a função de orientar e coordenar, dentro de planos estimuladores da investigação e à medida que as condições humanas e técnicas o permitam, a organização de centros ou núcleos de trabalho e a concessão de subsídios e bolsas de estudo, a utilizar em serviços nacionais e estrangeiros, com o objectivo de promover a investigação médica de utilidade imediata para o País.

Estão neste momento em estudo:

- a paramiloidose familiar do tipo português, doença degenerativa de provável origem genética, identificada numa área delimitada do Noroeste do País por Corino de Andrade, e que se julga atingir alguns milhares de indivíduos, para a qual haverá que estabelecer medidas profilácticas adequadas;
- diversos aspectos da morbilidade por doenças infecciosas, incluindo as viroses mais frequentes ou graves e os núcleos de parasitoses específicas que atingem grupos populacionais mal conhecidos e podem ser erradicados depois de inventariadas as suas características epidemiológicas e os agentes vectores responsáveis;
- as características da morbilidade da população, em geral, por inquérito directo numa região do Norte do País, compreendendo os distritos de Braga e Vila Real, e da maneira como as necessidades de serviços de saúde estão a ser satisfeitas pelos actuais organismos existentes ao nível concelhio e distrital, ao mesmo tempo que são avaliados os recursos humanos de saúde, em termos de número de técnicos e auxiliares disponíveis ou potencialmente recrutáveis, com apreciações extrapoláveis à restante população e respectivo esquema de serviços de saúde do País;
- inventariação específica das doenças de origem genética, por regiões e em âmbito nacional;

- diversos aspectos de doenças profissionais respiratórias, relacionadas com reacções imunológicas, bioquímicas e mecânicas;
- diversos aspectos da poluição da atmosfera nas cidades de Lisboa e Porto e áreas industrializadas limítrofes, bem como de locais de trabalho;
- diversos aspectos da poluição de cursos de água, sobretudo por resíduos industriais;
- as medidas adequadas ao delineamento dos esquemas administrativos que hão-de fazer funcionar os novos sistemas de prestação de cuidados de saúde indispensáveis à população.

A investigação feita no presente pelas Faculdades de Medicina, Institutos e alguns Centros Hospitalares deve ser alargada e intensificada nos domínios da saúde pública, para o que se torna indispensável a realização de trabalhos de planificação prévios que permitam a elaboração de programas e projectos de estudo assentes no conhecimento dos dados concretos das nossas realidades.

E, quanto a estas, há urgentemente que atender aos problemas ainda não resolvidos no presente e aos que irão aparecer no futuro imediato com intensidade maior se não forem estudadas as suas soluções.

O desenvolvimento, com os seus reflexos práticos na vida do trabalho, transportes, urbanização e industrialização, está a modificar profundamente o meio em que o homem vive, desorganizando-o e poluindo-o, e tem criado, por toda a parte, condições desfavoráveis a uma boa saúde, por imprevidência e desrespeito do interesse comum, que se acompanham de dificuldade progressiva de adaptação dos indivíduos de todas as idades, quer sob o ponto de vista físico quer mental.

Novas obrigações se apresentam no planeamento da investigação para cada país, de forma que seja possível actuar em tempo oportuno e com eficiência, recolhendo os elementos informativos indispensáveis e aplicando as medidas que este conhecimento tornar aplicáveis.



# POLÍTICA DE SAÚDE E REFORMA DOS SERVIÇOS DE SAÚDE

(Metodologia e vias de execução)

*Pedro Morais Barbosa*<sup>1</sup>

1. Nem por haver já sido afirmado em ocasiões anteriores se torna inútil repetir, ainda mais uma vez, que a Reforma da Saúde, projectada em 1970 e começada a executar logo a seguir à promulgação legislativa (1971), ultrapassou muito largamente, na sua perspectiva global, o propósito de uma mera remodelação orgânica de serviços acrescida no estabelecimento de estímulos tendentes a fomentar adequadas aptidões profissionais. Com o propósito de promover uma conveniente prestação de cuidados de saúde e adaptar os correspondentes serviços aos conhecimentos e possibilidades técnicas do período actual, ela introduziu no País uma nova concepção, claramente definida e perdurável, da política da saúde, estruturando serviços e organizando actividade de execução em termos ajustados à época presente e próprios para o tempo em que irão viver as próximas gerações.

Materializada, inicialmente, em dois diplomas (um, sobre orgânica; outro, relativo a carreiras profissionais), a verdade é que estes não podiam exprimi-la completamente nem a esgotam, pelo que se haviam também previsto, por um lado, uma explanação suficientemente desenvolvida, destinada a justificar os princípios basilares que nesses textos são aplicados e, por outro, um vasto conjunto de medidas — tanto de produção de normas legais como,

igualmente, de natureza técnica e administrativa — que se entendeu condicionarem em absoluto a possibilidade de execução de uma verdadeira reforma e que continuam a apresentar-se como indispensáveis.

Quer pelos objectivos assumidos quer pelos métodos observados, conferiram-se, na verdade, a esta Reforma características que substancialmente a diferenciaram das pequenas modificações que, ao longo dos anos, haviam sido introduzidas, em leis e serviços, no campo da Saúde. Enquanto fora o carácter casuístico e de pouca inspiração doutrinária e técnica que dera o tom à produção legal neste sector, e precedentes intervenções no sistema de saúde sempre tinham denotado um inteiro divórcio entre os esquemas orgânicos e os princípios e processos de actuação sanitária, desta vez concebia-se e intentava-se executar de acordo com uma visão harmonicamente integrada dos vários planos em que o problema da prestação de cuidados de saúde precisa de ser encarado para a nossa sociedade, e, além disso, respeitava-se uma hierarquia lógica e funcionalmente válida na procura das correspondentes soluções, que se desejava fossem progressivas, ao longo do tempo.

Assim, reconhecendo-se, antes de mais, que um sistema de órgãos apenas revela utilidade quando colocado ao serviço de funções (só

<sup>1</sup> Investigador do Instituto Nacional de Saúde — Lisboa.



podendo, portanto, ser projectado após definição que destas previamente se faça) e que, por seu turno, o delineamento de um conjunto equilibrado de funções pressupõe a adopção, em termos precisos, dos objectivos que por meio delas se pretende prosseguir, observou-se o critério imposto por esta mesma sequência, partindo-se da tomada de opções políticas para o desenho de funções e, correlativamente, da orgânica destinada a servi-las.

Entretanto, na assumpção de finalidades, aplicou-se o conceito fundamental de Saúde, na sua devida amplitude, quer pelo que respeita a destinatários, quer relativamente ao conteúdo, mediante adequada ponderação das responsabilidades e das possibilidades práticas que decorrem do actual estágio dos conhecimentos científicos e dos meios técnicos a que pode recorrer-se neste domínio. Desejou-se, nesta conformidade, garantir o direito à saúde a todos, isto é, sem diferenciações por motivos individuais ou implicadas pela montagem de serviços para grupos de população. Por seu turno — e, aliás, em concidência com este propósito — o traçado de funções obedeceu à ideia capital de prestação integrada de cuidados de saúde, o que envolve a harmonização das várias intervenções e a continuidade funcional destas, desde os cuidados de base até aos mais especializados. Por isso mesmo, o esquema orgânico seguiu uma fórmula sistematizada, capaz de abrir a expectativa de um conjunto de actuações que, embora pluridisciplinares e especializadas, se exercessem unitariamente e se orientassem, assim, todas, para a efectivação dos fins, essencialmente unos, que se procurava atingir.

Para além destas premissas, com a consciência de que a dinâmica dos órgãos — e, por isso, o preenchimento das funções e a realização das finalidades — não se obtém senão por meio de trabalho profícuo, contemplou-se muito especialmente o aspecto da promoção de disponibilidades de agentes bastantes e suficientemente habilitados. Foi exactamente neste contexto que se regularam (e, quanto a certos casos, se criaram) as carreiras profissionais, que, pela segurança oferecida e pela correlativa exigência de qualificações, funcionariam como incentivo a concorrer, a par de outros meios, para o resultado que se desejava. Evidentemente, porém, as medidas previstas a este respeito não se limitavam à simples criação de estímulos e exigência de requisitos de habilitação para acesso aos car-

gos ou para exercício das actividades de saúde: — planeava-se em geral a formação de profissionais, encarando-se, por um lado, certas revisões, imprescindíveis, da formação de base (tanto a nível superior como a nível médio) e, por outro, adequadas formas, que praticamente não existiam, de autêntica formação profissional, projectada à luz das tarefas concretas a desempenhar.

Finalmente, avançando-se ainda mais, reputava-se indispensável difundir critérios de actuação, elaborados sobre bases técnicas e mediante informação científica, do mesmo passo que, noutro aspecto, se entendia necessário regular as relações de saúde — nomeadamente no plano jurídico — de modo a orientá-las pelos parâmetros de uma criteriosa disciplina.

Acrescente-se que, relativamente ao momento de gestão, era propósito dominante incutir o espírito — a que, de passagem, aludimos já — de actuação em equipas pluridisciplinares convenientemente integradas. Ponderava-se, com efeito, que a Saúde requer, hoje, o concurso de preparações especializadas de diversos ramos, mas que, tornando-se, em si mesma, uma disciplina autónoma e diferenciada, pelos fins e método, solicita que as diferentes formações convocadas a nela intervir cooperem em convergência, imposta, de resto, pela unidade do objecto da actuação.

Embora sobrelevando principalmente no momento da gestão, este ponto afigura-se de primacial relevância e esteve presente no espírito que norteara as soluções orgânicas e as normas sobre carreiras profissionais — o que se manifesta no tratamento em conjunto de todas as carreiras das várias especialidades e, igualmente, no teor dos principais dos órgãos criados, bem como no tipo de relações a travar entre estes de acordo com o que se decretou.

Desligados deste contexto de propósitos, os dois diplomas publicados em Setembro de 1971 perdem o verdadeiro significado e resultam inconsequentes. Tomaram-se desde logo as iniciativas neles consubstanciadas, por se considerar que essas eram as prioritárias no complexo das que haveriam de compor a Reforma: — efectivamente, sem órgãos que se ocupassem, sob coordenação, das actividades de saúde, não seria possível concretizar a linha de projectos que se acalentavam e, do mesmo modo, na ausência de estímulos, a formação de profissionais redundaria em tentativa votada ao

malogro, não podendo, nesse caso, contar-se, sequer, com o exercício responsável dos cargos. Para além delas, encontravam-se, no entanto, muitas outras que importa tomar para que a Reforma continue, vinda a traduzir-se nos benefícios reais que foi seu escopo proporcionar à população.

2. Confrontando a generalidade de objectivos, inicialmente adoptados, com as concretizações que foi possível alcançar já, apercebemo-nos, com efeito, facilmente, de uma série de intervenções que parece oportuno promover. Estimar-se-ia ver considerar, sobretudo, medidas das seguintes ordens:

- a) Difundir os princípios basilares da Reforma, aplicá-los em continuidade de acção política e fomentar a sua observância na gestão administrativa;
- b) Realizar, com a prioridade que as necessidades aconselham, a instalação de serviços, observando o critério de integração que permita encaminhar para o Sistema Único de Saúde, na forma aconselhável;
- c) Regular especificamente as funções e tutelar em termos convenientes o exercício dos cargos, conferindo-lhes o tipo de funcionamento compatível com os objectivos e princípios da Reforma;
- d) Rever a formação técnica de base, com particular realce para o ensino da medicina, tendo em conta as exigências da administração de saúde;
- e) Organizar, ou promover, o ensino profissional quanto às profissões empregadas no sector de saúde, especialmente pelo que toca à formação complementar a nível superior, atendendo aos tipos específicos de preparações necessárias para as tarefas concretas a executar e, também, ao carácter unitário com que as actividades correspondentes a diversas disciplinas devem ser exercidas;
- f) Disciplinar as actividades de saúde, por estabelecimento e difusão de métodos a observar nelas, especialmente dirigidos ao sector público mas aplicáveis, também, em muitos casos, ao sector privado;
- g) Regular as relações jurídicas de saúde, efectuando, para tal, a revisão, a actualização e a reelaboração sistematizadora do direito sanitário.

## DOCTRINAÇÃO E ESCLARECIMENTO

3. Os princípios e grandes orientações da Reforma não foram, ainda, objecto de publicação expressa, ordenada e completa, em plano oficial, e não existe a segurança de serem generalizadamente conhecidos já ou de estarem, neste momento, a ser respeitados, pelo menos em todas as suas dimensões, ou retirando-se deles todas as possíveis consequências úteis. Dada a propensão que entre nós se verifica — por vezes com algum fundamento — para supor que a substituição de pessoas nos cargos ocasiona e legítima a alteração de ideias institucionais ou a rejeição de responsabilidades mesmo se assumidas ao nível mais alto, pode até adivinhar-se a interpretação que se tenderá a fazer de algumas declarações ou actos ocasionais. Bem sabemos que, a verificarem-se desvios em relação ao que se encontra estabelecido com suficiente valor legal, sem que sejam promulgadas alterações por meio de normas igualmente válidas, tais declarações e actos careceriam de força vinculante; mas a noção das realidades sugere a vantagem de um esclarecimento inequívoco quanto a este aspecto, pois, de outro modo, corre-se o sério risco de ver levantarem-se múltiplos e indesejáveis obstáculos à execução consequente da Reforma, quer por ignorância, quer por defesa de interesses remanescentes, fora da linha do bem comum.

Semelhante diligência aparece, aliás, bastante facilitada pela possibilidade de recurso a elementos anteriormente preparados. Com efeito, antes de mais, os textos dos decretos de Setembro de 1971 reflectem com expressividade e rigor lógico-jurídico bastantes os princípios que os inspiraram, os quais, por isso, se extraem, sem dificuldade, das normas, onde muitas vezes chegam a constituir inofismáveis comandos legais. Acresce que a respectiva publicação foi acompanhada de declarações públicas responsáveis que ajudam a apreender-lhes o sentido. Entretanto, nestes mesmos Arquivos, atenta a função cometida ao Instituto Nacional de Saúde, já se incluíram apontamentos sobre a política da saúde e alimentamos a esperança de que a promoção das correspondentes medidas possa ainda ser trazido mais útil contributo.

Dada a natureza da Reforma, cuja fundamental importância reside nas orientações doutrinárias, completamente inovadoras entre nós, a explicitação objectiva dos princípios adopta-

dos e a análise das suas implicações práticas adquirem o valor de medida essencial à execução dos diplomas vigentes e à promoção das indispensáveis providências complementares.

Deste modo, não deve excluir-se que outras entidades aceitem ser oportuno exprimirem-se, também, na matéria, não, evidentemente, para publicitarem, por espírito de popularização, a obra começada, mas para concorrerem, agora ao nível das suas responsabilidades, para a sua continuidade, de forma a que possa chegar-se aos resultados para cuja obtenção foi concebida.

#### **Integração de Serviços e Orientação de funções**

4. A integração de serviços, que se projectava levar a cabo por se estimar imprescindível à devida prestação de cuidados de saúde, erigia, sem dúvida, poderosas dificuldades.

Abriu-se-lhe, mesmo assim, o caminho no próprio Decreto-Lei n.º 413/71, nomeadamente ao desenhar a figura orgânica chamada «Unidade de Saúde», ao criar, em moldes muito cuidadosamente pensados, o «Centro de Saúde», como núcleo polarizador de todas as actividades, e ao estabelecer, em diversos preceitos, um tipo novo de relações entre sectores.

Sabia-se que a devida execução de tais normas postulava uma criteriosa orientação das funções hospitalares, tomadas no quadro unitário da prestação integrada de cuidados de saúde e, por isso mesmo, inconcebível fora de uma razoável compreensão do sentido e métodos novos da Saúde e, mais especificamente, do tipo recomendável de cuidados médicos de base e da ligação consequente destes com os correspondentes a outras fases de um mesmo processo de vigilância sanitária, que deve ser uno e continuado. Deste assunto, ocupou-se, entretanto, desenvolvidamente, um artigo publicado no Volume I destes Arquivos.

Não se desconhecia, também, que idênticas dificuldades surgiriam, até com maior densidade, quanto à integração dos antigos serviços ditos de Assistência, dada a inércia da tradição que sobre eles pesava e o relevo de que, em meios, gozavam no conjunto dos serviços do sector saúde.

Quanto a ambos os aspectos — serviços hospitalares e instituições assistenciais — ficou, todavia, a dispor-se, já naquele texto legal, de instrumentos normativos bastantes

para autorizarem — aliás, com a força de serem impositivos — a acção posterior a desenvolver para consecução dos objectivos fixados.

Importará, portanto, não consentir que persistam certos interesses pessoais ou de grupo, ou que prevaleça a solicitude de cobertura de erros de administração do passado, mesmo que de responsabilidade de agentes ainda hoje com situações elevadas. A lei em vigor exige ser respeitada e quer o esforço de criá-la quer a intenção de lhe obedecer merecem apreço — qualquer que, à luz deste espírito, haja de ser a nova orientação hospitalar ou o destino dos antigos Institutos Médico-Sociais, hoje serviços a integrar na Direcção-Geral de Saúde.

Por circunstancialismos próprios da fase de elaboração, o decreto não abarcou o problema, bem importante, da integração dos serviços médico-sociais da Previdência Social. Mas, além de que, na sua declaração preambular de princípios e no espírito que dele transparece, é evidente a atitude tomada a tal respeito, pôde ainda conceber-se um diploma especialmente dirigido a esse fim, com texto que, para mais, se projectou em moldes susceptíveis de realisticamente assegurarem a sua exequibilidade prática.

Foi, também, encarada a via de uma nova organização de departamentos ministeriais, mais conseqüente com o carácter unitário que assim se preparava para o Sistema de Saúde; era essa, aliás, uma solução que, por outro lado, oferecia a vantagem de permitir promover, com maior amplitude, e diferenciadamente, certos aspectos de política social, que, segundo se aventava, poderiam fornecer competência para um departamento especialmente encarregado dos assuntos sociais. Considerou-se que este esquema mereceria análise quando se tivesse já ultimado a integração dos serviços de saúde e, depois, a destes com os assistenciais e com os médico-sociais da Previdência, e assim pudesse, portanto, admitir-se a constituição e funcionamento do Sistema Único de Saúde.

No âmbito do Instituto Nacional de Saúde, o tema tem continuado a ser objecto de atenções, havendo já, em certo aspecto, sido proposto à reflexão, por meio de apontamentos publicados no Volume I destes Arquivos.

Confiar-se-á, portanto, em que a Reforma prossiga quanto a este ponto, enquanto se aguardam promissoras medidas conformes com a orientação oportunamente definida.

5. A regulamentação de funções e a tutela do exercício dos cargos de modo a cumprir-se a Reforma assentam, liminarmente, no Regulamento dos Serviços, em grande parte elaborado logo imediatamente após a publicação do decreto sobre orgânica.

Convém, entretanto, que essa providência seja completada por outras, da mesma natureza, capazes de desfazerem, no sentido que a lei de base impõe, algumas dúvidas ou hesitações quanto a critérios, que a vida dos órgãos, como é natural ter acontecido, fez surgir. Idêntica preocupação há-de, aliás, situar-se também no plano da gestão diária — e, portanto, não somente no da regulamentação.

Apenas a título exemplificativo, acentue-se o especial cuidado que interessa dedicar à organização dos Centros de Saúde, à coordenação de actividades nos vários escalões de ordenação territorial de serviços (assegurando, desta forma, a efectivação das funções cometidas às Autoridades Sanitárias), ao equilíbrio na constituição de estabelecimentos locais (que deve ser inspirado pela ideia fundamental de integração de serviços).

Noutro plano, é, ainda, importante cuidar da devida orientação das funções especialmente dinamizadoras e coordenadoras dos programas de actividades, com particular relevo para as de estudo e planeamento. Mereceram, estas últimas, um modelo intencionalmente estabelecido em termos particularizadores e continuam a ser válidas as razões que então determinaram essa fundamental divergência relativamente ao estereótipo de gabinetes de planificação económica que tinha sido destinado à generalidade dos departamentos ministeriais.

O planeamento económico subalterna-se, com efeito, aqui (como, quase por certo, também quanto à Educação), ao planeamento privativo da política unitária do sector, tomada na devida individualidade, o que logo implica uma perspectiva própria para o tratamento dos planos e programas neste campo. Para além disso, a pluridisciplinaridade integrada joga, nesta função, toda a força que a recomenda, em geral, na administração de saúde. É preciso dispor do concurso de técnicos de diferentes formações (sobretudo: em medicina, economia, direito e ciências sociais) mas que entre si cooperem, com verdadeiro espírito pluridisciplinar, integrando as suas preparações, e correspondente produto em trabalho, por subordinação aos fins e método peculiares

da política unitária de saúde. Vale dizer que deve contrariar-se a tendência, ainda insistente, para encarar as funções de estudo e planeamento como se se encontrassem afectadas a interesses restritamente específicos dos vários grupos de serviços que compõem a orgânica central do Ministério (serviços de saúde de base, serviços hospitalares e serviços assistenciais). Semelhante classificação de serviços obedeceu a necessidades pragmáticas de organização e não poderia ser agora tomada em termos que prejudicassem a unidade essencial da prossecução dos fins da política de saúde. Foi exactamente para ultrapassar a dispersão de afectações de estudos a fins parciais, delimitados segundo divisões meramente orgânicas, que se conferiu diferenciação ao Gabinete de Estudos e Planeamento e se lhe atribuíram meios estruturais que possibilitassem o cumprimento das funções que se lhe cometiam. Sem embargo de no Gabinete poderem trabalhar técnicos principalmente especializados em assuntos hospitalares, em temas de saúde de base ou em funções de serviço social, o que, porém, se pretende é que ali se disponha de técnicos de diversas formações intercomplementares, que se votem, em cooperação, ao estudo e planeamento da saúde, vista como disciplina autónoma — isto é: médicos, economistas, juristas, técnicos de serviço social aplicado à saúde, e assim, igualmente, quanto às demais especializações chamadas a cooperar neste âmbito — quer dizer: intervenientes, não nos fins puros e abstractos das respectivas ciências ou técnicas de base, mas sim nos objectivos integrados, unos, autonomamente definidos, de uma disciplina comum, claramente individualizada (a Saúde) e suas correspondentes actividades, elas também diferenciáveis, pelos objectivos, princípios e métodos.

Considerações de igual relevo se justificariam, também, quanto aos restantes serviços centrais. Sobretudo, a existência de três Direcções-Gerais não pode fazer esquecer a necessidade de trabalho conjugado, nem a noção dos fins predominantes, nem — o que mais sobreleva — o modelo integrado de serviços e de prestação de cuidados que determinou o teor adoptado quanto aos órgãos locais.

Estamos em crer que, sem um rigoroso entendimento da política de saúde oportunamente definida e na ausência de um completo domínio das vias tecnicamente aconselháveis para a administração de saúde, será difícil atingir

uma visão global do trabalho que se impõe no sector, mas que essa é, entretanto, a única perspectiva de gestão que respeitará as posições responsabilmente assumidas quanto à política de saúde.

6. Observando a sequência de sugestões que atrás deixámos registadas, caberia, agora, uma alusão aos problemas da formação de profissionais, da promoção de métodos e da disciplina das relações de saúde.

Qualquer deles reveste extrema importância, motivo que bastará para justificar que se deseje consagrar-lhes referências mais demoradas, noutra oportunidade. Por agora, avançar-se-ão somente algumas notas tão gerais como as dedicadas, nos números anteriores, aos demais temas.

### **Formação de Profissionais e Metodologia**

7. A formação de profissionais continua a apresentar-se como o objectivo primordial de um sector onde praticamente se não tem disposto de técnicos aptos em nenhum ramo, onde se ignoram ainda as adequadas formas de gestão e onde, para agravar o panorama, é, conforme já se disse, absolutamente indispensável actuar em termos de pluridisciplinaridade.

Há-de, assim, recomendar-se, antes de mais, que não deixe de dar-se cumprimento a normas constantes do diploma sobre carreiras profissionais e que, portanto, se atenda suficientemente ao imperativo de preparação adequada dos elementos de enquadramento e do pessoal de execução directa. Cabe ao Instituto Nacional de Saúde (a que, para mais, se encontra, presentemente, adstrita a Escola Nacional de Saúde Pública) o importante encargo de realização de tais objectivos, a que, no pressuposto de não serem cerceadas as possibilidades de actuação competente, não deixarão de dar-se desejáveis concretizações.

Outro, e mais delicado, canal de intervenção se manifesta, porém, necessário percorrer quanto a este aspecto: — o que respeita à formação de base e às formações complementares, de pós-graduação, dirigidas para o exercício profissional no sector saúde. E, se o problema pode talvez ser resolvido no âmbito do Instituto Nacional de Saúde relativamente à preparação de profissionais de nível médio (cuja habilitação de base coincide, afi-

nal, com a genericamente requerida noutros domínios e, qualquer que seja a solução que venha a receber nos planos gerais de estudos, não embaraça, de modo inultrapassável, a possibilidade de se conseguir a formação específica para o trabalho concreto a desempenhar neste campo), já pelo que toca à formação de profissionais de nível superior outras instituições, além do Instituto e da Escola, interferem no processo e, paralelamente, convoca-se a intervenção de outras competências nas medidas reformadoras, sendo forçoso concluir que não existe cabal esclarecimento sobre as necessidades a satisfazer nem sobre os termos de uma reforma válida. A este propósito, entrou-se, até, de certo modo, num impasse melindroso, de que importa sair, mas obviamente não por via de soluções que, a despeito de uma aparência de dinamismo com vocação de popularidade, se revelam, afinal, insuficientemente ponderadas — por falta de informação, de pensamento ou de habilidade para solucionar — e, assim, não podem conduzir a resultados úteis, parecendo votadas a introduzir novos elementos de perturbação no sector já muito confuso, deste ensino.

Se pretendemos contar com técnicos aptos a cooperarem em equipas pluridisciplinares integradas, é exactamente segundo fórmulas que possam produzir este efeito que devemos orientar as reformas da correspondente preparação, quer ao nível do ensino base quer ao da formação complementar, que devem, aliás, ser coordenadamente revistos em ordem a este fim.

Questão fundamental será, desde logo, a de apurar, com muita precisão e critério, qual a formação que se vai considerar de base e qual a complementar, seguindo-se, naturalmente, o problema de saber a que tipo de instituições deverá fazer-se corresponder a primeira e as várias possibilidades da segunda.

Os técnicos de nível superior que se requerem na administração de saúde (e referimos-nos quer à administração pública quer às actividades de administração de saúde no âmbito de serviços privados) são médicos, juristas, economistas, farmacêuticos, técnicos de ciências sociais, engenheiros — ou, para dizer breve, afinal a generalidade dos técnicos formados pelas Faculdades, Institutos ou Escolas Superiores, isto é, pelos estabelecimentos que ministram o ensino superior de base. Passará sem necessidade de menção especial que não seria concebível uma formação supe-

rior para a administração de saúde que fosse prosseguida directa ou exclusivamente por um estabelecimento (ou um tipo genérico de estabelecimentos) especialmente destinado a esse objectivo, visto que o médico sanitarista há-de ser, antes de mais, médico, o economista da saúde, economista, o engenheiro sanitarista, engenheiro, e assim igualmente quanto às especialidades relativas a outros ramos. Também parece pacífico que não poderia subordinar-se, pelo menos em absoluto ou em termos de preocupação dominante, o ensino superior de base, nos vários ramos, às necessidades de uma eventual formação complementar dirigida para o sector saúde (ou para outro qualquer). Assim relira-se a conclusão imediata de que a formação superior de base terá de ser confiada a instituições próprias e programada, principalmente, em atenção a objectivos próprios; noutros termos: as Faculdades, Institutos, Escolas Superiores ou outras instituições encarregadas da formação superior de base hão-de proporcionar formaturas em medicina, engenharia, direito, economia, ciências sociais, farmácia e demais ramos do saber, considerando, para esse feito, os parâmetros que devem ser observados nesses domínios de modo a que se assegurem as correspondentes formações superiores de base.

Entretanto, as formaturas, nos referidos termos, não podem, hoje, ser entendidas como formações nem completas nem profissionais e cabe, mesmo, ponderar que não deveriam corresponder-lhes licenciaturas, no sentido de licença para exercício de certas actividades. Porque não se trata de formações completas, hão-de ser continuadas, segundo o espírito de formação permanente, antes de mais, no seio das próprias Faculdades, Institutos, Escolas e demais estabelecimentos de ensino superior; só nesses termos se abre a expectativa de uma formação universitária, a qual postula um compromisso de vida com a Universidade. E porque não são, também, formações profissionais, podem ser seguidas de formações profissionais.

Não é de excluir que, em certos casos, esta formação profissional, a que acabamos de referir-nos, caiba no âmbito das universidades: do nosso ponto de vista, a solução é aceitável — e a mais correcta — quanto às profissões que devam exercer-se em âmbito universitário (como, por exemplo, sucederá com as de investigação universitária). Noutros casos — que, aliás, constituem a maioria — a melhor solução

será, porém, outra e impõe-se encontrá-la por análises quer do tipo de formação visado (e, nomeadamente, das suas exigências disciplinares) quer da disponibilidade de instituições profissionais, aspectos que devem, de resto, ser correlacionados. Explicando: se a formação que se tem em vista é a formação profissional geral em grandes grupos de actividades correspondentes às várias formações de base (quer dizer: a formação de profissionais de medicina, profissionais de engenharia, profissionais de direito, etc.), então poderão convocar-se organismos profissionais (as Ordens), que licenciarão médicos, advogados, engenheiros, etc.; se se pretende a formação profissional especializada (de médicos especialistas, de advogados ou de técnicos de direito, ou de engenheiros, especializados em vários domínios), ainda existirá uma margem para acertadamente, confiar o encargo de formar ao mesmo tipo de instituições profissionais; mas, para além dessa margem, torna-se aconselhável o recurso a outros meios de formação.

Poderão exemplificar esta última hipótese os institutos ou sociedades científicas ou de especialização (um instituto de direito fiscal, uma sociedade de cardiologia, ou outros de idêntico teor). A estreita ligação destas instituições com as universidades surge, então, como particularmente recomendável; por outro lado, os estabelecimentos que funcionem como campos de aplicação profissional devem também ser, neste caso, utilizados, o que salientemente caberá considerar quanto a estabelecimentos e serviços de saúde (por exemplo: Centros de Saúde e Hospitais). Na coordenação destas três participações — dos institutos ou sociedades, das universidades, dos estabelecimentos e serviços públicos, e, mesmo, de instituições do sector privado) situa-se, quanto a nós, um dos aspectos de maior relevância de qualquer reforma que se deseje introduzir nesta matéria; e, acrescentemos, sendo embora a sua completa falta uma das principais fontes das dificuldades presentes, estamos em crer que, mediante devida equação do problema e alguma aptidão reformadora, não existirão, neste ponto, obstáculos intransponíveis.

Seguimos, assim, uma linha que nos trouxe desde a formação superior de base (facultada por estabelecimentos de ensino superior de base) até à sua continuação, por completo (no âmbito das universidades, em obediência aos propósitos de formação perma-



nente e invocando o compromisso de vida do universitário com a universidade) ou por formação complementar dirigida à profissionalização (a cargo de instituições profissionais, com a participação, coordenada, de outras entidades, de modo a garantir-se a colaboração das universidades e a utilização de estabelecimentos ou serviços, públicos ou privados). Em todas estas hipóteses, supusemos que a formação se inseria sempre no campo do ramo que lhe serviu de base. Agora, devemos, porém, regressar à formação de base, para tomarmos a sua continuação segundo outro pressuposto: — o de, na formação complementar, haverem de intervir matérias correspondentes a ramos de saber distintos do que deu a formação de base. É exactamente o que se passa com a formação dirigida à administração de saúde (repetimos: tanto quanto à administração pública como relativamente à administração em âmbito de serviços privados de saúde).

Ainda se vê, por vezes, contrapor, como soluções alternativas para as necessidades múltiplas do trabalho actual, o «Especialista» e o «Universalista». Por certo, já não se admitirá, presentemente, a viabilidade do universalistas: — o homem polivalente (médico um pouco, advogado outro bocado, «engenhoca» por espírito «coca» e que de economia também sabia) gozou da admiração dos subalternos «para todo o serviço» e da sociedade uniformizada do século passado e ficou, por isso, na moldura do retrato histórico das companhias seculares. Cedeu o lugar a muitos especialistas, por um tempo dirigidos ainda por ele ou por alguém pouco mais evoluído que ele. Foi a época em que os especialistas trabalharam desgarrados, sem equipa. Depois, vieram as conferências, as comissões permanentes, os grupos de estudo e outras formas que encaminhavam, progressivamente, para a actuação pluridisciplinar. É esta, agora, a palavra de ordem de toda a orgânica que se pretenda conseqüente e de tal modo que já, mesmo, começa a perder sentido o grupo ou a comissão a título de eventualidade, pois o próprio funcionamento habitual, permanente, terá de seguir a nova regra da equipa integrada, essa, sim, polivalente, universalista porque dispõe de todos os especialistas, chamados a participar num trabalho sempre comum.

Pois bem: para ir ao encontro deste tipo de trabalho, desta equipa pluridisciplinar integrada, torna-se necessário facultar aos seus componentes alguma formação respeitante a

matérias de ramos diversos do que é o seu. Exemplificando: na equipa pluridisciplinar integrada para a administração de saúde, não bastará haver médico, engenheiro, técnico de ciências sociais e elementos com as restantes formaturas; são precisos sanitaristas — médicos sanitaristas, técnicos de direito sanitário, economistas da saúde — o que reclama uma formação complementar de cada uma das várias formações de base, de modo a completar cada uma delas com os conhecimentos de outros ramos que se mostrem indispensáveis ao cultivo de uma disciplina diferenciada — a Saúde — ou ao exercício das correspondentes actividades em equipas pluridisciplinares suficientemente integradas.

Semelhante formação complementar, convocando o saber de ramos diversos, sugere a organização de um tipo especial de ensino, a confiar a estabelecimentos de formação superior complementar, expressamente constituídos para o efeito. A Escola Nacional de Saúde Pública poderia exemplificar perfeitamente este caso: já nela se convertem médicos em médicos sanitaristas e engenheiros em engenheiros sanitaristas; e, identicamente, deveriam encetar-se as formações de sanitaristas a partir de outras bases (sobretudo: economia, direito e ciências sociais). Aliciente modelo de ensino poderá ser este, em que não-de verificar-se todas as ordens de requisitos a que temos aludido a propósito de outras modalidades de formação: — a pluridisciplinaridade no corpo docente, a integração na metodologia, a cooperação com universidades e institutos científicos, o recurso, assegurado em termos úteis, a estabelecimentos e serviços. Consideramos indispensável que se lhe atenda com o maior interesse, por forma a dispor-se da mais importante via para a formação do tipo exacto de profissional que se requer na administração de saúde.

Acrescentamos, entretanto, que supomos dever ser confiado este tipo de formação a instituições próprias do sector em que se integra o trabalho pluridisciplinar para que ela forneça aptidões (portanto, no caso da Saúde, a solução Escola Nacional de Saúde Pública, para mais em ligação com o Instituto Nacional de Saúde, organismo de investigação, afigura-se correcta).

A terminar este breve apontamento sobre a formação com fins profissionais em saúde, caberá, ainda, pedir atenção para a necessidade de coordenar a formação de base com

as suas eventuais continuações. Disse-se, logo de início, que a formação superior de base haveria de ser programada principalmente em atenção aos seus objectivos próprios; deve sê-lo principalmente mas não só, visto que se destina a abrir o caminho para outras fases de formação e, por isso, deve já, até certo ponto, preparar-lhes a possibilidade e facilitá-las. Antes de mais, nela nada deve incluir-se que corresponda à formação complementar (para especialização ou com objectivos profissionais), pois de outro modo não funcionaria como base comum das várias formações que podem seguir-se-lhe. Temos, aqui, uma observação que deveria não ser esquecida ao estabelecer-se a estrutura do curso de medicina: em vez de se aplicar uma estruturação estereotipada, por ciclos, porventura pelo gosto da simetria com os demais cursos, melhor pareceria raciocinar-se em função de um curso geral e de cursos complementares, de especialização, incluindo a especialidade em Saúde Pública, a ministrar no correspondente estabelecimento. Dispensa-se, evidentemente, ponderar que, no referido curso geral, seria indispensável seguir uma óptica curricular e metodológica capaz de proporcionar a visão actual da saúde e não somente uma perspectiva virada sobretudo à clínica.

Aliás, novos objectivos, estruturas e metodologias são requeridos no ensino superior de base relativamente a todos os ramos e não apenas à medicina, parecendo-nos que o denominador comum para a solução deste problema estaria em uma orientação reformadora que conferisse sentido social e vocação prática e de continuidade ao ensino de base em todos os domínios — ponto cuja pormenorização, que exorbitaria do presente apontamento, é, porém, apetecível e poderia dar o tom a uma reforma. De qualquer forma, é, obviamente, quanto ao curso de medicina que a questão mais sobreleva quando se pensa na formação para o trabalho no sector saúde, assim sucedendo — note-se — não porque as demais formações sejam menos requeridas nas equipas de saúde (já vimos que não o são) mas sim por ser a formação médica a mais ampla e directamente correlacionada com os objectivos nucleares da administração de saúde. Por isso mesmo, é também na reforma do curso de medicina que maior preocupação deve pôr-se em coordenar a formação de base com a sua eventual continuação com destino às equipas de administração de saúde, sendo

quanto ao este curso que ela é, além de mais necessária, mais possível. Mas igualmente se pode, e deve, encarar tal ligação pelo que respeita aos restantes cursos e ocorreriam, até, de imediato, algumas ideias sugeridas pela vocação de certos cursos para a temática social, que deve, evidentemente, ser tomada à luz não apenas das posições políticas gerais mas também das finalidades específicas de sectores de acção e das respectivas estruturas e métodos. Não se vê, por exemplo, que as vocações para trabalho em equipas de administração de saúde não possam encontrar preliminares num curso geral de ciências sociais ou que generalidades sobre direito sanitário houvessem de ser excluídas de um curso geral de direito; e entende-se que uma Escola Nacional de Saúde Pública, com os propósitos que lhe assinalámos, pode perfeitamente cooperar com os estabelecimentos correspondentes a qualquer dos dois cursos, de modo a facilitar aos respectivos corpos docentes o tratamento de tais matérias.

Insistimos em que estava, em absoluto, afastada a intenção de entrar na análise do problema da formação de profissionais de saúde ou da reforma dos estudos com ela relacionados. Apenas deixámos apontada uma linha de focagem da questão, caminho que nos aparece como mais promissor de resultados e — atenta a existência de certos escolhos à tarefa reformadora — de realização mais factível que medidas de outro género, como seria, para citar um exemplo já preconizado por alguns, a criação, em âmbito oficial, de faculdades paralelas.

Que saibamos, nunca esta solução havia sido admitida — ou, sequer, pensada — senão a nível de especialização ou fazendo-se corresponder natureza jurídica diferente às faculdades paralelas (caso, este último, em que poderia encontrar-se assim uma via para, por meio de competição entre instituições privadas e públicas, ou privadas e privadas, forçar a renovação das escolas tradicionais e fomentar sucessivamente a melhoria do ensino). Porém, já entre nós vimos, pelo contrário, propor, precisamente, a criação de faculdades de medicina paralelas, oficiais como as clássicas, que permaneceriam; e com a agravante — que atinge o despautério — de se sugerir que as novas faculdades ficassem sujeitas a «*numerus clausus*», em termos de extrema restrição do acesso, sendo, ao mesmo tempo, apresentadas como as únicas cujo curriculum e método



corresponderiam, no pensamento oficial, à possibilidade de formar o tipo de médico considerado necessário na Metrópole portuguesa. Não seria, evidentemente, plausível que o Governo, enquanto tal, aceitasse enveredar por semelhante insensatez, mas não deixa de parecer oportuno anotar a circunstância, ao lado da linha geral que atrás aventámos.

Concluindo: julgamos que se deve traçar um amplo plano com vista a preencher as necessidades de formação profissional no âmbito do Ministério da Saúde e Assistência; nos respectivos programas, aconselha-se uma tripla linha de actuação — a formação do profissional médio, a formação para administração de saúde e a revisão da formação superior de base; pelo que toca ao primeiro aspecto, apenas caberá desejar que se apliquem as soluções já legalmente preconizadas, mantendo-se a competência das instituições a que a formação média se encontra confiada, mas seguindo esta orientação quanto a todos os serviços e não apenas a respeito dos serviços de saúde de base; a formação para administração de saúde, por seu turno, solicita um importante reforço de atenções, igualmente quanto a todos os sectores e dentro dos critérios de administração integrada, e aconselha cuidado relativamente ao tipo de ensino complementar, pluridisciplinar, a que nos referimos; finalmente, a revisão da formação superior de base, atiguando-se urgente, exigindo consciência dos fins e métodos recomendáveis, deveria determinar uma participação activa e eficiente do Ministério da Saúde e Assistência (sobretudo, dos seus órgãos de ensino) junto do Ministério da Educação Nacional, mas com a clara noção de que se adiantará pouco, ou nada, se, para esse fim, se recorrer à colaboração de visões tradicionais, seja no plano do ensino, seja no da administração de saúde ou se se puserem de remissa as pessoas com o espírito e capacidade de criação que as soluções inovadoras evidentemente reclamam.

8. Em directa continuidade relativamente à preparação de profissionais, e tendo em vista o mesmo essencial objectivo de promover uma prestação de cuidados de saúde eficaz e conseqüente, surge a necessidade de difundir critérios de actuação e ministrar métodos de de trabalho conformes com as técnicas que o actual estágio de conhecimentos aponta como as mais funcionais e de melhores resultados neste sector.

Semelhante orientação de actividades ultrapassa os limites dos períodos de formação (de base, complementar, para reciclagem, aperfeiçoamento ou actualização), devendo inserir-se, com carácter de permanência, na gestão contínua dos serviços. Por outro lado, as exigências em que se traduz a preparação que lhe deve servir de base levam a situá-la em âmbito próprio para o efeito e não apenas na competência dos vários serviços.

A Reforma atendeu a estes dois aspectos e, por isso mesmo, conferiu tais atribuições, em especial, ao Instituto Nacional de Saúde, responsabilizado pelo estabelecimento e difusão de orientações metodológicas fundamentais, a definir na base de adequada investigação científica e técnica. Certamente, outros órgãos podem, e devem, colaborar com o Instituto, neste objectivo e, em conformidade com a respectiva natureza, foi-lhes também atribuída competência para certo tipo de intervenções orientadoras quanto a critérios de gestão; porém, a índole científica ou técnica dos métodos, a que nos referimos, determina a necessidade de confiar o seu estabelecimento a este organismo. Assim, por exemplo, a Secretaria-Geral foi dotada de competência para emitir instruções que contenham critérios norteadores da gestão, mas nos aspectos que se enquadrem no que poderia denominar-se administração geral; já as grandes orientações da administração de saúde *qua tale*, porque decorrentes de princípios de ordem científica e envolvendo construções técnicas, requeridas para garantir o tono essencial do sistema de saúde por forma a que se consigam pelos melhores métodos os melhores resultados, cabem, de acordo com o que atrás se indica, ao Instituto. Do mesmo modo, o Gabinete de Estudos e Planeamento é competente para a fixação de calendários de actividades e para definir as afectações de meios, humanos e materiais, mediante as opções programáticas indissociáveis da ideia de plano; mas os critérios basilares a observar na sequência de prioridades, de modo a assegurar-se um plano cientificamente fundamentado e tecnicamente funcional, devem ser-lhe fornecidos pelo Instituto.

Mobilizaram-se já, no Instituto, os possíveis meios para efectivação deste tipo de funções, sobre cujo exercício será oportunamente prestada mais completa informação.

Tendo em conta a possibilidade de utilização de análises já efectuadas e conclusões já

obtidas noutros meios, constituiu-se, nomeadamente, um Sector de Documentação e Informação, por meio do qual se recolhem, segundo adequados métodos, estudos e dados de informação de diversas proveniências valiosas, se organizam tais elementos em termos de poderem ser aproveitados para subsequente trabalho de investigação e se difundem, pelos diversos serviços do Ministério e outras entidades, informações relevantes para a gestão de saúde, bem como critérios e métodos técnicos recomendáveis para o correcto exercício das correspondentes actividades. Diversos Centros de Estudo encontram-se, por outro lado, em laboração, colocando os seus resultados, directamente ou por meio daquele canal de informação, ao serviço de órgãos, instituições e profissionais de saúde.

São, entretanto, várias as linhas de análise que se inscrevem nos planos de estudo do Instituto. Dentre elas, pela relação que apresentam com os assuntos mencionados nesta nota, indicam-se as seguintes:

- Fixação das bases fundamentais da administração de saúde (aspecto que não deve confundir-se com o estabelecimento de critérios de administração geral, quanto aos quais foi atribuída competência à Secretaria-Geral, conforme já esclarecemos);
- Estabelecimento de critérios basilares de programação de actividades, pelo enunciado de recomendações de ordem científica e técnica (o que não colide com as atribuições do Gabinete de Estudos e Planeamento, ao qual, como também já vimos, tais elementos servirão, precisamente, para nortear o planeamento das actividades em termos de programas concretos, sujeitos a calendários ordenados e dispendo das convenientes afectações financeiras);
- Estudo das condições económicas da prestação de cuidados de saúde, pelo emprego do método de uma disciplina nova, de integração — a economia da saúde (tarefa que irá, também, preparar, neste plano de ordem científica e técnica, bases úteis ao exercício de funções do Gabinete de Estudos e Planeamento);
- Definição de critérios específicos de funcionamento de serviços de saúde e de prestação de cuidados médicos de base

(a utilizar pelos órgãos de execução directa);

- Estudos de direito sanitário e revisão sistemática das normas vigentes neste ramo.

A utilidade destes trabalhos, que só por si justificariam o esforço reformador e seriam, mesmo, susceptíveis de conferir novo estilo à administração de saúde, apenas se verificará se se assegurarem as formas que garantam o seu aproveitamento, por observância pelos serviços beneficiários — aspecto para o qual cumpre chamar a atenção.

### **Disciplina Normativa de Actividades**

9. Paralelamente à Reforma Orgânica, intentou-se a publicação de um Código da Saúde. Alguns trabalhos preparatórios de uma revisão geral da legislação sanitária de que dispomos foram, então, canalizados para esse objectivo, dentro do espírito, a que logo de início fizemos referência, de conceber a Reforma em termos globais, abarcando medidas de várias ordens mas todas coordenadas entre si pela obediência a uma directriz comum. Os estudos já existentes, sobretudo de índole histórica, revelavam, aliás, a evidência, que entre as características mais notórias da nossa legislação sanitária se salientava, precisamente, a ausência de estrutura sistematizadora, por falta de inspiração técnica basilar na produção das leis; como directra consequência deste facto, a dispersão normativa corresponde, entretanto, em múltiplos casos, incompatibilidade dos preceitos no plano técnico, isto é, impossibilidade da sua execução no âmbito de um sistema de serviços tecnicamente montado.

Houve, assim, o cuidado de projectar uma sistematização de matérias conforme com o quadro geral de actividades reconhecidas no âmbito da política de saúde e é segundo essa linha que prosseguem actualmente, no Instituto Nacional de Saúde, os trabalhos preparatórios do projecto de Código, de que se espera poder dar suficiente conhecimento público.

Cabe observar que este documento não corresponde apenas o que, em acepção técnico-jurídica, se entende por «Código», visto tratar-se de uma compilação sistemática não somente de normas jurídicas aplicáveis à Saúde mas também de doutrinas para enquadramento, orientação e disciplina de actividades neste sector.

O Código assenta na explicitação do objectivo geral da política de saúde e no conjunto das correlativas definições genéricas, e aplica-os tanto no desenvolvimento da organização sanitária do país em termos que facultem a maior vitalidade e eficiência das instituições e órgãos encarregados da cobertura sanitária, como no fomento de meios pessoais de actuação, como ainda — e é este o aspecto principal — na fixação de orientações a observar nos vários campos de actividade. No desenvolvimento da doutrina, há o propósito de atender ao escalonamento de medidas segundo prioridades e, na eleição destas, respeitam-se os princípios de administração sanitária, colocando-se, assim, preliminarmente, a promoção e a protecção da saúde, às quais se seguem as medidas de recuperação dos doentes e de reabilitação das sequelas da doença.

Enquadradas por tais enunciados doutrinários, a cujos princípios se subordinam, surgem, em cada capítulo, e segundo a mesma sistematização geral, desenvolvida em adequadas classificações, as normas que hão-de substituir, ordenadamente, a legislação, hoje dispersa, em que se fixam direitos, obrigações, condicionamentos, processos e regras técnicas no domínio das relações jurídicas de saúde.

Ponderando a necessidade de não embarçar, com a codificação, a mobilidade da legislação num campo onde as evoluções técnicas são muito rápidas e frequentes, preconizou-se um processo de classificação e numeração de preceitos diferente do comum e que parece susceptível de proporcionar as vantagens geralmente encontradas no tipo «Texto Único de Leis Sanitárias», sem que por isso prejudique o objectivo — que, por outro lado, importa alcançar — de garantir uma estruturação sistematizadora, revestida, como tal, de certa estabilidade. A fórmula adoptada permite, aliás, conciliar a urgência que há em dispor-se da sistematização normativa e dos critérios com a inevitavelmente maior demora da revisão completa da legislação em vigor. Esta vantagem vai, de resto, mais longe ainda, pois torna também possível incorporar novas normas no Código ou retirar dele as que venham a ser revogadas, pelo que extremamente facilita a revisão periódica, que se prevê seja feita de cinco em cinco anos, enquanto, por outro lado, evita que voguem dispersas as normas que, no decurso destes períodos quinquenais, vão sendo publicadas.

Igualmente são destinados, no documento que se projecta, lugares próprios para a inclusão de legislação internacional recebida e de jurisprudência com implicações nas matérias de que o Código trata.

Após a divulgação das grandes linhas doutrinárias, que constituem a primeira fase de trabalhos e dão a estrutura ao Código, deseja-se que sejam constituídos grupos de trabalho especializados nos vários temas que terão de ser considerados na revisão normativa. Dispensa-se frisar a magnitude desta tarefa, que poderia, por si só, validar um mandato governamental, como passará também sem necessidade de referência o tipo especial de preparação que ela requer. Levar-se-ão a cabo todos os esforços necessários para prosseguir-la e ultimá-la.

### **Reforma de serviços e fins da política de saúde**

10. Os temas a que se referem as precedentes considerações não foram seleccionados ao sabor do acaso, mas sim pelas correlações que entre eles se travam com relevância na estratégia da Reforma.

Para justificá-lo, torna-se, talvez, vantajosa uma explicação preliminar, a respeito das ligações entre a Reforma e a efectivação dos fins da Política de Saúde e Assistência, por um lado, e, por outro, sobre o valor que, para esta efectivação, assumem um certo modelo de serviços e determinado estilo de exercício das funções, ou, noutros termos, de prestação de cuidados de saúde.

A Reforma, com efeito, não constitui, em si mesma, um fim absoluto e as suas concretizações já começadas (orgânica e regime de carreiras profissionais) muito menos poderiam, isoladas, revestir esse significado. A Reforma é apenas o meio, a via, o processo, de realização dos objectivos assumidos pela Política de Saúde; o sistema de órgãos e o regime de carreiras profissionais desempenham o papel de instrumentos, a utilizar conjuntamente com outros, para possibilitar a actuação reformadora. Por estes motivos, sempre que mencionamos a Reforma, temos a preocupação de usar termos que a coloquem, como é devido, na sua função mediadora, em subalternidade relativamente aos objectivos últimos que a Política de Saúde há-de prosseguir. Estes resumem-se no aumento do Bem-Estar pela Saúde, o que se desdobra, à luz do conceito de Saúde, em

promoção de níveis sucessivamente mais plenos de bem-estar físico, psíquico e mental, tomada em consideração a ambiência social, dos indivíduos e das comunidades.

Não deixa de perceber-se a tendência, que vem de longe em administração não especializada, para enunciar os compromissos da Política de Saúde e Assistência segundo fórmulas (por vezes, até numéricas) de resultados pretendidos. Declara-se, por exemplo, que se visa reduzir para uma permilagem, que se indica, a mortalidade geral, ou a mortalidade infantil, ou a incidência de doenças que se enumeram. Aparentemente, esta forma de expressão é aliciante e para o vulgo pode, mesmo, sugerir objectividade maior que o traçado de linhas metodológicas do trabalho em Saúde. A verdade, porém, consiste noutra perspectiva, que não se dispensa quando se haja reflectido na base de séria investigação operacional.

Sabe-se, com efeito, que a obtenção de resultados concretos do tipo a que aludimos (diminuições de taxas de mortalidade e morbilidade, a que podem somar-se o acréscimo da esperança de vida e o desenvolvimento das expectativas e possibilidades de existência sã) depende, afinal, dos termos em que se realize a prestação de cuidados de saúde, da sua extensão a nível técnico e adequação, encontrando-se, a este respeito, o maior êxito quando se age com suporte em sistemas devidamente organizados de serviços que funcionem com equipas de profissionais competentes e disciplinadas, trabalhando segundo métodos tecnicamente esclarecidos. Reunido este triplicado conjunto de pressupostos (orgânica, agentes, métodos) perde, mesmo, rigor a colocação dos objectivos da política de saúde nos termos que há pouco mencionávamos, visto que as indicações numéricas passam, como então se apreende sem dificuldade, a envolver um carácter de certo modo arbitrário. Não existe, de facto, nenhuma razão ética ou politicamente válida que justifique a fixação de objectivos em determinada permilagem; quando pode admitir-se a esperança de ir mais longe ou não há certeza bastante de alcançar-se um resultado, o estabelecimento de metas quantitativas provém apenas da comparação com situações estrangeiras, factor que deve, sem dúvida, inscrever-se entre os elementos de ponderação, mas não atinge, por si só, o mérito de critério absoluto, por maior que seja a sua aceitação popular. Na óptica, mais acertada, que referimos, os termos de colocação do problema dos

objectivos são outros; parte-se de uma investigação operacional, que possibilita apurar qual o modelo de serviços, o tipo de profissionais e os métodos que, para dada sociedade e em determinada época, se revelam — à face da ciência, da técnica e, consequentemente, dos conhecimentos de administração de Saúde — mais aptos para obtenção de Bem-Estar pela Saúde. Então, tais factores actuam coordenadamente e para a generalidade das intervenções na política de saúde, proporcionando, em cada um dos aspectos parcelares que compõem os objectivos últimos (saúde materno-infantil, saúde no trabalho, saúde dos idosos, bem-estar pela saúde na família, saúde mental, ausência de doença, nas várias espécies, reabilitação quando ocorra a necessidade de encará-la), resultados mais largos que os conseguidos pela perspectiva de programação desagregada para cada um de vários domínios nosológicos (tuberculose, doenças infecciosas, cuidados da grávida, prevenção do cancro, profilaxia mental, etc.). Acrescente-se, entretanto, que esta nova maneira de encarar a prossecução das medidas de saúde reforça as suas virtualidades quando o processo serve, indiferenciadamente, a generalidade da população ao contrário dos programas, hoje ultrapassados, de que era feita afectação a grupos isolados.

Pois bem: a Reforma iniciada em 1970 não foi, evidentemente, tomada como fim em si mesma, mas decorreu, em toda a sua concepção, da nova perspectiva técnica de prestação de cuidados de saúde e é, por isso, nossa convicção que, ao promovê-la, insistindo nos critérios que a norteiam embora se prescindia de enunciados quantitativos e referências a programas individualizados, se acaba, em última análise, por abrir a possibilidade de efectivar objectivos mais vastos, por não se proceder a quaisquer limitações iniciais e por se conferir adequada atenção às fórmulas válidas para alcançá-los.

Na conformidade do que se expõe, compreende-se depressa a interrelação dos assuntos abordados nos números anteriores.

Capitularmente, poderia, porventura, situar-se o problema da integração de serviços e orientação de funções, isto é, o conjunto de medidas — políticas umas; administrativas, outras — por meio das quais se efective o modelo de serviço para que se abriu o caminho no diploma sobre orgânica. Caberá apontar que se trata de serviços polivalentes e destina-

dos a servirem a generalidade da população. Do primeiro destes aspectos decorre a imprescindibilidade de concretizar a integração dos antigos serviços médicos dispersos (com particular relevo para os de luta antituberculosa, os de assistência psiquiátrica, os de luta contra o cancro e os hospitalares de base) no esquema unitário de prestação de cuidados de saúde (o que vale dizer: nos correspondentes serviços únicos e de acordo com os métodos para estes aconselhados) e, do segundo, sobrevém a urgência de ultrapassar alguns conceitos assistenciais e, talvez mais relevante ainda, a urgência de integração dos serviços médico-sociais no sistema geral de saúde.

A esta ordem de propósitos seguem-se, de imediato, as medidas referentes a preparação profissional e a promoção de métodos ou critérios orientadores de actividades, pois, como se salientou, além de convenientes soluções orgânicas, o novo sistema de prestação de saúde procurado pela Reforma pressupõe, também, agentes qualificados para o interpretar e exercerem devidamente e observância de métodos eficazes, que, por isso mesmo, devem ser concebidos e tornados disponíveis para aplicação pelos serviços.

A preparação de um Código, que venha disciplinar, por via normativa, as relações de Saúde, compatibilizando-as com a situação actual de conceitos, de valores, de formas, de meios técnicos, que, visto contemplar também orientações doutrinárias, sirva o objectivo de promoção de uma metodologia para a acção sanitária e que, finalmente, por conjugar estes dois planos, harmonize todas as actividades de saúde (quer as do sector privado, quer as dos serviços públicos) insere-se, obviamente, no processo como medida cujo especial significado não será preciso encarecer, embora, noutra oportunidade, se venha a explicitar as implicações que a alteração conceitual, a evolução axiológica, as mudanças formais e o progresso nos meios de acção têm no campo do direito sanitário.

Finalmente, pensamos que a natureza da Reforma em curso, essencialmente inovadora nos princípios e exigente quanto aos métodos, torna indispensável uma vulgarização, no sen-

tido de difusão e esclarecimento da doutrina nela aplicada. Na verdade, enquanto não se dispuser de administradores convenientemente habilitados em cursos de administração de saúde, ministrados em pleno segundo a fórmula atrás sugerida, será, sobretudo, com a acção promocional, de informação e esclarecimento, por parte de entidades responsáveis, que importará contar para conduzir os serviços à noção das responsabilidades e dotar o público em geral de ideias exactas quanto à avançada iniciativa de facultar-lhe serviços aptos a prestarem-lhe progressivos cuidados de saúde. Precisamente por estes motivos, começámos por sugerir a divulgação, a certo nível, da Reforma. Foi ainda a mesma razão que determinou o teor quase só informativo (embora sem prejuízo de posições pessoais) intencionalmente dado ao presente texto. Abordando conclusões que nascem de investigação operacional, e antes das quais houve, naturalmente, que proceder-se a análises minuciosas e a opções, por vezes delicadas, entre hipóteses alternativas, seria, por certo, possível apresentar, quanto aos vários temas, um tratamento de outro tipo — desenvolvido em análise e concludente, por si mesmo, nas sínteses finais. Sem excluir — conforme por diversas vezes deixámos expresso — esse género de trabalho, entendemos, porém, que deveríamos principiar pela enunciação, segundo generalidades, de assuntos aproximáveis e assim procedemos por absoluta convicção de que a preparação dos espíritos para o estudo reflexivo de qualquer matéria, sobretudo se muito desconhecida, há-de começar sempre pelo despertar de interesse acompanhado de um chamamento de atenção para o carácter nada fácil da investigação correcta.

No exercício da sua competência — já se disse — o Instituto pode contribuir, por este meio também, para a continuidade da Reforma, o que legitima esta secção dos seus Arquivos. E pensamos que considerações dotadas da isenção própria de um organismo de estudo terão, mesmo, a virtude de apoiar, na luta, por vezes trágica, contra obstruções derivadas de interesses inaceitáveis, o cumprimento com recta intenção de responsabilidades já assumidas perante o País.

## MODERNAS CONDIÇÕES DE SAÚDE, HABITAÇÃO E URBANISMO

F. A. Gonçalves Ferreira<sup>1</sup>

A presente nota é constituída por uma série de reflexões que correspondem a uma linha de preocupações pessoais acumuladas ao longo de vários anos e insere-se num projecto de plano de estudo das «Modernas Condições de Saúde» dos indivíduos e das comunidades, entre nós, com o qual se procurará reunir a documentação disponível de informação, calcular as variações dos factores condicionantes e avaliar as consequentes perspectivas de evolução, pela identificação concreta das influências que determinam as principais condições de saúde ou das acções indirectas a que estas se encontram sujeitas.

Um modelo de trabalho pode assim ser estabelecido, de forma a permitir o conhecimento actualizado deste importante assunto da vida das sociedades na nossa época.

O presente texto diz apenas respeito ao sector da *habitação* e do *urbanismo* — o primeiro a ser considerado dentro de um conjunto de factores do ambiente físico e social, como a alimentação, o trabalho e a vigilância e segurança criadas pelos sistemas de cuidados de saúde — e parte de três grupos de ideias diferentes, mas escalonadas, que se relacionam com:

1 — A necessidade de estudar, em termos de saúde e de doença, a influência do *habitat* ao longo da vida dos indivíduos, desde o nas-

cimento, identificando o papel que cabe à habitação e às condições de urbanismo local e regional na saúde, o que implica a organização de meios de investigação adequados;

2 — A organização, na prática, das tarefas indispensáveis de recolha dos dados existentes ou a identificar, de ordem estatística, médica e sociológica, indicativos das reacções dos indivíduos aos factores do meio em que vivem e da capacidade de adaptação, sem prejuízo da saúde ou favorecendo as condições que a melhorem;

3 — O delineamento de esquemas, baseados nas experiências e conhecimentos que foram sendo adquiridos, de codificação, de normas aplicáveis à definição dum novo tipo de habitação e de zona residencial urbana — constituída esta pelo aglomerado de lares ou dos conjuntos especificados de lares que a experiência indique como os mais recomendáveis para a saúde dos indivíduos e das famílias.

A primeira fase de trabalho envolverá a apreciação de todos os aspectos conhecidos e outros ainda mal inventariados das relações da habitação e do urbanismo com a saúde dos indivíduos dos diversos grupos etários nos seus aspectos físicos e psíquicos, para o que se procura estabelecer um programa prioritário de

<sup>1</sup> Director do Instituto Nacional de Saúde — Lisboa.

investigação que se ocupará das relações dos sectores da ecologia e do urbanismo, com a finalidade de avaliar as influências do meio na saúde da população, de forma a traduzi-las em índices concretos e indicar as bases técnicas de intervenção humana para os modificar favoravelmente.

Uma tal tentativa, de abertura ou alargamento de novo campo de investigação aplicada, em ecologia humana, implica a formação de núcleos ou grupos de especialistas de diversos sectores do conhecimento, igualmente preocupados e informados dos problemas postos em evidência, que estudam, dentro da disciplina de um órgão de atribuições regulamentadas, os problemas do *sub-sistema da saúde*, no conjunto do *eco-sistema global humano*.

Este órgão poderá ser do tipo de Centro de Estudo e Investigação, especificado no regulamento do INSA, e teria como seu primeiro objectivo estabelecer o delineamento e a descoberta das condições indispensáveis à defesa da saúde dos indivíduos, famílias e comunidades, em termos de presente e de futuro, opondo-se aos ataques correntes dos interesses económicos e da imprevidência, no sector da habitação e do urbanismo.

Muitos dos problemas específicos existentes são de extrema gravidade e acuidade, dada a falta de atenção com que as comunidades têm considerado os factores negativos, prejudiciais, que o desenvolvimento incontrolado cria ao homem e aos seus agrupamentos, com as más condições de habitação, de urbanização e de «contrôle» da poluição, do que resulta estarem a acentuar-se as mais graves e variadas agressões directas ou indirectas à saúde.

São de preocupação crescente os problemas que se relacionam com o desenvolvimento das grandes cidades e áreas urbanizadas, a industrialização e o aumento das comunicações, e, ainda, os que dizem directamente respeito aos movimentos de massas de pessoas em direcção às grandes cidades ou novas regiões em desenvolvimento acelerado, constituindo um tipo de migração rural-urbana desordenada e mais ou menos definitiva que afecta os velhos planos de urbanização e cria bruscamente novas condições artificiais de vida e a consequente desadaptação para os indivíduos de todas as idades envolvidos no processo, com graves riscos para a saúde.

Dada a impreparação das administrações regionais e locais para enfrentarem estas situações e a existência de planos directores nas áreas de grandes densidades populacionais, baseados em conceitos que nem sempre tomam na devida atenção o objectivo final que se deve procurar — o de criar as condições indispensáveis à obtenção de um nível óptimo de saúde —, é urgente que se difundam, sob a forma de indicações e conselhos técnicos, os preceitos teóricos e as regras práticas aconselháveis para aplicação oportuna.

Embora neste campo de estudo os problemas sejam ilimitados e muito difíceis de reduzir a um modelo baseado em equações, ou a um regulamento de normas de intervenção, é possível para alguns sectores mais críticos, como é o caso da urbanização na área dos grandes aglomerados populacionais, da poluição industrial e do tráfego urbano, delinear esquemas novos de orientação para o futuro imediato e correcção do que possa ser melhorado.

Afigura-se, por todas estas razões, que um tal Centro, ao colher e proceder ao tratamento adequado dos dados que permitam estabelecer relações harmoniosas, no domínio da habitação humana, entre os indivíduos e o seu ambiente residencial não poluído e físico-psicologicamente bem adaptado, poderá ser, desde o começo, da maior importância nesta época em que as soluções dos planos directores de urbanização são cada vez considerados menos satisfatórias.

Nos quatros números seguintes:

- 1 — Centro de Estudo das Modernas Condições de Saúde;
- 2 — Habitação e Saúde;
- 3 — Urbanismo e Saúde;
- 4 — Habitação e Zonas Residenciais;

são reunidos diversos elementos informativos, todos conducentes a que se venha a fazer a integração dos conhecimentos parcelares existentes e de outros resultados obtidos com o tempo, condicionam a adaptação do indivíduo ao ambiente em que precisa de viver e a preparação dos ambientes favoráveis para que se criem as condições desejadas de saúde dos indivíduos e dos seus agrupamentos socio-administrativos, próprios das sociedades humanas organizadas.



## 1 — Centro de Estudo das Modernas Condições da Saúde

Os objectivos de estudo e a capacidade de trabalho do centro podem ser definidos, com especial referência à habitação e ao urbanismo, nas seguintes indicações:

### 1.1 Finalidade

Documentação, estudo e investigação no domínio das relações do homem com o meio ambiente, tendo em conta que os indivíduos são portadores duma constituição genética rígida que não permite modificações essenciais voluntárias e cujo desenvolvimento favorável deve ser facilitado pelo condicionamento do ambiente, mas que se adaptam ao longo da vida, dentro de limites razoavelmente conhecidos, às actividades múltiplas que cada indivíduo é chamado a desempenhar na vida.

### 1.2 Objectivo principal

Definição tanto quanto possível quantitativa dos factores externos influenciadores da saúde física e mental dos indivíduos, e das inter-relações que facilitam a criação ou aplicação dos meios de adaptação necessários.

A saúde deve ser considerada o bem supremo a atingir, como condição básica do desenvolvimento harmonioso do indivíduo e do seu bem-estar, da expressão das suas potencialidades de trabalho e iniciativa e do ajustamento às exigências da vida em conjunto, nos grupos da comunidade e na sociedade em geral. Sabe-se que depende largamente do *habitat* e há que avaliar o peso dessas relações.

### 1.3 Objectivos nos estudos de habitação e urbanização

- a) estabelecer um modelo das condições físicas e fisiológicas habitacionais (localização, dimensões, número e tipo dos compartimentos, distribuição interna, ligações funcionais e acessos ao exterior) e das condições higieno-sanitárias (água, saneamento, luz, temperatura, humidade, ventilação, insonorização, energia eléctrica e gás);
- b) estabelecer um modelo para as condições de relações de vizinhança e convivência, favoráveis à adaptação psicológica e social dos indivíduos desde o nascimento;

- c) estabelecer um modelo para a localização das habitações nas zonas residenciais, em função das condições influenciadoras do clima geral e microclima e do ambiente próximo e afastado;
- d) estabelecer um modelo de circulação interna e de utilização para recreio, nos locais incluídos em áreas residenciais;
- e) estabelecer um modelo para os apoios sociais, as comunicações e as condições de transporte individual e colectivo.

### 1.4 Principais sectores de trabalho e responsáveis

- a) elaboração do modelo das modernas condições de saúde — médicos de saúde pública;
- b) planos de administração e economia em saúde — peritos em administração e socio-economia da saúde;
- c) modelo de ambiente físico e saneamento — engenheiros sanitaristas;
- d) modelo de ambiente fito-ecológico — agrónomos ecologistas;
- e) saúde mental e adaptação comunitária — psicólogos e psiquiatras sociais;
- f) arquitectura comunitária — arquitectos sanitaristas e arquitectos paisagistas.

## 2 — Habitação e Saúde

Sobre habitação tem-se escrito muito e investigado muito pouco. Entre nós, embora o problema da habitação higiénica, em todo o País, e da habitação social, nos grandes centros urbanos, sempre tenha sido motivo de preocupação, pelas consequências da falta de soluções adequadas e seus efeitos sociais aparentes, não há dúvida de que foi nos últimos anos, quer em colóquios, mesas redondas e congressos, quer em reuniões jornalísticas, que o assunto foi tratado com mais dados técnicos e em maior extensão.

É de acentuar que nem os administradores, os médicos ou os serviços de saúde portugueses têm contribuído com estudos ou indicações úteis, que ajudem, sobretudo os arquitectos, engenheiros e urbanistas responsáveis, a elaborar planos concebidos para favorecerem a promoção ou o equilíbrio da saúde e a prevenção da doença, à parte o que se refere a normas legais e regulamentares, que, consti-



tuindo imposições formais a respeitar, têm sido orientadas por conhecimentos insuficientes e de alcance limitado na nossa época.

Em trabalho recente (1), que considera o problema da habitação em termos de relação estreita com a saúde, diz-se quase textualmente:

— É espantoso como até agora ainda se investigou tão pouco um campo que se revela extremamente importante; em relação às somas elevadíssimas atribuídas sobretudo à construção civil, temos de concordar que um plano de investigação social de construção seria pouco pesado nos orçamentos e do maior interesse, pois que permitiria evitar a aprovação de planos deficientes, o que é, ainda hoje, muito frequente, e traria grandes economias pelas novas ideias práticas que desenvolveria.

— A morbilidade e a mortalidade são o meio de avaliação relativamente mais objectivo das condições higiénicas do ambiente. A Medicina Preventiva e a Epidemiologia podem, entretanto, ser utilizadas como sistema eficaz de «contrôle» nos estudos de urbanização. A taxa de doença nos habitantes dos bairros de lata ultrapassa os valores médios, e o mesmo se verifica, também, em relação aos habitantes dos novos bairros de apartamentos. A taxa de morbilidade aumenta na razão directa da altura dos andares nos edifícios. A taxa de morbilidade e a taxa de mortalidade aumentam, igualmente, na razão directa do crescimento da população urbana, de modo que se torna evidente a influência do tipo de habitação na saúde dos indivíduos.

— Embora pouco se tenha feito, alguma coisa foi posta em andamento, entretanto, sobretudo graças a uma crítica cada vez mais alicerçada em dados concretos e aberta aos resultados do planeamento urbanístico e habitacional. Uma vez que à investigação de tipo sociológico, procurando averiguar a intensidade e os motivos directos dos sentimentos de satisfação e insatisfação dos indivíduos, e as correlações entre estes e os factores externos definidos, se juntam os dados da estatística médica e o registo, com a comparação das frequências das doenças, de estados de doença e de mortalidade, e os resultados dos inquéritos de morbilidade efectuados objectivamente por estudos epidemiológicos, que tomam em conta um conjunto de factores multifactoriais e condicionais — os levantamentos que podem ser feitos, tanto no domínio estatístico como no

das experiências próprias, intencionais, adquirirão significado muito importante de estudo e orientação, que não pode continuar a ser ignorado.

## 2.1 Pontos a definir quanto ao tipo e localização da habitação

São enumerados os 10 seguintes, adiante analisados no número 4 desta nota:

- a) Forma e tamanho da habitação familiar, Famílias normais e com problema de deficientes físicos, implicando adaptações especiais. Habitação em vivenda com e sem jardim, e em andar. Compartimentação e dimensionamento dos compartimentos, de acordo com as suas funções. Circulação interna. Condições higieno-sanitárias. Acesso ao exterior;
- b) Tamanho do bloco ideal ou aconselhável de andares e número de residências, em função da alicia anterior e do número de habitações familiares que a necessidade exigir e a experiência indicar como mais aceitável;
- c) Localização e orientação dos blocos de residências. Número e geometria do conjunto;
- d) Apoio especial a dar ao conjunto e seu arranjo, em função de atribuições precisas relacionadas com os grupos etários da população a alojar;
- e) Circulação interior na área residencial, exclusivamente destinada a pessoas, e seu arranjo tendo prioritariamente em atenção as crianças, as pessoas idosas e os deficientes físicos. Ausência completa de veículos motorizados;
- f) Circulação exterior, parque de estacionamento de veículos pessoais e transportes colectivos;
- g) Ambiente próximo adequado ao estabelecimento e manutenção:
  - 1 — vegetação de recreio e purificadora (relva, arbustos, árvores) em toda a zona residencial;
  - 2 — culturas agrícolas na área próxima da zona residencial;
  - 3 — parques e florestas adaptados aos factores climáticos locais e condicionadores de microclimas favoráveis;

h) Ambiente afastado a estabelecer e manter:

- 1 — zonas de arborização adequada em montes e serras;
- 2 — adaptação utilitária de zonas marítimas e praias;
- 3 — adaptação de outras áreas afastadas influenciadoras;

i) Apoios sociais exteriores:

- 1 — educação; creches; parques infantis;
- 2 — saúde; cuidados de urgência;
- 3 — comércio e comunicações;
- 4 — passatempos e desportos;

j) Urbanização moderna, como enquadramento de conjunto dos factores a considerar e capazes de criarem as condições desejáveis de saúde.

## 2.2 Formas de habitação e saúde

Alguns estudos de Medicina Social efectuados nos últimos anos, todos fora do nosso país, de que referiremos apenas os de Haussler (2), na Alemanha, e de Hird (3), na Inglaterra, seguidos pelos de Fanning (4), em famílias de militares ingleses na região do Reno (República Federal da Alemanha), mostraram influência acentuada do tipo da residência (vivendas particulares, em confronto com os prédios alugados por andares) na saúde dos habitantes, verificando-se comparativamente maior número de casos de doença nos imóveis de andares do que nas vivendas.

2.2.1 Os trabalhos de Haussler foram realizados ao longo de 19 anos, numa população composta por 165 famílias de proprietários rurais assistidas regularmente por serviços médicos, tendo-se detectado durante este período 6534 casos de doença, sendo 2084, em homens, e 4450, em mulheres.

Numa amostra semelhante quanto à idade e actividade, com número idêntico de indivíduos, diferindo pouco sob o ponto de vista social, que constituiu um grupo comparativo, registaram-se 5477 casos, sendo 2571, em homens, e 2906, em mulheres.

As duas amostras de população diferiam quanto ao tipo de habitação, vivendo a primeira em andares alugados, e a segunda, em vivendas, mas observou-se também o efeito de mudança de residência de andar para vivenda.

Como conclusão decisiva do trabalho, o autor verificou que a frequência da doença aumentava no grupo vivendo em andares alugados, continuamente, ao longo do tempo, enquanto no grupo das pessoas que passaram a ser proprietários de vivendas próprias a subida da taxa de doenças — homens e mulheres — parou logo que ocuparam as suas casas, ou começou a diminuir no ano imediato.

Nove anos após a ocupação de vivendas, registavam-se nos seus habitantes menos de metade dos casos de doença, em termos de percentagem, relativamente aos do que continuavam a verificar-se nas casas alugadas de andares.

2.2.2 Hird, por sua vez, encontrou também mais elevada percentagem de casos de doença nos habitantes de andares alugados, mostrando as suas estatísticas que as crianças com menos de 10 anos de idade, vivendo em andares, estavam sujeitas ao dobro da frequência das infecções respiratórias, em relação às que habitavam em vivendas.

Nos adultos, verificou-se, por sua vez, o dobro do número de perturbações psíquicas, sobretudo em mulheres, naquelas condições de residência (andares).

2.2.3 Fanning, por sua vez, procedeu ao estudo da frequência de casos de doença em 558 famílias de furiéis do exército britânico do Reno, durante 10 semanas, no Outono de 1965. O grupo comportava 1608 mulheres e crianças.

Comparativamente, foi observado um grupo idêntico, sociologicamente bem definido e pertencendo ao mesmo estrato social, com o mesmo rendimento, instalado na mesma área residencial, de nível cultural e poder de compra semelhantes e idênticos meios de comunicação, de assistência médica, etc. A situação sanitária era boa e não havia doenças epidémicas.

Excluídas as famílias que entretanto passaram a ter habitação própria escolhida à sua vontade, de modo a evitar determinadas posições marcadamente positivas ou negativas, foram observadas 398 famílias, com a média de 1,9 crianças, num total aproximado de 1163 membros, que habitavam blocos de 4 andares, cada, e 160 famílias, com a média de 1,8 filhos, num total de 445 membros, que habitavam vivendas de dois andares. Todas as habitações eram de construção moderna e tinham aque-

cimento central. Nas dez semanas de estudo, foram registados 1409 casos de doença, 696 dos quais (598,5 em 1000 pessoas) nos imóveis de andares e 170 (382,0 por 1000 pessoas) nas vivendas de dois andares.

De acordo com estes dados, verifica-se que a morbilidade foi 57% mais elevada nos imóveis de andares múltiplos. Especialmente significativo é o facto da morbilidade elevada nos habitantes de imóveis de andares, em todos os grupos etários, devida a lesões dos órgãos respiratórios, aumentar também de acordo com a altura do andar, nomeadamente uma taxa de 193,7 por 1000 pessoas, no rés-do-chão, e de 246,0, nos terceiros andares.

Em contrapartida, nas vivendas e no mesmo espaço de tempo, adoeceram apenas 101,1 por 1000 pessoas, com lesões respiratórias.

De acentuar, ainda, que eram as crianças de idade inferior a 5 anos de idade que mais perturbações apresentavam das vias respiratórias, seguidas das de 5 a 10 anos. Nos adolescentes e adultos, vivendo em andares, além da morbilidade especial das vias respiratórias, foram os distúrbios do sistema nervoso, especialmente dos órgãos dos sentidos, e as perturbações psico-neuróticas que apresentaram taxas mais elevadas.

Nas mulheres entre os 20 e 30 anos, a incidência das perturbações psico-neuróticas foi três vezes mais elevada no grupo que habitava em andares (103,4 por 1000) do que no grupo das vivendas (38,9 por 1000).

Também se verificou que estas perturbações aumentavam na razão directa da altura dos andares, passando de 63,0 por 1000, no rés-do-chão, para 127,3 por 1000, nos terceiros andares.

No grupo que habitava em vivendas, verificou-se uma taxa ligeiramente mais alta de acidentes físicos, em relação ao grupo vivendo em andares, mas a sua influência na taxa de morbilidade não chegou a notar-se.

A proporção significativamente mais alta da incidência de perturbações psico-neuróticas parece estar relacionada com o isolamento e a dificuldade de acesso ao exterior, que aumentam proporcionalmente à altura dos andares nos imóveis.

Fanning acentuou o significado evidente das diferenças de contactos entre os membros das famílias vizinhas de andares e de vivendas, que é menor para o caso das mulheres e das

crianças vivendo em andares e origina situações de isolamento e de solidão, ao mesmo tempo que restringe o desenvolvimento de actividades físicas e psíquicas ao ar livre.

### 3 — Urbanismo e Saúde

Dados estatísticos alemães (5) mostram que os índices de mortalidade e de morbilidade são invariavelmente mais altos nos meios urbanos do que nos meios rurais. A população rural gozaria de melhores condições de saúde do que a população das grandes cidades, revelando-se, em todos os grupos etários desta, taxa mais elevada de doença, que, no conjunto, é 55% superior à da população dos aglomerados com menos de 2000 habitantes. Alguns índices, como a mortalidade infantil, são porém mais baixos nos meios urbanos (cerca de 20%) do que nos meios rurais, o que deve estar relacionado com as maiores facilidades de vigilância da saúde e melhor cobertura médico-sanitária das áreas urbanas.

Parece verificar-se por toda a parte uma tendência semelhante de aumento da morbilidade, por certas doenças não infecciosas e especialmente por doenças psíquicas e neuroses, nas áreas urbanas de grande densidade de população e à medida que esta aumenta, embora parte deste aumento estatístico seja atribuível às condições económico-sociais mais favoráveis e a maior preocupação com a saúde, que, em conjunto, levam as pessoas a queixar-se com maior frequência, e, conseqüentemente, a revelarem situações que, noutras condições, ficariam por registar. Isto tem que ver sobretudo com vários dos pequenos estados de doença.

Oeter (5) acentua, a propósito de urbanismo e saúde, que a falta de informação neste campo, os preconceitos e toda a cadeia de factores socio-económicos conexos têm obstado à determinação e divulgação dos resultados obtidos pelos estudos de medicina social e de administração de saúde pública, os quais começam a adquirir a maior importância para a racionalização do planeamento urbano. Tais resultados, a adquirirem a extensão com que hoje se prevê ser possível obtê-los, devem conduzir ao desencadeamento de uma completa revolução pacífica na esfera da habitação e do urbanismo.

Diz-se, e com fundamento, que o urbanismo tem sido influenciado pela maneira de pensar

das gerações que se vão sucedendo, pela força das esperanças e das utopias de pensamento de cada geração, do que resulta que as cidades de hoje, com todas as suas qualidades e defeitos, constituem a materialização das utopias das gerações precedentes, tal como a cidade do futuro irá sendo, com as suas inovações, o reflexo das aspirações e utopias das gerações presentes e seguintes.

Nos nossos dias, a palavra de ordem da construção civil tem sido «condensação e urbanismo» e raramente se associa ao significado do termo «urbanismo» algo de concreto, quando o sentido a dar-lhe deveria ser o de conseguir a multiplicidade de atractivos inerentes à vida urbana e as condições de ambiente favoráveis à promoção da saúde integral para os indivíduos, de forma a ser assegurada para todos a satisfação das necessidades de formação, promoção da saúde, convívio e distracção do espírito.

Também se tem dito que os construtores civis e arquitectos eminentes de todo o mundo gostam de se integrar na crescente tendência para o monumental — e são por isso considerados e aplaudidos.

É Le Corbusier, com as suas máquinas de habitação de Marselha e Berlim, Oskar Niemeyer, com a capital «Brasília», Fuller, com o seu projecto de cidade completamente climatizada, ou Frank Lloyd Wright com a concepção da cidade vertical, com a altura de quilómetros e capacidade para 100 000 habitantes, incluindo uma clínica obstétrica, um instituto do cancro, escolas, escritórios e aglomerados fabris, locais de recreio, cemitério e morgue, enfim, uma cidade que, teoricamente, entre a vida e a morte, nada mais precisaria de oferecer ao ser humano.

Os factores tecnológicos têm constituído, para quase todos os que participam nos sistemas de planificação, os elementos decisivos na aceitação de projectos deste tipo. As preocupações estéticas desempenham aqui um papel muito relativo. O arquitecto pensa ter satisfeito integralmente todas as necessidades do futuro habitante com a construção e arranjo duma boa sala de estar. No interior destes curiosos prodígios da arquitectura, vamos, quase invariavelmente, encontrar os mesmos apartamentos de 3 assoalhadas, mais raramente 4 assoalhadas, com as suas decorações pouco variáveis.

São praticamente inexistentes as habitações com capacidade para famílias com mais

de três ou quatro membros, em que se possa, de vez em quando, receber visitas, ou dar-se ao luxo de possuir uma pequena sala de jogos ou uma sala em que as crianças possam brincar com liberdade de movimentos. A situação dos grandes edifícios de muitos andares em altura revela-se particularmente delicada, porque dificulta às crianças em idade pré-escolar, a saída para o ar livre e, em grande medida, dificulta às mães a vigilância dos filhos, quando estes podem brincar no exterior. Além disso, há a considerar o problema do isolamento quase total das mães com crianças pequenas — bem como o isolamento das pessoas idosas e doentes. O planeamento de arranha-céus desprezou por completo as necessidades das famílias com crianças e pessoas idosas.

As consequências dum urbanismo que, como o de hoje, se concentra cada vez mais na construção de enormes torres, não podem ser descuradas e, ao estudá-las, deve partir-se do princípio de que a saúde física e psíquica dos indivíduos e especialmente das crianças e jovens que a crescerem precisa de ser considerada seriamente, mesmo que haja necessidade de modificar muitas das ideias e processos de trabalho presentes.

A criança que, por razões conhecidas da Medicina e da Psicologia, se encontra ligada à mãe por uma espécie de «cordão umbilical psíquico» e necessita de sentir, até ao seu quarto ano de vida, que ela se encontra sempre perto, deverá ter, neste tipo de habitação que é preciso criar, a possibilidade de correr ao ar livre, sob os olhos da mãe; de correr, brincar e voltar a casa em segurança com ou sem a mãe. O contacto com a mãe não é perturbado e a criança pode, simultaneamente, brincar e fazer barulho ao ar livre, uma vez que todos estes aspectos se encontram facilitados e intimamente ligados.

Mas, para urbanizar e construir bem, seguindo normas técnicas, estéticas e tendo em linha de conta as necessidades psico-fisiológicas dos indivíduos na família, há que dispor de terreno e dos meios técnicos e financeiros adequados, dentro duma linha orientadora e impulsionadora de suficiente capacidade de intervenção.

Que conclusões convirá tirar, sob a forma de medidas a estabelecer para serem aplicadas na prática imediata, relativamente ao conjunto de aspectos focados? Resumem-se nos cinco pontos seguintes:

— Constituição de um direito moderno e social da habitação, a começar pela utilização do solo, tal como está a desenvolver-se rapidamente em vários países, que constituirá a base dos projectos-lei da nova construção civil. Entre nós, a publicação de uma Lei dos Solos (Decreto-Lei n.º 576/70, de 24 de Novembro) trouxe importante contribuição para ajudar a resolver este mesmo problema;

— Definição das características e condições de utilização da moderna habitação, das áreas residenciais em que se integra e do enquadramento urbanístico destas;

— Possibilidade de alterações legais destas características, à medida que forem sendo julgadas necessárias, para melhoria das condições de vida e de saúde das populações, impedindo que sejam bloqueadas por iniciativa privada;

— Substituição progressiva do tipo de mão-de-obra clássico pela mão-de-obra industrial, especialmente no que se refere à construção com elementos prefabricados, e normalização de diversas estruturas, o que, além de tornar possível maior maleabilidade e adaptação às necessidades das famílias, fará baixar os custos numa percentagem da ordem de 20%;

— Finalmente, o ajustamento das rendas, impostos ou contribuições, em especial para as famílias numerosas e de pequenos rendimentos.

Afirma-se no trabalho citado (5) que na Alemanha a eliminação de diferentes tipos de encargos, considerados hoje desnecessários ou inconvenientes, faria descer, sensivelmente para metade, o preço da actual habitação, o que significa que o seu encarecimento é hoje em dia da ordem de 100%, relativamente ao preço por que pode ser conseguida. Não será o mesmo em Portugal?

#### 4 — Habitações e Zonas Residenciais

Ainda que o Centro de Estudo referido no n.º 1 desta nota esteja em organização e não se disponha de elementos concretos de estudo que possam ser apresentados, relativamente a qualquer dos sectores indicados da sua possível competência de actuação, julgamos útil enunciar, desde já, algumas ideias orientadoras que servirão de ponto de partida para a explanação dos principais problemas a considerar, e que as equipas de técnicos procurarão estudar em pormenor, logo que possível, dentro dos objectivos previstos.

##### 4.1 Habitação ou lar

Dentro do conceito de habitação funcional e tendo em conta as diversas fases da vida dos indivíduos que constituem a família, bem como o facto de que as famílias se modificam continuamente pelas sucessivas gerações que se renovam, desde o nascimento até à velhice, haverá que considerar, esquematicamente, na habitação, três áreas funcionais, servidas por um átrio ou entrada de acesso:

1 — Uma zona de trabalho corrente, constituída normalmente por dois ou mais compartimentos separados, mas contíguos, em que possam ser efectuadas as tarefas correntes de cozinha, tomada de refeições e diversos trabalhos domésticos;

2 — Uma zona mista, de trabalho e estar, servindo para trabalho intelectual, passatempo, convívio e relações sociais, de preferência localizada em posição oposta à zona 1; deve ter dimensões apropriadas, servindo, além do mais, para divertimentos e passatempo de crianças, quando a idade, mau tempo, etc., impedem a sua permanência no exterior da habitação;

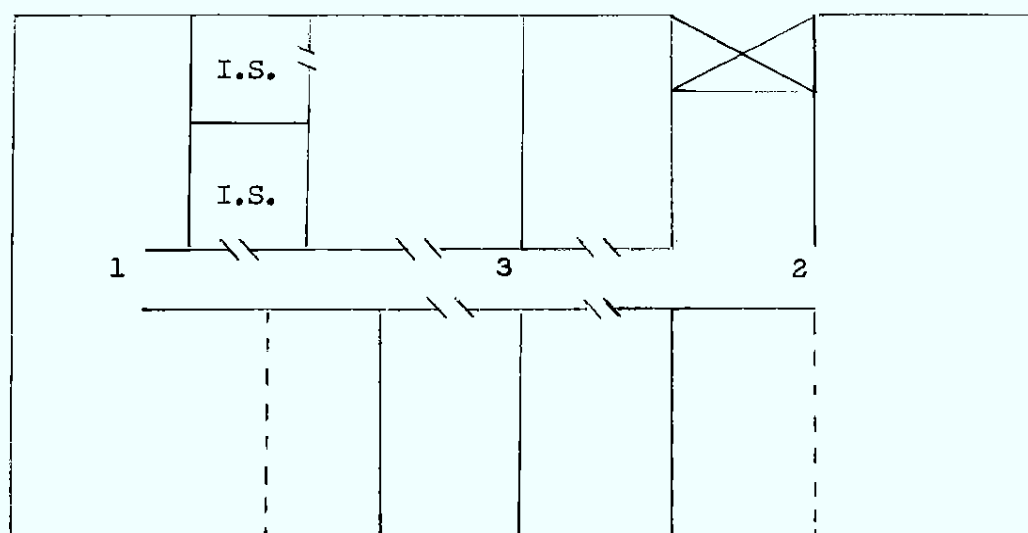
3 — Uma zona de repouso, representada especificadamente pelos quartos de dormir, que devem ser constituídos por compartimentos isolados, pequenos, silenciosos, não sobrecarregados de mobília, parte da qual deverá ficar integrada na estrutura do próprio compartimento (guarda-fato e cómoda) e dispo de ventilação e iluminação bem estudada. Na maior parte das habitações, segundo a concepção exposta, esta zona ficará em posição intermédia às zonas 1 e 2.

Como compartimentos indispensáveis de apoio, haverá as instalações sanitárias formadas por dois dispositivos, permitindo a serventia independente, e uma casa de arrumos com prateleiras que facilitem a utilização como dispensa, etc. Os dispositivos para lavagem e outros tratamentos de roupas ficarão anexos à zona 1 de trabalho. As comunicações interiores são asseguradas por corredor ao centro.

Uma descrição rápida dos principais compartimentos referidos no modelo proposto (Fig. 1), destinado a famílias médias com cinco pessoas, acentuará as seguintes características:

*Átrio e corredor.* O átrio, com cerca de 2,5 m de largura, liga a entrada, servida nos andares por escada e elevador, com o corredor que terá cerca de 1,0 m de largura.

FIG. 1  
(Residência)



- 1 — Zona de trabalhos domésticos (inclui arrumações)
- 2 — Zona de estar e convívio (inclui o átrio)
- 3 — Zona de repouso (quartos de dormir)

**Zona 1.** É constituída pela cozinha, com cerca de  $2,5 \times 3,5$  m, dispondo de equipamento distribuído funcionalmente, incluindo limpa-cheiros e frigorífico, e de sala de refeições e trabalho, com cerca de  $3,5 \times 3,0$  m, e anexos a estudar pelos arquitectos.

**Zona 2.** Formada, em princípio, por uma sala de estar, com  $3,5 \times 8,0$  m, tendo uma sala de trabalho anexa, com  $3,5 \times 3,0$  m, deverá ser concebida nos seus pormenores para a utilização racional no quadro da vida orgânica das pessoas que constituem a família. Os arquitectos e urbanistas têm ignorado as necessidades de espaço e os psicólogos começam a dar o alarme, chamando a atenção para as necessidades, ainda mal conhecidas, das crianças, dos adultos e das pessoas idosas, na adaptabilidade fisiológica ao espaço interior da habitação. A adaptabilidade parece ter limites no que diz respeito a espaço e modo da sua utilização, reconhecendo-se que uma das razões de mal-estar e de instabilidade psíquica nas residências actuais de pequenos andares resulta de se ignorarem as necessidades de espaço. São conhecidas as exigências espaciais dos animais nos jardins zoológicos e dos homens em certos tipos de trabalho. O problema é, provavelmente, dos mais importantes em termos de saúde integral dos indivíduos e diz respeito

sobretudo às crianças, desde o nascimento, pois é nesta fase da vida que o sistema nervoso está mais sujeito a estas influências moldadoras da personalidade. Foi tendo em linha de conta os actuais conhecimentos, embora muito incompletos, que no modelo de habitação aqui apresentado é calculada uma área global de  $20 \text{ m}^2$ , por pessoa, e separada uma zona de estar e de convívio com dimensões amplas e permitindo utilização espacial em novos moldes adaptativos.

**Zona 3.** Destinada fundamentalmente a quartos de dormir, seria constituída por quatro unidades, permitindo a instalação de cinco pessoas. O quarto maior, de casal, teria as dimensões aproximadas de  $3,0 \times 3,5$  m e instalação sanitária privativa anexa. Os restantes quartos, individuais, teriam as dimensões aproximadas de  $2,2 \times 3,5$  m. Os pormenores de mobiliário ou comodidades interiores devem ser estudados pelos arquitectos e engenheiros sanitários, dentro do critério de que o mobiliário móvel deve ser mínimo e ocupar pouco espaço. É fácil ligar às paredes, durante a construção, dispositivos para arrumação de roupas, mesa de leitura e escrita, etc., com a capacidade conveniente, sem desperdiçar espaço. São indispensáveis boas condições de arejamento e iluminação, tal como hoje se sabe fazer.

Além duma disposição e dimensionamento equilibrado para os compartimentos da habitação, é fundamental estabelecer uma ligação funcional entre cada andar e os locais anexos de recreio no exterior, ao ar livre, a começar pelo espaço entre os blocos, criando para o conjugado: residência-terreno anexo de recreio, o conceito novo em urbanística, de continuidade ou ligação directa entre espaço interior da residência e espaço exterior contíguo, embora os dois elementos que se prolongam funcionalmente estejam em níveis diferentes de altitude e separados por alguma distância, que terá de ser sempre pequena.

É de admitir que esta ligação funcional venha a desempenhar papel utilíssimo, semelhante ao que representa o terreno anexo à vivenda individual ao servir fundamentalmente de logradouro ou passatempo, mas estabelecendo desde a infância o hábito e a sensação de que se dispõe dum contacto directo e natural entre interior habitacional e espaço exterior complementar.

Isto que se compreende bem para o rés-do-chão, e mesmo para o 1.º e 2.º andar nos prédios de andares múltiplos, aparece como menos natural à medida que se sobe em número de andares. Parece-nos, porém, que até ao 5.º andar, sobretudo dispondo de elevador, o acesso ao exterior seja ainda fácil, ao mesmo tempo que a visibilidade a esta altura (menos de 20 metros) permite a vigilância útil das crianças mais pequenas no exterior, a partir das janelas da residência, e mesmo o seu chamamento ou pequenos contactos orais.

O 6.º andar afigura-se-nos um limite para todas estas facilidades e por, no caso presente, se tratar duma experiência, o tipo de bloco residencial apresentado compreende 6 andares. A altura a que a observação será feita do 6.º andar, na prática, não deve exceder 22 metros, o que talvez se venha a mostrar ainda satisfatório.

Os importantes problemas a considerar em relação com o tamanho da família, os deficientes físicos e as pessoas idosas, implicando localização e adaptações especiais da residência, devem ser objecto de estudo, conforme os grupos de população a considerar, por parte dos peritos.

#### 4.2 Zona residencial

Definido o tipo de residência modelo, haverá que considerar o tamanho do bloco ideal ou aconselhável, compreendendo o número de

residências por andar e o número de andares. No presente modelo partiu-se do princípio de que o bloco teria as dimensões de 15,0 x 112,0 metros e seria constituído por rés-do-chão e 6 andares, comportando 98 habitações, servidas, em grupos contíguos de 14, por elevador. Os blocos seriam agrupados em conjuntos de 5, formando os 4 conjuntos do modelo (Fig. 3), com o total de 20 blocos, um arranjo espacial bem definido, mas a estudar pelos peritos quanto a orientação, exposição solar, etc., em cada caso.

Os espaços inter-blocos da zona residencial são destinados exclusivamente a recreio e passatempo dos habitantes e, em particular, das crianças e pessoas idosas. Consideram-se, separadamente: — os espaços entre cada dois blocos, que além dos passeios suficientemente largos (4,5 m) para permitirem o uso de triciclos, patinagem ou outros divertimentos de crianças teriam uma faixa central com a largura de 6,0 m (Fig. 2), de areia ou terreno batido, exclusivamente destinada a recreio de crianças pequenas, com os apoios adequados. É esta zona que deverá poder ser observada dos diversos andares, para vigilância das crianças, como foi dito na alínea anterior; — os espaços entre os conjuntos de blocos, que delimitam perifericamente 4 áreas indicadas na Fig. 3 com o número 5 (áreas ou zonas verdes arborizadas) e um rectângulo central, com faixas para bicicletas, relva, corridas e campo de jogos de bola, indicados com os números 3, 2 e 1.

A zona residencial, quadrada, com um perímetro da ordem de 1600 m e a área de cerca de 15 hectares teria uma vegetação adequada de árvores, arbustos e relva que permita considerar os problemas da purificação do ar e da comodidade dos habitantes, no seu interior, como definitivamente resolvidos.

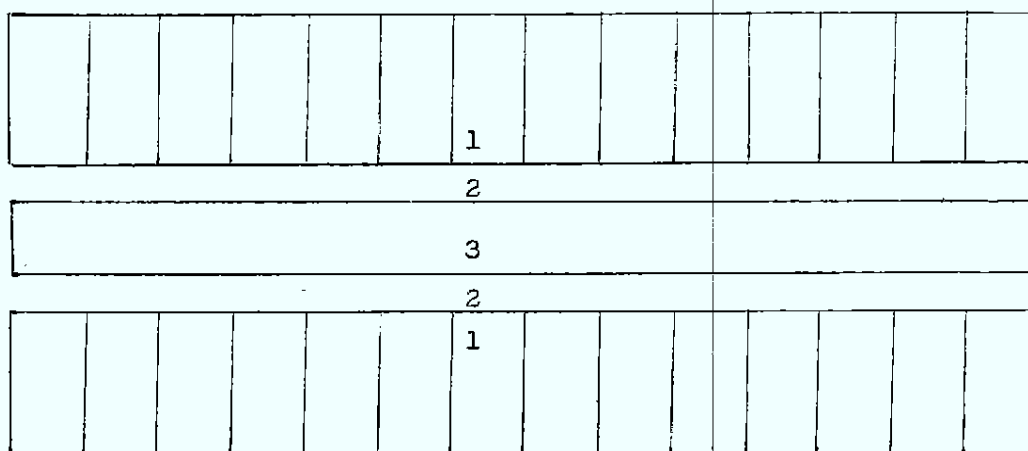
A zona residencial está vedada por completo a veículos motorizados e é circundada por um passeio arborizado, com cerca de 15 metros de largura, dos quais uma faixa exterior da ordem dos 3,5 m seria destinada ao estacionamento de veículos motorizados.

Toda a circulação de acesso, incluindo os transportes colectivos, seria exterior.

Cada unidade ou zona residencial é destinada a cerca de 2000 famílias, ou sejam aproximadamente 10 000 pessoas.



FIG. 2  
(Blocos de residências)



- 1 — Blocos de residências
- 2 — Passeios utilizáveis para triciclos e bicicletas
- 3 — Zona verde ou de terra batida para recreio

#### 4.3 Urbanização moderna

A vida urbana requer um modelo diferenciado das suas áreas comunitárias e, naturalmente, que as experiências que se mostrarem mais adequadas irão constituindo guias para o futuro desenvolvimento urbano. Ao mesmo tempo, requer-se que os modelos diferenciados das áreas comunitárias ofereçam às pessoas mais possibilidades legais de escolher uma residência em que possam sentir-se bem, vigiar e guiar os movimentos diários dos filhos pequenos ou das pessoas idosas da família, simultaneamente com um ajustamento das estruturas ecológicas e administrativas para que se forme um sistema coerente.

Os modelos sociológicos das comunidades urbanas que têm sido tentados não tornaram mais explícitos e compreensíveis os modelos locais de população preexistentes que ainda persistem, parecendo que os estudos a empreender devem procurar explicar e avaliar as influências da origem ou proveniência das pessoas e grupos, da maneira como vivem, da sua adaptabilidade e contestação e da possível relação funcional entre zonas residenciais e áreas ecológicas complementares.

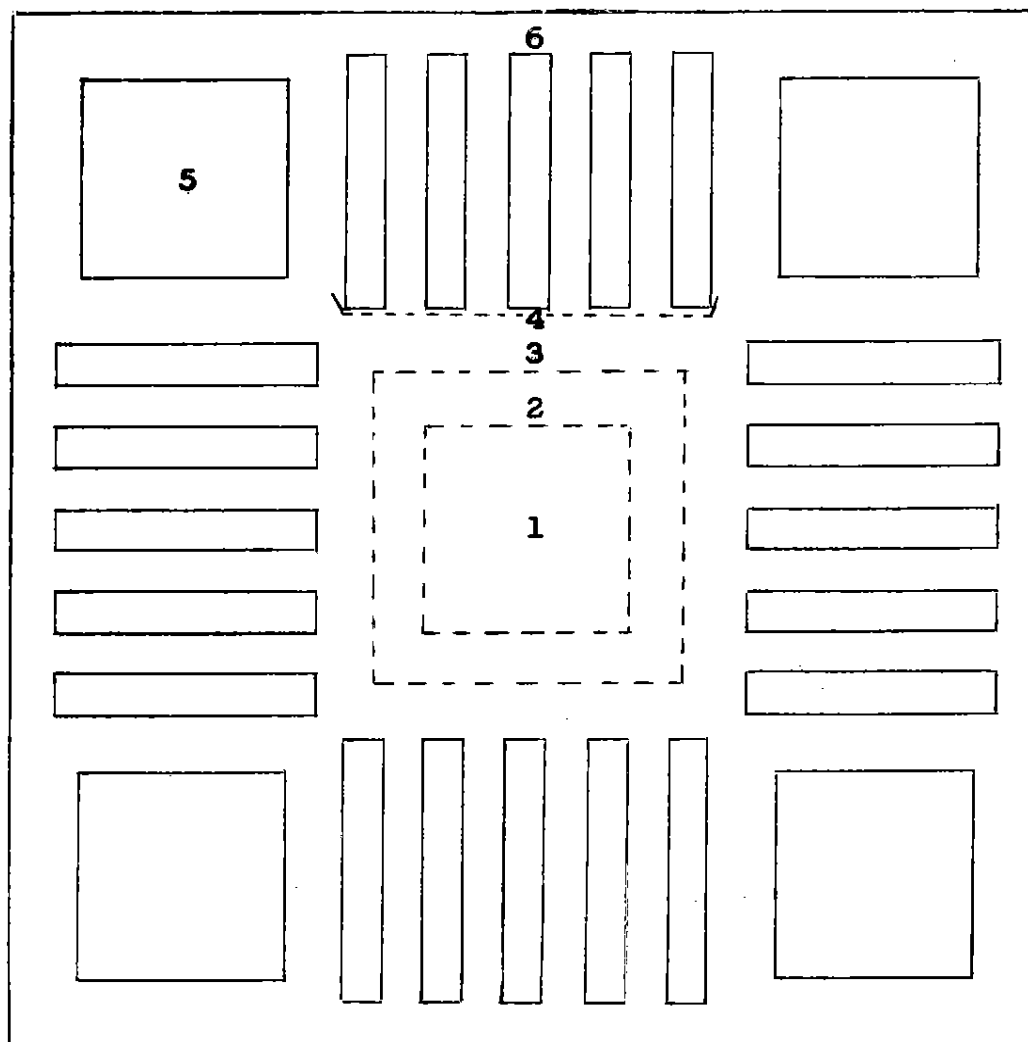
Algumas designações funcionais ou territoriais de agrupamentos elementares devem ser consideradas em urbanização, individualizando-

-se nesta nota quatro unidades de tamanho e atribuições crescentes na vida das comunidades:

1 — unidade de contactos familiares, representada habitualmente pelas instalações residenciais contíguas ou próximas de algumas famílias, quer de vivendas, quer de andares, geralmente de 2 a 10, que estabelecem contactos estreitos e compartilham das preocupações e conhecimentos que dizem respeito aos seus interesses na vida familiar, na área residencial ou mesmo na comunidade;

2 — unidade de vizinhança, formada por agrupamentos de residências para 50 a 500 famílias ou mais, que engloba diversas unidades de contactos e corresponde ao pequeno núcleo tradicional do meio rural, que é a aldeia, e ao quarteirão ou agrupamento de ruas nos centros urbanos. A vizinhança tem efeitos naturais de aglutinação que se perdem rapidamente com a distância. Nos meios urbanos, particularmente nas grandes cidades, os efeitos de vizinhança tendem a enfraquecer, mas dependem muito dos grupos de população de que se trata, suas origens, hábitos comunitários e áreas de instalação. Os agrupamentos locais, com predomínio de influências sociais e de proveniência comum das pessoas, representadas por tradições rurais, tendem a

FIG. 3  
(Zona residencial)



- 1 — Terreno de jogos — relva ou terra batida — delimitado por árvores
- 2 — Faixa de relva
- 3 — Passeio interior arborizado para jogos e bicicletas
- 4 — Conjunto de blocos de residências
- 5 — Zonas verdes ajardinadas e arborizadas
- 6 — Passeio exterior arborizado

manter os efeitos aglutinantes destas que se estendem dos vizinhos, à aldeia e ao concelho;

3 — unidade de comunidade, formada por várias unidades de vizinhança e comportando de 500 a 2000 famílias, corresponde ao modelo de zona residencial descrito nesta nota. É uma entidade nova que combina, para efeito de habitação, as necessidades essenciais de insta-

lação intra e extra domiciliária das pessoas com os factores sociais decorrentes das duas unidades anteriores;

4 — unidade administrativa, correspondente a aglomerados que na opinião de alguns sociólogos devem ter pelo menos 40 000 habitantes, constituiria a unidade aglutinante das zonas residenciais, dispondo de todos os apoios admi-

nistrativos necessários à vida da comunidade. Englobaria pelo menos 4 zonas residenciais, de acordo com o modelo em estudo, e, além dos requisitos habitacionais, disporia dos apoios sociais indispensáveis.

A urbanização moderna, como enquadramento do conjunto de factores capazes de criarem as condições desejáveis de saúde, leva a que os técnicos urbanistas, partindo de modelos simples, embora tomando em linha de conta todos os factores importantes já conhecidos ou novos condicionadores do problema da saúde, considerem a multiplicidade de aspectos que hão-de constituir os gradientes da zona residencial, como unidade fundamental, em função das finalidades e das possibilidades de utilização pelas pessoas dos diversos elementos e apoios que a constituem e definem.

A zona residencial deve permitir um tempo de permanência óptimo em ambiente não poluído, que seria, conforme a idade, por dia:

- até à idade escolar — 24 horas;
- durante toda a idade escolar (8 anos)
  - 18 horas pelo menos, conforme a localização dos estabelecimentos escolares;
- na vida de trabalho — 12 horas, pelo menos.

A ordenação dos conjuntos, procurando obter o máximo de efeitos funcionais e ecológicos benéficos, viria a considerar uma lista de pontos, como a seguinte, que vai desde o tipo e localização da habitação ao tipo de ambiente próximo e afastado que é preciso estabelecer:

- a) Forma e tamanho da habitação familiar. Famílias normais e com problemas de deficientes físicos, implicando localização e adaptações especiais. Habitação em vivenda, com e sem jardim, e em andar. Compartimentação e dimensionamento dos compartimentos, de acordo com as suas funções. Circulação interna e acessos ao exterior. Condições higieno-sanitárias gerais da habitação e de cada compartimento;
- b) Tamanho ideal ou aconselhável do bloco de andares e número de residências por andar e por bloco, em função da alínea anterior e das necessidades que a experiência indicar;

- c) Localização e orientação dos blocos de residências. Número e geometria do conjunto;
- d) Apoios especiais de espaços livres e outros, em função de atribuições precisas relacionadas com os grupos etários da população;
- e) Circulação interior na área residencial, exclusivamente destinada a pessoas, com ausência completa de veículos motorizados, tendo prioritariamente em atenção as crianças, as pessoas idosas e os deficientes físicos;
- f) Circulação exterior, parque de estacionamento de veículos particulares e transportes colectivos;
- g) Ambiente próximo adequado a estabelecer e manter:
  - 1 — vegetação purificadora e de recreio (árvores, arbustos e relva) em toda a zona residencial;
  - 2 — culturas agrícolas na área próxima da zona residencial;
  - 3 — parques e florestas regionais adaptados aos factores climáticos locais e condicionadores de microclimas favoráveis;
- h) Ambiente afastado a estabelecer na área de influência:
  - 1 — zonas de arborização adequada em montes e serras;
  - 2 — adaptação utilitária de zonas marítimas e praias;
  - 3 — adaptação de outras áreas afastadas influenciadoras;
- i) Apoios sociais exteriores:
  - 1 — educação — creches, parques infantis, escolas;
  - 2 — saúde — serviços de cobertura médico-sanitária e de urgência;
  - 3 — comércio e comunicações;
  - 4 — passatempos e desportos;
  - 5 — justiça e segurança;
  - 6 — administração e finanças.

#### 4.4 Custo da habitação

Parece ser dos problemas de mais difícil solução, no presente, o conseguir que as famílias de rendimentos médios venham a dispor de habitação nas áreas urbanas, a custos máximos da ordem dos 15 a 20% desses ren-

dimentos. Disciplinando o preço dos solos e da construção (regime industrializado), verificar-se-á, porém, que a zona residencial descrita, ocupando uma área de terreno de 150 000 m<sup>2</sup> e dispondo de área habitável de cerca de 230 000 m<sup>2</sup>, poderia ser construída a um custo total da ordem de 600 000 contos ou inferior.

Admitindo que cada habitação teria uma renda calculada de 2000\$00 mensais, para as 280 dispostas nos extremos dos blocos e que têm, por isso, melhores condições de locali-

zação e iluminação, e de 1500\$00 mensais, para as restantes 1680, o rendimento, em termos de juro do capital, seria de 6 a 7%.

Estes valores podem servir de ponto de partida para a elaboração de um programa que ajudaria a fazer progressos no estudo dos pormenores a considerar, com o objectivo de transpor rapidamente a fase de plano e passar à fase experimental, a única que pode trazer reais condições de observação, quanto aos aspectos económicos, sociais e funcionais, em relação com as condições de saúde a atingir.

### Referências

1. OETER, D. — (Poderá a Medicina Social revolucionar o urbanismo?) Wird die Sozialmedizin den Städtebau revolutionieren. *Städtehygiene*, 5; 103, 1971.
2. HAUSSLER, S. — (As consequências sanitárias do regulamento da habitação) Die gesundheitlichen Auswirkungen des Eigenheimbaus. *Z. ärztl. Fortbildung*, 3; 1966.
3. HIRD, J. F. B. — *J. Coll. Gen. Practit.*, 12; 33, 1966 (cit. em 1).
4. FANNING, D. M. — Families in Flats. *Brit. Med. J.*, 4; 382, 1967.
5. OETER, D. — (Formas de habitação, alternativas do urbanismo e arranjos do solo determinantes da saúde) Wohnformen städtebauliche Alternativen, Bodenordnung Determinanten der Gesundheit. *Gesundheitspolitik*, 3; 1970.

## 2.<sup>a</sup> SECÇÃO

- 1 — Estudo epidemiológico e laboratorial de um surto de poliomielite ocorrido na Ilha da Madeira (Março a Julho, 1972)

*José Bandeira Costa*  
*Maria Irene Pires Nunes*  
*Laura Ayres*

- 2 — Características higiénicas microbiológicas de gelados fabricados na região de Lisboa

-----  
*A. França e Silva*  
*Ricardina Dantas*

- 3 — Características higiénicas microbiológicas de manteigas nacionais à venda na região de Lisboa

*Ricardina Dantas*

- 4 — Aplicação da cromatografia em fase gasosa (CGL) ao estudo da gordura de alguns cacaos e chocolates do mercado nacional

*Beatriz Charters Monteiro*

- 5 — Subsídio para a determinação da nicotina em algumas marcas de cigarros nacionais

*L. F. Rodrigues Alves*

- 6 — Leites humanizados. Considerações sobre a determinação da lactalbumina

*Eugénia C. C. Amaral*

7 — Inquérito à prevalência das coagulopatias no norte de Portugal

*J. M. de Pina Cabral*  
*Pedro Vanzeller*  
*Licínio Poças*  
*Fernando Rente*  
*M. Conceição Coelho*

8 — Microbiologia do suco jejunal na cirrose hepática (Nota prévia sobre a pesquisa de anaeróbios)

*Guida Portela-Gomes*  
*Ricardina Dantas*  
*Adriana Figueiredo*  
*Ilda Ribeiro Pires*  
*J. Pinto Correia*

9 — Patologia respiratória provocada por fibras sintéticas

*Prof. Cortez Pimentel*

10 — Estudo epidemiológico da doença respiratória dos trabalhadores da indústria da cortiça

*Ramiro Ávila*

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

# ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E LABORATORIAL DE UM SURTO DE POLIOMIELITE OCORRIDO NA ILHA DA MADEIRA (MARÇO A JULHO, 1972) \*

José Bandeira Costa<sup>1</sup>  
Maria Irene Pires Nunes<sup>2</sup>  
Laura Ayres<sup>3</sup>

## ABSTRACT

*From March to July 1972 there was an outbreak of poliomyelitis in the island of Madeira among children between 0-5 years of age, 85 of which had to be hospitalized suffering from either non paralytic or paralytic forms with paresia or paralysis of one or two limbs. The lethality rate was high. Antipolio vaccination was started in the island of Madeira in 1959 with the Salk type vaccine and continued, since 1965, with the Sabin type vaccine. However, due to the great dispersion of the population in areas of difficult access, the vaccination programme cannot always be completed and the percentage of immunized individuals is therefore low. This reason may explain this epidemic outbreak. The diagnosis was confirmed in the laboratory either by the isolation of the agent (poliovirus type 1) or by the detection of an increase of neutralizing antibodies.*

## I — INTRODUÇÃO

A incidência da poliomielite, infecção viral das mais difundidas no mundo, baixou consideravelmente em todos os países onde se tem procedido à vacinação em grande escala (5). No entanto, como afirma Chumakov (2), a poliomielite continua a constituir um problema de Saúde Pública, internacional. Nenhum país, independentemente das suas condições socio-económicas e do seu nível sanitário, pode considerar-se livre do perigo de epidemias, a não ser que a grande maioria da sua população esteja imunizada — o que só se consegue

pela prática sistemática e ininterrupta da vacinação. Caso contrário, verificar-se-ão as condições óptimas para o desencadeamento de surtos epidémicos, de maior ou menor exten-

---

(\*) Trabalho da Direcção de Serviços de Profilaxia da Direcção Geral de Saúde e do Laboratório de Virologia do Instituto Nacional de Saúde.

(1) Director do Serviço de Profilaxia da Direcção Geral de Saúde.

(2) Técnico Especialista, Instituto Nacional de Saúde, Laboratório de Virologia.

(3) Investigador, Instituto Nacional de Saúde, Laboratório de Virologia.



são e gravidade, pelo facto de se irem constituindo grupos de indivíduos susceptíveis, cada vez mais numerosos, e de as estirpes de vírus selvagens continuarem a circular, embora em número reduzido. É fundamental que a prática da imunização artificial não seja de modo algum interrompida, sob pena de retrocesso epidemiológico (Fossaert, 1972) (3).

Esta ou outras causas que analisaremos mais adiante poderão estar na origem do surto de poliomielite ocorrido no distrito do Funchal, de Março a Julho de 1972, de que apresentamos a seguir alguns dados epidemiológicos e laboratoriais.

## II — DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Durante os meses de Março a Julho de 1972, verificaram-se alguns casos de poliomielite, formas paralítica e não paralítica, na ilha da Madeira, em crianças dos 0 aos 5 anos de idade, residindo, na sua maioria, nos concelhos do Funchal e de Câmara de Lobos.

Os primeiros casos de doença observaram-se na Fundação Zino, uma Instituição Particular de Assistência, do Funchal, com capacidade para internamento de 70 crianças e que se destina, especialmente, à recuperação física de crianças da 1.<sup>a</sup> infância, pertencentes a famílias de nível económico baixo. Apareceram, posteriormente, mais alguns casos em outros pontos da cidade e dispersos nos concelhos do Funchal, Câmara de Lobos e outros, com especial incidência no primeiro destes concelhos. A grande maioria dos casos de forma não paralítica da doença não foram hospitalizados e escaparam, assim, à nossa observação. Não é possível, portanto, apresentar dados seguros sobre todos os casos de doença, nem mesmo sobre o seu número exacto. O presente trabalho refere-se apenas às crianças hospitalizadas, em número de 85.

O primeiro caso de doença foi detectado em 21 de Março e o último em 30 de Julho.

A distribuição das 85 crianças hospitalizadas, por grupos etários, é a seguinte: 23 com menos de 1 ano, 46 com 1 a 2 anos, 14 com 3 a 4 anos e 2 com 5 anos. Não se verificaram diferenças nos dois sexos (42 rapazes e 43 raparigas).

Em cerca de 50 crianças houve lesões do SNC traduzidas por parésias e paralisias de 1 ou 2 membros. Muitas recuperaram completamente; algumas estão ainda em tratamento sob a orientação de um médico fisiatra.

A taxa de letalidade foi alta. Das 85 crianças que constituem objecto deste estudo morreram 8 (9,4%). Se tomarmos em consideração apenas os 53 casos em que a doença foi confirmada laboratorialmente verifica-se que a taxa de letalidade sobe de 9,4 para 15%. As mortes verificaram-se todas em crianças com menos de 1 ano de idade, com formas bulbares da doença. Algumas das crianças que morreram estavam em tratamento de síndromas carenciais o que pode explicar uma menor resistência à infecção.

Em 27 das 85 crianças hospitalizadas a doença foi confirmada laboratorialmente por isolamento do vírus e/ou por aumento do título de anticorpos entre o soro da fase aguda e o da convalescença e em 26 por reacções serológicas em que se verificou uma subida pequena do título de anticorpos ou em que os títulos observados para o vírus polio, tipo 1, eram altos, iguais ou superiores a 1/512, numa ou em 2 amostras de sangue. Em 23 outros doentes não se isolou o vírus responsável nem se verificou qualquer aumento do título de anticorpos e os valores encontrados eram inferiores a 1/512. Dos 9 doentes restantes não foram enviados quaisquer produtos para o laboratório, em Lisboa. Além dos doentes foram observados umas centenas de contactos que não apresentavam sinais de doença e aos quais não foi possível fazer qualquer exame laboratorial complementar.

A maior parte das crianças internadas na Fundação Zino, onde se verificaram os primeiros casos de doença, não estavam vacinadas contra a poliomielite. Das crianças dos concelhos do Funchal e de Câmara de Lobos só algumas estavam vacinadas. Nos anos anteriores tinham recebido 1, 2 ou mesmo 3 doses de vacina. Das 85 crianças que foram hospitalizadas com suspeita de poliomielite, 48 não tinham sido vacinadas, 14 tinham recebido uma dose, 13 duas e 10 três doses de vacina antipoliomielítica, tipo Sabin.

A vacinação antipoliomielítica foi iniciada na Madeira em 1959, com vacina tipo Salk em crianças dos 3 meses aos 5 anos de idade. Em 1966 foi feita uma vacinação em massa em crianças dos 3 meses aos 9 anos de idade, com vacina tipo Sabin, incluindo crianças que já tinham recebido anteriormente uma ou mais doses de vacina, tipo Salk. De 1966 em diante a vacinação tem continuado a ser feita com

vacina Sabin, de acordo com o esquema proposto pelo Programa Nacional de Vacinação, com uma primeira dose aos 3 meses e duas doses aos 5 e 12 meses, respectivamente, e duas doses de reforço entre os 18 e os 24 meses e entre os 5 e os 7 anos de idade.

Imediatamente após a notificação dos primeiros casos de doença aos Serviços de Saúde locais, estes iniciaram a vacinação em massa dos contactos familiares e circunvizinhos de baixa idade. Posteriormente, como fossem aparecendo mais casos, foi efectuada a vacinação em massa com vacina oral, viva, atenuada, trivalente, de toda a população do distrito entre os 3 meses e os 20 anos de idade, calculada, pelo censo de 1970, em cerca de 110 000 indivíduos. Correspondendo à 1.<sup>a</sup> dose, 2.<sup>a</sup> dose e 3.<sup>a</sup> dose, foram vacinadas, respectivamente, 96 000, 72 000 e 82 000 pessoas, num período de tempo compreendido entre Junho e Outubro de 1972.

O último caso de doença registou-se em 30.7.72.

### III— DADOS LABORATORIAIS

3.1 *Material e métodos* — O diagnóstico laboratorial foi feito por isolamento do vírus em amostras de fezes e/ou por pesquisa de anticorpos neutralizantes no soro.

#### Fezes — Tratamento e técnica de isolamento

O isolamento foi tentado em amostras de fezes enviadas do Funchal, por via aérea, em frascos-termos de boca larga, com gelo. No laboratório as amostras enviadas eram imediatamente sujeitas ao tratamento habitual de congelação e descongelação de uma suspensão a 20% em água destilada, centrifugação a 3000 rpm e adição de antibióticos (1000 U de Penicilina, 500 µg de Estreptomicina e 1000 U de Neomicina, por mililitro).

A inoculação dos extractos fecais foi feita em um de dois tipos de culturas de células primárias (rim de macaco e amnióticas) e em células de linha contínua (HEp-2). Usaram-se ao todo 10 tubos de ambas as culturas celulares por cada amostra de fezes. Os tubos inoculados eram incubados a 37° C, com substituição do meio ao fim de 18 horas por outro de composição semelhante e após observação

microscópica para detecção de possível efeito citotóxico que, a verificar-se, obrigaria a uma passagem imediata.

Os tubos eram observados diariamente, fazendo-se passagem das «pools» de líquidos infectados para culturas de células semelhantes quando as lesões citopatogénicas eram evidentes. Os tubos em que não se observavam lesões citopatogénicas mantinham-se em observação durante 2 semanas, com mudanças repetidas do meio de cultura, fazendo-se ao fim desse tempo uma passagem, como foi descrito atrás.

Por dificuldades momentâneas não se fizeram inoculações em ratinhos recém-nascidos nos casos em que as inoculações de culturas de tecidos foram negativas.

#### Culturas celulares

Usaram-se culturas de células amnióticas, de rim de macaco e HEp-2. As células amnióticas são obtidas por tripsinização de amnios humano, de placentas fornecidas amavelmente pelas clínicas de S. Gabriel e de S. Miguel, de Lisboa; as células de rim de macaco são obtidas do Medical Research Council, de Londres; as células HEp-2 são mantidas no laboratório por subculturas que se processam semanalmente.

Os meios de cultura são constituídos por hidrolisado de lactalbumina a 0,25% em soluto de Hanks adicionado de soro de cavalo para as células amnióticas e meio 199 adicionado de soro de vitela para as outras culturas celulares (rim de macaco e HEp-2).

#### Classificação dos vírus

A classificação dos vírus isolados foi feita pela técnica de neutralização com soros específicos, monovalentes, preparados no nosso laboratório ou obtidos da Central Public Health Laboratory, de Colindale, numa diluição apropriada, de modo a conterem 20 a 50 unidades antigénicas por 0,1 ml. Quanto à diluição dos vírus a classificar, procurou-se que não fosse ultrapassada a concentração de 100 TCID<sub>50</sub> por 0,1 ml.

As misturas de volume iguais de soros e vírus, deixadas à temperatura ambiente durante 60 minutos, eram inoculadas em culturas

celulares do mesmo tipo das usadas no isolamento, com 0,2 ml por tubo da mistura soro-vírus. Os tubos, incubados a 37° C, eram observados ao fim de 3 a 6 dias, considerando-se como final o resultado da leitura ao 6.º dia.

#### **Purificação dos vírus**

Nos casos em que não foi possível classificar os vírus isolados, e admitindo-se a possibilidade de se tratar de uma mistura de 2 ou mais vírus, procedeu-se à purificação dos líquidos infectados pela técnica descrita por Melnik (4). Os vírus que não foi possível classificar como vírus polio ou outros, mesmo após purificação, foram considerados como «inclassificáveis» e conservados sob congelamento para investigação ulterior.

#### **Diferenciação das estirpes de vírus polio**

A diferenciação das estirpes dos polio vírus isolados foi feita, para o tipo 1, pela avaliação da sua capacidade de multiplicação a 40° C (rct 40) e pela sua sensibilidade ao sulfato de dextran, segundo as técnicas seguidas no Central Public Health Laboratory, Colindale, e para o tipo 3, unicamente pela sua capacidade de multiplicação a 40° C. Todos os vírus isolados mostraram comportamento semelhante ao do das estirpes selvagens.

#### **Reacções Serológicas**

Os soros foram também enviados por via aérea, nas mesmas condições em que foram enviadas as amostras de fezes. Chegados ao laboratório eram imediatamente congelados a -20° C sendo conservados a esta temperatura até ao envio das segundas amostras. Só então se procedia à execução das reacções serológicas pela técnica de neutralização. Misturas de volumes iguais de vírus (concentração constante) e de soros (diluições seriadas) eram colocadas em banho maria a 37° C durante 3 horas. Os tubos de culturas de células, inoculadas com as misturas vírus-soro, incubados a 37° C eram observados 3 e 6 dias após a inoculação considerando-se como final o resultado obtido na leitura do 6.º dia.

Como antigénios usámos as estirpes Mahoney (tipo 1), SK (tipo 2) e Saukett (tipo 3) diluídas de modo a conterem na reacção 100 TCID<sub>50</sub> por 0,1 ml de cada uma delas. Considerámos, no entanto, válida a reacção sempre que, no «contrôle» das doses dos vírus se verificasse que estes se encontravam em concentrações compreendidas entre um máximo de 320 e um mínimo de 10 TCID<sub>50</sub> por 0,1 ml.

**3.2 Resultados e comentários** — Dos 85 doentes com formas clínicas suspeitas de poliomielite foram enviadas ao laboratório 61 amostras de fezes e 140 amostras de soros. Não foram enviadas amostras de líquido céfalo-raquidiano nem de lavados faríngeos.

Receberam-se amostras de fezes de 52 doentes, de alguns mais do que uma amostra, num total de 61. Uma delas não pôde ser analisada por contaminação bacteriana maciça, não combatida pelo tratamento habitual.

Dos 140 soros recebidos só foram analisados 126. Os 14 restantes não puderam ser ensaiados por serem em volume insuficiente ou por estarem contaminados.

Como é do conhecimento geral, o diagnóstico laboratorial da poliomielite é feito pelo isolamento do vírus, que constitui o método ideal, mas que deve ser confirmado pelo aumento do título dos anticorpos neutralizantes ou fixadores do complemento (1). Os vírus podem encontrar-se nas fezes durante semanas e, em certos casos, até 2-3 meses após o início da doença. A percentagem de isolamentos positivos é da ordem de 80-90%, sempre que a colheita se faça nos primeiros 10 dias da doença.

O diagnóstico serológico pode ser feito por reacções de neutralização e de fixação do complemento. Tanto os anticorpos neutralizantes como os fixadores do complemento aparecem rapidamente em relação ao início da doença pelo que nem sempre é fácil demonstrar a subida do seu título entre o soro da fase aguda e o da fase de convalescença, dado que já existem em título elevado quando aparecem as paralisias, chave do diagnóstico clínico.

Nos nossos casos usou-se apenas a reacção de neutralização, visto que os antigénios fixadores do complemento são, no caso da poliomielite, frequentemente anticomplementares.

QUADRO 1

Resultados dos isolamentos e das reacções serológicas

| Doente   |              |      | Data do início da doença | Tipo de vírus isolado | Soros<br>(Tempo decorrido entre o início da doença e a data da colheita) | Reacção de neutralização<br>Título* |         |         |
|----------|--------------|------|--------------------------|-----------------------|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|---------|---------|
| Nome     | Idade (anos) | Sexo |                          |                       |                                                                          | Polio 1                             | Polio 2 | Polio 3 |
| J. E. S. | 1            | M    | 21.3.72                  | Polio 1               | 30                                                                       | 128                                 | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 50                                                                       | 128                                 | 20      | 20      |
| M. V. G. | <1           | F    | 30.3.72                  | I                     | 18                                                                       | 80                                  | <8      | ≥512    |
|          |              |      |                          |                       | 41                                                                       | 512                                 | <8      | ≥512    |
| M. C. G. | 1            | F    | 30.3.72                  | I                     | 18                                                                       | 80                                  | <8      | 20      |
|          |              |      |                          |                       | 41                                                                       | 128                                 | <8      | 80      |
| J. P. F. | 1            | M    | 1.4.72                   | N                     | 17                                                                       | 80                                  | ≥512    | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 39                                                                       | 80                                  | ≥512    | <8      |
| J. N. A. | 3            | M    | 1.4.72                   | I                     | 17                                                                       | 80                                  | ≥128    | 8       |
|          |              |      |                          |                       | 39                                                                       | 80                                  | ≥128    | 8       |
| F. N. O. | 3            | F    | 4.4.72                   | Adeno<br>Tipo 3       | 14                                                                       | 20                                  | ≥512    | ≥512    |
|          |              |      |                          |                       | 36                                                                       | 80                                  | ≥512    | ≥512    |
| C. B. A. | 1            | M    | 13.4.72                  | N                     | 7                                                                        | 20                                  | ≥128    | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 30                                                                       | 80                                  | ≥128    | <8      |
| R. N. O. | 1            | M    | 14.4.72                  | —                     | 4                                                                        | 32                                  | 20      | <8      |
| J. F. C. | <1           | M    | 15.4.72                  | Polio 1               | 11                                                                       | <8                                  | 80      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 27                                                                       | 128                                 | 320     | <8      |
| P. M. F. | 2            | M    | 15.4.72                  | N                     | 11                                                                       | 128                                 | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 27                                                                       | 320                                 | <8      | <8      |
| N. P. A. | 1            | F    | 15.4.72                  | Polio 1               | 11                                                                       | <8                                  | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 26                                                                       | 80                                  | <8      | <8      |
| A. F. F. | 1            | M    | 15.4.72                  | N                     | 11                                                                       | 80                                  | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 27                                                                       | 80                                  | <8      | <8      |
| J. L. H. | <1           | M    | 15.4.72                  | Polio 1 + 3           | 13                                                                       | 32                                  | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 27                                                                       | 32                                  | <8      | <8      |
| J. C. V. | 3            | M    | 16.4.72                  | —                     | 23                                                                       | 128                                 | ≥512    | 80      |
| M. J. P. | 1            | F    | 17.4.72                  | N                     | 16                                                                       | 128                                 | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 37                                                                       | 128                                 | —       | —       |
| R. C. F. | <1           | M    | 18.4.72                  | N                     | 15                                                                       | 160                                 | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 36                                                                       | 640                                 | <8      | <8      |
| M. H. C. | 3            | F    | 18.4.72                  | Polio 1               | 15                                                                       | 128                                 | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 36                                                                       | 128                                 | <8      | 8       |
| J. A. C. | 1            | M    | 18.4.72                  | Polio 3               | 15                                                                       | —                                   | —       | —       |
| S. S. R. | 1            | M    | 21.4.72                  | Polio 1               | 12                                                                       | 320                                 | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 33                                                                       | ≥512                                | <8      | <8      |
| C. S. O. | 2            | F    | 23.4.72                  | —                     | 38                                                                       | 512                                 | <8      | 8       |
|          |              |      |                          |                       | 50                                                                       | 512                                 | <8      | 32      |
| F. G. G. | <1           | F    | 24.4.72                  | N                     | 9                                                                        | 32                                  | <8      | <8      |
| P. F. C. | <1           | M    | 28.4.72                  | —                     | 5                                                                        | 32                                  | <8      | <8      |
| E. M. S. | <1           | F    | 29.4.72                  | Polio 1               | 4                                                                        | 128                                 | 20      | <8      |
| M. E. B. | 1            | F    | 3.5.72                   | N                     | 8                                                                        | —                                   | —       | —       |
|          |              |      |                          |                       | 27                                                                       | 512                                 | <8      | <8      |
| J. P. A. | <1           | M    | 5.5.72                   | N                     | 6                                                                        | ≥512                                | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 25                                                                       | ≥512                                | <8      | <8      |
| M. R. S. | 1            | F    | 6.5.72                   | —                     | 17                                                                       | 512                                 | 128     | 32      |
|          |              |      |                          |                       | 37                                                                       | 512                                 | 128     | 32      |
| A. G. X. | 3            | F    | 10.5.72                  | —                     | 13                                                                       | 32                                  | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 20                                                                       | 128                                 | <8      | <8      |
| M. C. G. | 1            | M    | 13.5.72                  | I                     | 10                                                                       | ≥512                                | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 31                                                                       | ≥512                                | <8      | <8      |

| Doente   |                 |      | Data<br>do início<br>da doença | Tipo<br>de vírus<br>isolado | Soros<br>(Tempo decorrido<br>entre o início<br>da doença<br>e a data<br>da colheita) | Reacção de neutralização |         |         |
|----------|-----------------|------|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|---------|---------|
| Nome     | Idade<br>(anos) | Sexo |                                |                             |                                                                                      | Título*                  |         |         |
|          |                 |      |                                |                             |                                                                                      | Polio 1                  | Polio 2 | Polio 3 |
| A. J. T. | 5               | M    | 15.5.72                        | Polio 1                     | 16                                                                                   | 20                       | 32      | ≥512    |
| A. T. G. | <1              | F    | 20.5.72                        | —                           | 19                                                                                   | —                        | —       | —       |
|          |                 |      |                                |                             | 40                                                                                   | ≥512                     | <8      | <8      |
| M. J. N. | <1              | F    | 20.5.72                        | —                           | 11                                                                                   | —                        | —       | —       |
| M. G. M. | 2               | F    | 21.5.72                        | Polio 1                     | 11                                                                                   | 128                      | 20      | 80      |
|          |                 |      |                                |                             | 28                                                                                   | 128                      | 20      | 80      |
| A. F. N. | <1              | F    | 22.5.72                        | —                           | 9                                                                                    | —                        | —       | —       |
|          |                 |      |                                |                             | 28                                                                                   | 128                      | 128     | 8       |
| R. S. S. | <1              | F    | 24.5.72                        | —                           | 15                                                                                   | ≥512                     | <8      | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 36                                                                                   | ≥512                     | <8      | <8      |
| M. J. A. | 2               | F    | 24.5.72                        | —                           | 7                                                                                    | <8                       | 8       | <8      |
| M. F. A. | <1              | F    | 24.5.72                        | N                           | 35                                                                                   | 128                      | <8      | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 58                                                                                   | 320                      | <8      | <8      |
| J. F. S. | 2               | M    | 26.5.72                        | —                           | 5                                                                                    | 8                        | 8       | 8       |
|          |                 |      |                                |                             | 24                                                                                   | 512                      | 8       | 8       |
| M. N. B. | 3               | F    | 27.5.72                        | —                           | 4                                                                                    | ≥512                     | 32      | 64      |
|          |                 |      |                                |                             | 25                                                                                   | ≥512                     | 32      | 64      |
| A. A. J. | <1              | M    | 28.5.72                        | —                           | 32                                                                                   | 512                      | <8      | <8      |
| J. G. F. | <1              | M    | 28.5.72                        | —                           | 11                                                                                   | ≥512                     | <8      | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 32                                                                                   | ≥512                     | <8      | <8      |
| P. C. S. | 1               | M    | 29.5.72                        | —                           | 10                                                                                   | ≥512                     | <8      | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 31                                                                                   | ≥512                     | <8      | <8      |
| L. F. O. | 1               | F    | 1.6.72                         | —                           | 7                                                                                    | —                        | —       | —       |
| S. N. A. | 2               | F    | 2.6.72                         | Adeno<br>Tipo 5             | 28                                                                                   | —                        | —       | —       |
|          |                 |      |                                |                             | 6                                                                                    | ≥512                     | 8       | <8      |
| C. A. G. | 1               | F    | 4.6.72                         | —                           | 27                                                                                   | ≥512                     | 8       | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 15                                                                                   | ≥512                     | 8       | <8      |
| J. G. P. | <1              | M    | 5.6.72                         | —                           | 36                                                                                   | ≥512                     | 8       | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 14                                                                                   | ≥512                     | 8       | <8      |
| M. S. R. | 3               | F    | 5.6.72                         | —                           | 35                                                                                   | ≥512                     | 8       | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 14                                                                                   | 512                      | ≥512    | 32      |
| Z. N. S. | 1               | F    | 5.6.72                         | N                           | 35                                                                                   | 512                      | ≥512    | 32      |
|          |                 |      |                                |                             | 14                                                                                   | ≥512                     | <8      | <8      |
| J. C. M. | 1               | M    | 6.6.72                         | I                           | 35                                                                                   | ≥512                     | <8      | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 13                                                                                   | ≥512                     | <8      | <8      |
| J. L. S. | 1               | M    | 8.6.72                         | N                           | 35                                                                                   | ≥512                     | <8      | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 11                                                                                   | ≥512                     | ≥512    | <8      |
| M. S. P. | 2               | F    | 9.6.72                         | Polio 1                     | 51                                                                                   | ≥512                     | ≥512    | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 10                                                                                   | 20                       | 8       | <8      |
| M. G. C. | 2               | F    | 9.6.72                         | N                           | 31                                                                                   | 128                      | 8       | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 10                                                                                   | 128                      | <8      | 512     |
| M. F. F. | 1               | F    | 10.6.72                        | N                           | 31                                                                                   | 128                      | <8      | 512     |
|          |                 |      |                                |                             | 9                                                                                    | 128                      | <8      | <8      |
| R. M. C. | 1               | F    | 11.6.72                        | —                           | 30                                                                                   | 128                      | <8      | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 8                                                                                    | 128                      | <8      | <8      |
| S. J. R. | 1               | F    | 13.6.72                        | Polio 1                     | 29                                                                                   | 128                      | <8      | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 6                                                                                    | 80                       | 8       | 320     |
| M. S. C. | 1               | F    | 16.6.72                        | Adeno<br>Tipo 7             | —                                                                                    | —                        | —       | —       |
|          |                 |      |                                |                             | 3                                                                                    | 512                      | 8       | 8       |
| M. A. R. | <1              | M    | 16.6.72                        | N                           | 24                                                                                   | 512                      | 8       | 8       |
|          |                 |      |                                |                             | 3                                                                                    | 128                      | <8      | <8      |
| M. J. F. | 1               | F    | 19.6.72                        | N                           | 24                                                                                   | 128                      | <8      | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 13                                                                                   | —                        | —       | —       |
| P. S. A. | 1               | M    | 20.6.72                        | N                           | 31                                                                                   | 320                      | <8      | <8      |
|          |                 |      |                                |                             | 8                                                                                    | 160                      | <16     | <16     |
|          |                 |      |                                |                             | 30                                                                                   | —                        | —       | —       |

| Doente   |              |      | Data do início da doença | Tipo de vírus isolado | Soros (Tempo decorrido entre o início da doença e a data da colheita) | Reacção de neutralização |         |         |
|----------|--------------|------|--------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------|---------|---------|
| Nome     | Idade (anos) | Sexo |                          |                       |                                                                       | Título*                  |         |         |
|          |              |      |                          |                       |                                                                       | Polio 1                  | Polio 2 | Polio 3 |
| E. S. A. | 1            | M    | 26.6.72                  | N                     | 14                                                                    | 128                      | 8       | 8       |
|          |              |      |                          |                       | 35                                                                    | —                        | —       | —       |
| M. S. C. | 2            | M    | 27.6.72                  | Polio 1               | 13                                                                    | 512                      | 80      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 34                                                                    | —                        | —       | —       |
| F. M. G. | <1           | M    | 28.6.72                  | I                     | 12                                                                    | 80                       | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 21                                                                    | 80                       | <8      | <8      |
| D. M. F. | 2            | M    | 29.6.72                  | N                     | 21                                                                    | 128                      | ≥512    | 128     |
|          |              |      |                          |                       | 40                                                                    | 128                      | 512     | 128     |
| M. C. A. | 1            | F    | 3.7.72                   | Polio 1               | 13                                                                    | 128                      | 8       | ≥512    |
|          |              |      |                          |                       | 36                                                                    | 128                      | 8       | ≥512    |
| R. S. J. | 3            | M    | 3.7.72                   | Polio 1               | 17                                                                    | 128                      | 8       | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 36                                                                    | —                        | —       | —       |
| M. A. B. | 1            | F    | 5.7.72                   | —                     | 15                                                                    | 320                      | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 34                                                                    | 320                      | <8      | <8      |
| M. A. M. | 3            | F    | 7.7.72                   | N                     | 24                                                                    | 320                      | <8      | 80      |
|          |              |      |                          |                       | 46                                                                    | 512                      | <8      | 80      |
| E. F. R. | <1           | F    | 10.7.72                  | N                     | 10                                                                    | 128                      | 8       | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 29                                                                    | ≥512                     | 8       | <8      |
| A. C. F. | <1           | F    | 11.7.72                  | I                     | 8                                                                     | —                        | —       | —       |
|          |              |      |                          |                       | 28                                                                    | —                        | —       | —       |
| J. F. G. | <1           | M    | 13.7.72                  | —                     | 6                                                                     | 320                      | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 26                                                                    | 512                      | <8      | <8      |
| R. S. Q. | 2            | M    | 19.7.72                  | Polio 1               | 13                                                                    | ≥512                     | <8      | 32      |
|          |              |      |                          |                       | 34                                                                    | ≥512                     | <8      | 32      |
| M. F. J. | 2            | F    | 22.7.72                  | Polio 1               | 10                                                                    | 32                       | 20      | ≥512    |
|          |              |      |                          |                       | 30                                                                    | 80                       | 20      | ≥512    |
| A. C. B. | 1            | M    | 23.7.72                  | I                     | 9                                                                     | 512                      | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 30                                                                    | ≥512                     | <8      | <8      |
| T. F. A. | 3            | F    | 23.7.72                  | Polio 1               | 9                                                                     | 20                       | 20      | 80      |
|          |              |      |                          |                       | 30                                                                    | 20                       | 20      | 80      |
| A. S. G. | 1            | M    | 30.7.72                  | N                     | 15                                                                    | 32                       | 8       | <8      |
|          |              |      |                          |                       | 31                                                                    | 512                      | 8       | <8      |
| N. P. J. | 1            | M    | ?                        | —                     | ?                                                                     | 128                      | <8      | <8      |
|          |              |      |                          |                       | ?                                                                     | 512                      | <8      | <8      |
| J. A. G. | 3            | M    | ?                        | N                     | ?                                                                     | 128                      | 32      | 128     |
|          |              |      |                          |                       | —                                                                     | —                        | —       | —       |

\* Título — Recíproca da mais alta diluição do soro em que se observa 50% de neutralização

I Estirpe de vírus inclassificável

N Resultado negativo

No quadro 1 indicam-se, além dos dados de identificação do doente, idade e sexo e a data de início da doença, os produtos recebidos de cada doente e os resultados dos exames efectuados e, no caso dos soros, sempre que possível, o intervalo de tempo, em dias, decorrido entre o início da doença e a colheita do sangue ou, no caso desta não ser conhecida, o intervalo decorrido entre a data do início da doença e a data da chegada do produto ao laboratório.

No quadro 2 indicamos por um lado, a percentagem de positivities em relação ao

número total de amostras de fezes e considerando todos os tipos de vírus isolados e, por outro lado, a percentagem de isolamento de vírus de polio e inclassificáveis, considerando os doentes de que se receberam amostras de fezes, não tendo em conta os casos raros em que se recebeu mais do que uma amostra de fezes do mesmo doente. Isolaram-se 17 estirpes de vírus da polio tipo 1 e 2 estirpes de vírus tipo 3. Pela análise do quadro 2 pode-se verificar que a percentagem de 36,5% de isolamento positivos, no caso de vírus polio, é inferior aos 80-90% referidos atrás e até aos 50-60% que se costumam obter em indi-

QUADRO 2

## Tipo e percentagens de vírus isolados

|                                                             |       |       |
|-------------------------------------------------------------|-------|-------|
| 1. NÚMERO DE FEZES ANALISADAS                               | 60    |       |
| N.º de positivas (polio e outros)                           | 34    |       |
| N. de negativas                                             | 26    |       |
| Percentagem de positivities                                 |       | 56%   |
| 2. NÚMERO DE DOENTES EM QUE SE TENTOU O ISOLAMENTO DE VÍRUS | 52    |       |
| 3. TIPO DE VÍRUS ISOLADOS — NÚMERO E PERCENTAGEM            |       |       |
| Polio 1                                                     | 16    | 36,5% |
| Polio 2                                                     | 0     |       |
| Polio 3                                                     | 1     |       |
| Polio 1 + 3                                                 | 1 (2) |       |
| Adenovírus                                                  | 3     |       |
| Inclassificáveis                                            | 8     | 15,3% |
| Polio + Inclassificáveis                                    | 27    | 51,9% |

víduos hospitalizados. A percentagem de cerca de 50% (51,9%) é obtida se se considerar que os vírus «inclassificáveis» também poderão ser vírus polio, tipo 1 ou outros. Admitimos que a percentagem baixa de isolamentos se deva, por um lado, a inclusão de casos de doença que não seriam poliomielite e, por outro, ao facto de as amostras de fezes terem sido colhidas, regra geral, tardiamente em relação ao início da doença (19,8 dias em média). Dado que a eliminação do vírus é intermitente, a percentagem de isolamento teria sido maior se tivessem sido enviadas mais do que uma amostra de cada doente, colhidas em dias diferentes. No entanto, só de 4 doentes obtivemos 2 amostras e, num 5.º caso, 6 amostras.

Com a reacção de neutralização só em 13 casos obtivemos uma nítida subida do título de anticorpos, o que se deve ao facto de os soros, na sua maioria, terem sido colhidos tardiamente, como se pode verificar pela análise do quadro 1. Por esta razão adoptámos o critério de aceitarmos como confirmados laboratorialmente os casos de doença em que houve

subida do título de anticorpos, mesmo pequena, e aqueles que, mesmo sem subida, apresentavam um título alto, igual ou superior a 1/512.

## IV — CONCLUSÕES

O surto de poliomielite que ocorreu de Março a Julho de 1972 na ilha da Madeira foi um acontecimento inusitado na história natural da doença, naquela ilha. Com efeito a poliomielite nunca constituiu um problema de Saúde Pública nesta ilha sendo poucos os casos de forma paralítica e de óbitos, como se pode apreciar pela análise do quadro 3.

O surto descrito pode atribuir-se a uma de várias causas ou ao seu somatório. A que nos parece mais plausível é a de ter sido deficiente a vacinação e consequentemente a imunização dos indivíduos susceptíveis. A vacinação antipoliomielítica, como indicámos, foi iniciada na ilha da Madeira em 1959. No entanto, embora seja feita de acordo com um esquema que, em princípio, poderá assegurar

**QUADRO 3**  
**Número de casos e óbitos de Poliomielite**  
 Continente e Ilhas — 1960 a 1971

| Anos | Continente |        | Ilhas<br>Açores e Madeira |        | Ilha da Madeira |        | Total |        |
|------|------------|--------|---------------------------|--------|-----------------|--------|-------|--------|
|      | Casos      | Óbitos | Casos                     | Óbitos | Casos           | Óbitos | Casos | Óbitos |
| 1960 | 244        | 28     | 14                        | 3      | —               | —      | 258   | 31     |
| 1961 | 244        | 21     | 14                        | 1      | —               | —      | 258   | 22     |
| 1962 | 386        | 48     | 5                         | 1      | 1               | 1      | 391   | 49     |
| 1963 | 218        | 29     | 1                         | —      | —               | —      | 219   | 29     |
| 1964 | 236        | 39     | 47                        | —      | —               | —      | 283   | 39     |
| 1965 | 292        | 28     | 5                         | 2      | 3               | 1      | 297   | 30     |
| 1966 | 13         | 4      | —                         | —      | —               | —      | 13    | 4      |
| 1967 | 6          | 2      | —                         | —      | —               | —      | 6     | 2      |
| 1968 | 16         | 4      | 5                         | —      | 5               | —      | 21    | 4      |
| 1969 | 7          | 1      | —                         | —      | —               | —      | 7     | 1      |
| 1970 | 12         | 2      | 3                         | —      | 1               | —      | 15    | 2      |
| 1971 | 5          | —      | 1                         | —      | 1               | —      | 6     | 0      |

a imunização de quase toda a população susceptível, na realidade esse grau de protecção pode ser difícil de conseguir. A população da ilha da Madeira, de 265 000 habitantes, está em grande parte dispersa por pequenas aldeias e casas isoladas, muitas vezes em locais de difícil acesso e é pouco educada, do ponto de vista sanitário. Nem sempre é fácil às equipas de vacinação procurarem os susceptíveis, nem estes são levados, sem sacrifício, aos postos de vacinação. Assim, muito provavelmente foram-se acumulando os susceptíveis, o que facilitou a difusão da doença. Também uma vacinação, mesmo incompleta, leva a uma diminuição da difusão dos vírus na comunidade, donde uma consequente diminuição do número de infecções inaparentes que normalmente se faria a coberto de anticorpos maternos, transmitidos passivamente.

Podemos também admitir que a vacina sofra perda do seu poder antigénico quer no seu transporte para a ilha, quer mais tarde, na

ilha uma vez aberta, quando da sua administração. No entanto, não se apurou qualquer falha nas condições de transporte, conservação e administração. Também os exames das amostras de vacina, a que se procedeu no decurso do surto, não permitem tirar conclusões seguras a este respeito: terão de ser continuadas no futuro.

Podemos também invocar razões climáticas, como foi apontado numa Crónica da O. M. S.

A ilha da Madeira tem um clima privilegiado, praticamente sem Inverno, com características de região subtropical talvez pela sua proximidade do Continente Africano. Algumas revistas médicas têm apontado o facto de em países tropicais e subtropicais se verificar o fenómeno da interferência de vírus entéricos, não poliomielíticos, com os vírus da vacina oral, viva, atenuada, trivalente, o que prejudica a acção imunizante da mesma. Um exame serológico de uma amostra representativa da popu-



lação poderá elucidar quanto ao nível de protecção obtido pela vacinação.

Podemos também admitir a introdução de um vírus selvagem, altamente patogénico, na ilha. Não podemos esquecer que a Madeira recebe anualmente a visita de milhares de pessoas entre as quais emigrantes e seus familiares, oriundos de países onde a doença pode ser endémica.

Admitida como causa principal a deficiente imunização, é necessário acentuar a necessidade de se conseguir que a vacinação se torne eficiente na prática como o é em teoria e de que, a intervalos curtos, de menos de 5 anos, se façam inquéritos serológicos na ilha da Madeira em amostras representativas da população infantil. Só assim, os Serviços de Saúde poderão ter elementos que lhes permitam prever e consequentemente evitar, surtos como o que descrevemos.

## RESUMO

O presente trabalho refere-se a um surto de poliomielite na população infantil da ilha da Madeira que atingiu várias crianças entre os 0 e os 5 anos de idade, 85 das quais foram hospitalizadas sofrendo ou de forma não parálitica da doença ou de forma parálitica com parésia ou paralisias de 1 ou 2 membros. A taxa de letalidade foi alta. A vacinação na ilha da Madeira, foi iniciada em 1959 com vacina tipo Salk e continuada, a partir de 1966, com vacina tipo Sabin. No entanto, por razões da grande dispersão da população em locais de difícil acesso, a vacinação é difícil e consequentemente é baixa a percentagem de indivíduos imunizados. Esta razão poderá explicar o surto epidémico que se verificou. A doença foi confirmada laboratorialmente quer pelo isolamento do agente (vírus da poliomielite, tipo 1) quer por pesquisa de anticorpos neutralizantes.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bodian, D., Horstmann, M. D. — Poliovirus. In: Viral and Rickettsial Infection of Man. F. L. Horsfall e I. Tamn (Ed.) 4.ª ed., Pitman Medical Publishing Co, Ltd, London, 1965.
2. Chumakov, M. P., Voroshilova, M. K. — The present Status of poliovirus immunization in the USSR. First International Conference on Vaccine against viral and rickettsial diseases of man. Scientific publication N. 147, Pan American Health Organization 190-197, 1967.
3. Fossaert, H. C. — Control Immunológico de la poliomielitis. Experiencia in Venezuela. Bull. Sanit. Panam, 72, 98-111 1972.
4. Melnick, L. J. Wernner, A. H. — Enterovirus. In: Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Infections. Lennette e Schmidt (Ed.) — 4.ª ed., Amer. Publ. Hlth. Ass. New York, 1969.
5. Roedenbeck, S. — Conceptos actuales sobre la poliomielitis. *Rev. Viernes Med.* 22, 238-245, 1971.
6. W. H. O. Chronicle. Poliomielitis in the world. 24, 317-320, 1970.

## CARACTERÍSTICAS HIGIÉNICAS MICROBIOLÓGICAS DOS GELADOS À VENDA EM LISBOA

A. França e Silva<sup>2</sup>  
Ricardina Dantas<sup>1</sup>

### ABSTRACT

*This study is based on the microbiological analysis of two hundred samples of ice-cream and "soft ice-cream", manufactured in and round about Lisbon, in large and small factories. The analysis especially concerns the germs which are bacteriological indicators of the hygienic quality of the product. The results obtained are commented on, and some conclusions about its bacteriological qualities are drawn.*

### INTRODUÇÃO

O consumo de gelados em Portugal atinge alguns milhares de toneladas, o que, para um alimento complementar, é já importante.

Nos últimos anos a sua produção tem aumentado, tornando-se predominantemente industrial e é, em grande parte, consumida pelas camadas mais jovens da população.

Partindo destas bases, o conhecimento das características microbiológicas dos diferentes tipos de gelados existentes no mercado nacional apresenta-se como uma necessidade, tendo em vista a saúde pública.

Essencialmente, este estudo visa os seguintes objectivos:

1 — contribuir para um melhor conhecimento da qualidade microbiológica dos gelados nacionais;

2 — dar uma contribuição para o possível estudo de futuras normas de qualidade microbiológica aplicáveis aos gelados;

3 — alertar os responsáveis pelo fabrico para a necessidade da obtenção de gelados de boa qualidade higiénica e sanitária.

Na sua execução, apenas se analisaram gelados provenientes da região de Lisboa, o que, sendo uma limitação, não impediu que se tenha obtido uma ideia de conjunto da qualidade e características microbiológicas dos gelados nacionais, visto Lisboa ser o principal centro produtor e consumidor. Aqui se encontram as maiores unidades industriais e há, também, uma importante produção de gelados de tipo artesanal e de tipo semi-frio (*soft-ice cream*).

Segundo dados relativos a 1971, o mercado nacional dos gelados distribuiu-se como se mostra no quadro n.º 1.

<sup>1</sup> Técnico especialista, Laboratório de Bacteriologia, Instituto Nacional de Saúde — Lisboa.

<sup>2</sup> Assistente, Laboratório de Bacteriologia, Instituto Nacional de Saúde — Lisboa.

**QUADRO N.º 1**

|                     | Produção<br>(em litros) | % do<br>mercado |
|---------------------|-------------------------|-----------------|
| Gelados industriais | 2 198 000               | 82,4            |
| Gelados artesanais  | 125 000                 | 2,8             |
| Gelados semi-frios  | 450 000                 | 14,8            |

O consumo «per capita» cifrou-se em 0,3 litros, no mesmo ano.

Destes números, concluiu-se que a maior parte dos gelados fabricados no país são industriais, seguindo-se em ordem de importância a produção de gelados semi-frios e por último a de gelados artesanais.

## MATERIAL E MÉTODOS

A execução laboratorial deste estudo iniciou-se em Março de 1972 e terminou em Novembro do mesmo ano, abrangendo um período de nove meses, e consistiu na análise microbiológica de duzentas amostras de gelados, segundo o protocolo a seguir descrito.

Em quadro (N.º 2), indica-se o esquema mensal das análises efectuadas. Para a sua apreciação, salienta-se que os gelados, quer em quantidade, quer no que se refere aos diferentes tipos, não são fabricados de um modo uniforme ao longo do ano.

**QUADRO N.º 2**

### Esquema mensal das análises efectuadas

|          | Gelados<br>industriais | Gelados<br>de pequena<br>indus. e<br>artesanais | Gelados<br>semi-frios | Total |
|----------|------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------|-------|
| Março    | 13                     | —                                               | 1                     | 14    |
| Abril    | 11                     | 10                                              | 2                     | 23    |
| Maio     | 9                      | 17                                              | 1                     | 27    |
| Junho    | 4                      | 13                                              | 1                     | 18    |
| Julho    | 11                     | 9                                               | —                     | 20    |
| Agosto   | 16                     | 17                                              | —                     | 33    |
| Setembro | 4                      | —                                               | 19                    | 23    |
| Outubro  | 10                     | 7                                               | 5                     | 22    |
| Novembro | —                      | 4                                               | 16                    | 20    |
| Total    | 78                     | 76                                              | 46                    | 200   |

A principal época de produção corresponde aos meses de temperatura mais elevada, diminuindo consideravelmente nos outros meses ou mesmo cessando para a maior parte dos fabricantes.

Esta particularidade impede a análise simultânea de um número aproximadamente igual de amostras dos diferentes tipos de gelado, em cada um dos meses do ano.

Das duzentas análises efectuadas, 78 foram de gelados industriais, 76 de gelados artesanais ou de pequena indústria (empresas de fraca produção e sem acesso à maquinaria e tecnologia de grande indústria) e 46 de gelado semi-frio, fabricado em máquinas apropriadas, dispersas por inúmeros estabelecimentos, a partir de matérias-primas desidratadas e depois reconstituídas.

### Colheita do material para análise

Os artesanais e semi-frios foram adquiridos em fábricas ou em postos de venda, nas suas próprias embalagens.

Os artesanais e semi-frios foram adquiridos em numerosos locais de produção e venda ao público, nas suas embalagens de origem ou em frascos de vidro de boca larga, esterilizados.

Todas as amostras foram transportadas em caixas isotérmicas, a baixa temperatura, para o laboratório, e aí mantidas em conservador frigorífico, semelhante aos utilizados no circuito comercial dos gelados industriais, até ao momento de serem analisadas.

### Análise

A abertura das embalagens fez-se em câmara estéril, transferindo-se a massa do gelado para balões de vidro de boca larga, esterilizados, e com rolha de borracha de dupla tubuladura.

No caso dos gelados industriais de «stick», a pega de madeira foi sempre cortada com tesoura esterilizada ao nível da massa do gelado, sendo rejeitada.

Esta massa, após fusão rápida em banho-maria à temperatura de cerca de 40° C, foi submetida a duas operações:

a) degaseificação, feita em sistema de vácuo e em condições de esterilidade;

b) determinação de pH e sua neutralização quando necessário.

Terminadas estas operações, tinha início a análise propriamente dita, com a sementeira da massa liquefeita do gelado nos diferentes meios de cultura.

### Protocolo de análise

Para todos os gelados fizeram-se as seguintes pesquisas:

- pesquisa de *Salmonella*;
- pesquisa e contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva;
- pesquisa e contagem de enterococos;
- pesquisa e contagem de coliformes e *Escherichia coli*, com pesquisa de serotipos G. E. 1. \* entre as estirpes de *Escherichia coli* isoladas;
- pesquisa de *Clostridium*;
- contagem de germes mesófilos aeróbios «totais»;
- contagem de germes psicrófilos;
- contagem de leveduras e bolores.

#### Pesquisa de *Salmonella*

Esta pesquisa fez-se em 30 g da massa liquefeita do gelado, semeando-se 25 g em caldo de tetrationato de sódio (meio de Müller-Kauffmann) e 5 g em meio D.T.B. (Dextrose Triptose Broth), com a incubação de ambos os meios a 37° C, durante 24 horas.

Destes meios, procedeu-se, às 24 e às 48 horas, a isolamentos em meios sólidos de S. S. Agar (Difco) e Bismuth Sulphite Agar (Difco).

Do D.T.B., às 24 horas, passou-se cultura para caldo de selenito de sódio.

A incubação das placas de S. S. Agar fez-se durante 24 horas a 37° C, e as de Bismuth Sulphite Agar durante 48 horas à mesma temperatura.

O tubo com o caldo de selenito de sódio foi incubado em banho-maria a 43° C., durante 24 horas, procedendo-se então a isolamentos nos meios sólidos acima indicados e incubados do mesmo modo.

Feita a leitura das placas, repicaram-se para meio T.S.I. (Triple Sugar Iron) as colónias com características semelhantes às de *Salmonella* e, das culturas obtidas neste meio, procedeu-se a provas de identificação bioquímica e serológica, quando necessário.

#### Pesquisa e contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*

Utilizaram-se simultaneamente meios líquidos de enriquecimento e meios sólidos para isolamento directo, segundo as técnicas seguintes:

a) Enriquecimento — Semearam-se 5 g da massa liquefeita do gelado em 10 ml de meio

de Chapman de enriquecimento de dupla concentração, adicionando-se seguidamente ao meio 5 ml de água destilada estéril, e 1 g em meio de Chapman de enriquecimento de concentração simples.

Estes meios foram incubados a 37° C, durante 48 horas, procedendo-se, a partir de ambos, a isolamentos em meio sólido de Chapman manitado, também incubado a 37° C/48 horas.

Destas placas de meio sólido repicaram-se as colónias suspeitas para meios nutritivos simples, procedendo-se depois à pesquisa da coagulase, em plasma de coelho.

b) Isolamento e contagem em meios sólidos — Utilizaram-se os meios de Chapman manitado e de Baird-Parker, semeando-se em superfície, 0,1 ml da massa liquefeita do gelado não diluída e 0,1 ml de diferentes diluições decimais, fazendo-se a leitura após 24 e 48 horas de incubação a 37° C. As colónias suspeitas foram repicadas para meios nutritivos simples após contagem. Nas culturas obtidas fez-se a pesquisa da coagulase.

#### Pesquisa e contagem de *Enterococos*

Utilizaram-se meios de cultura líquidos — meio de Rothe e meio de Litsky — e um meio sólido selectivo para contagem em placa — meio de Stanetz — segundo o seguinte esquema:

##### A) Contagem em meios líquidos

Teste presuntivo —

Semearam-se:

10 ml de gelado liquefeito e não diluído em meio de Rothe de dupla concentração;

5 ml (2 ml, 2 ml, 1 ml) em meio de concentração simples;

1 ml de cada uma das diluições decimais, também em meio de Rothe de concentração simples. Todos os tubos foram incubados a 37° C durante 48 horas, procedendo-se então à sua leitura.

Teste confirmativo —

Passaram-se as culturas positivas para tubos com meio de Litsky que se incubaram a 37° C durante 48 horas. Consideraram-se positivos os tubos que apresentaram cultura, acompanhada de um precipitado de violeta de etilo.

\* Gastronterite infantil.

Dos tubos com cultura mas sem precipitado, foram feitos isolamentos em meio sólido para confirmação da presença de Enterococos.

#### B) Contagem em meio sólido

Utilizou-se o meio de Slanetz, em placa de Petri, com sementeira em superfície de 0,1 ml do gelado liquefeito e não diluído e de 0,1 ml das diferentes diluições decimais.

A incubação foi feita a 37° C, com leitura e contagem das colónias características às 48 horas. Estas colónias foram repicadas para meio de gelose sangue e estudadas bioquimicamente.

#### Pesquisa e contagem de coliformes e de *Escherichia coli*

Utilizaram-se duas técnicas; uma em meio líquido e outra em meio sólido.

#### A) Pesquisa e contagem em meio líquido

Utilizou-se o meio de verde brilhante, com tubo de Durham, que foi semeado segundo o seguinte esquema:

2 tubos com 2 ml da massa de gelado não diluída;

1 tubo com 1 ml da massa de gelado não diluída;

1 tubo com 1 ml de cada uma das diluições decimais.

A incubação fez-se a 37° C, com leitura às 48 horas, considerando-se a presença de coliformes como positiva nos tubos que apresentavam cultura e gás no tubo de Durham.

A pesquisa e contagem de *Escherichia coli* fez-se segundo a técnica de Mackenzie, semeando-se a partir de cada tubo de verde brilhante com cultura e gás, um novo tubo de verde brilhante e um de água peptonada, que se incubaram a 44° C  $\pm$  0,1° C em banho-maria durante 48 horas.

Consideraram-se positivos (presença de *Escherichia coli*) os testes que apresentaram simultaneamente cultura e gás no verde brilhante e indol na água peptonada, confirmando-se o resultado com isolamento em meio sólido (meio MacConkey) e identificação bioquímica.

#### B) Pesquisa e contagem em meio sólido

Utilizaram-se dois meios — MacConkey agar e Desoxicolato (coliformes) agar.

MacConkey agar — Sementeira em superfície de 0,1 ml do gelado liquefeito não diluído e de 0,1 ml da diluição 1/10, com incubação a

30° C e leitura e contagem às 24 horas. As colónias suspeitas foram repicadas para meio T. S. I., procedendo-se depois à sua identificação bioquímica.

Desoxicolato (coliformes) agar — Sementeira em profundidade, segundo a técnica da dupla camada, de 1 ml do gelado liquefeito não diluído e de 1 ml de diferentes diluições decimais, com incubação a 30° C, e contagem às 24 horas das colónias fermentadoras de lactose com, pelo menos, 0,5 mm de diâmetro.

Repetiram-se as leituras às 48 horas após reincubação a 30° C.

#### Pesquisa de *Clostridium*

Foi feita por sementeira de 1 ml do gelado liquefeito não diluído, sem tratamento térmico, e de 1 ml do mesmo gelado após aquecimento a 80° C/10 minutos, em meio de Rosenow regenerado, cobrindo-se depois os meios semeados com parafina fundida para impedir a penetração de oxigénio.

Dos tubos com cultura suspeita, que revelaram na coloração de Gram germes com características de *Clostridium*, fizeram-se isolamentos em meio V. L. sangue-agar, obtendo-se a anaerobiose nas placas pela técnica que utiliza o pirogalhol.

As placas foram incubadas a 37° C até ao aparecimento de colónias de *Clostridium*, que se repicaram para meio de Rosenow regenerado.

As estirpes puras assim obtidas foram identificadas bioquimicamente.

#### Contagem de germes mesófilos aeróbios «totais»

Utilizou-se o meio de T. G. E. A. (Difco) — tripton, glucose, extracto de levedura, agar — semeando-se, para cada gelado, 1 ml da massa liquefeita não diluída e 1 ml de diferentes diluições decimais (até 10<sup>7</sup>), em profundidade, e pela técnica da dupla camada com gelose branca.

A incubação foi feita a 30° C, com a contagem às 72 horas.

#### Contagem de germes psicrófilos

Tal como para a contagem de mesófilos, utilizou-se o meio T. G. E. A. (Difco) em placa, semeando-se, em superfície, 0,1 ml de gelado liquefeito não diluído e 0,1 ml de diferentes diluições decimais (até 10<sup>7</sup>). A contagem fez-se aos 14 dias, após incubação a 10° C.

### *Pesquisa e contagem de leveduras e bolores*

Utilizaram-se os meios Potato Dextrose Agar-PDA (Difco) e Malte Agar (Difco) em placa de Petri.

De cada meio semearam-se em superfície, duas placas com 0,2 ml e uma com 0,1 ml da massa de gelado não diluída (total 0,5 ml).

Procedeu-se à incubação a 22° C, com a leitura e contagem aos 5 dias.

Para gelados muito ricos em leveduras, semearam-se também em PDA 1 ml de diferentes diluições decimais do gelado liquefeito.

## RESULTADOS

No quadro n.º 3 encontram-se expressos os resultados obtidos na análise das 78 amostras de gelados industriais. Individualizaram-se os resultados obtidos para:

— *Gelados de água e sabor a fruta* com pega de madeira («stick») e embalados em papel;

— *gelados de leite*, de composição mais ou menos complexa, com cobertura de chocolate e pega de madeira («stick»), com embalagem de papel;

— *gelados à base de leite*, (*ice-cream*) de composição mais ou menos complexa e embalados em copos de plástico, papel ou folha-de-Flandres;

com a finalidade de se obter uma fácil comparação dos resultados encontrados para cada um destes três tipos de gelado industrial.

A percentagem de resultados positivos na pesquisa de coliformes foi menor nos gelados de água (41,2%) do que nos *ice-cream* (60,9%) e *ice-cream* com cobertura de chocolate (86,8%), sendo de salientar este último valor.

A positividade na pesquisa de *Escherichia coli* não acompanha a frequência da presença de coliformes. Assim, apenas se isolou *Escherichia coli* em 8,7% dos *ice-cream*, seguindo-se os *ice-cream* com cobertura de chocolate (21,1%) e por fim os gelados de água (23,5%).

Como se vê, o isolamento de *Escherichia coli* foi proporcionalmente mais frequente nos

gelados de água do que nos restantes tipos de gelado industrial, sendo mínimo nos *ice-cream*.

Isolaram-se Enterococos num número muito elevado de amostras, com 97,4% de isolamentos nos gelados *ice-cream* com cobertura de chocolate, 87% nos *ice-cream* e em menor percentagem nos gelados de água (41,2%).

É curioso salientar que esta última percentagem é igual à encontrada para o isolamento de coliformes nos mesmos gelados.

Apenas se isolaram *Staphylococcus coagulase* positiva em duas amostras de gelados industriais, sendo ambas de *ice-cream* com cobertura de chocolate.

A pesquisa de *Salmonella* e *Clostridium* foi negativa em todas as amostras analisadas.

A pesquisa de mesófilos foi negativa em 1 g numa amostra de gelado de água.

Comparando o valor médio das contagens dos resultados positivos de mesófilos encontram-se grandes diferenças entre os três tipos de gelados industriais.

O valor mais baixo pertenceu aos gelados de água com cerca de 4000 col/g em média, seguindo-se os gelados «ice-cream» com aproximadamente 30 000 col/g, e, por último, os «ice-cream» com cobertura de chocolate, com uma média de 277 000 col/g.

A pesquisa de psicrófilos revelou-se negativa em 52,9% das amostras de gelado de água. O valor médio das contagens dos resultados positivos mostra diferenças importantes, em relação aos três tipos de gelados industriais.

O número médio mais baixo pertenceu aos gelados de água com aproximadamente 11 700 col/g; seguindo-se em ordem crescente os gelados com cobertura de chocolate, com cerca de 260 000 col/g e os «ice-cream» com cerca de 400 000 col/g.

Enquanto nos gelados de água e gelados com cobertura de chocolate as contagens de mesófilos e psicrófilos foram da mesma ordem de grandeza, para os «ice-cream» verificou-se a presença de germes psicrófilos em número muito superior ao de mesófilos: 399 000 e 30 000 col/g respectivamente.

Na pesquisa de leveduras e bolores verificou-se que os três tipos de gelados industriais apresentaram uma certa percentagem de resultados negativos:

## QUADRO N.º 3

## Resultados das análises de gelados industriais

|                                   | Gelados de água «Stick»              |      |           |      | «Ice-cream» com cobertura de chocolate «Stick» |      |           |      | «Ice-cream»                          |      |           |      | Resultados do conjunto de todos os gelados industriais |      |           |      |
|-----------------------------------|--------------------------------------|------|-----------|------|------------------------------------------------|------|-----------|------|--------------------------------------|------|-----------|------|--------------------------------------------------------|------|-----------|------|
|                                   | Em 17 amostras                       |      |           |      | Em 38 amostras                                 |      |           |      | Em 23 amostras                       |      |           |      | Em 78 amostras                                         |      |           |      |
|                                   | Positivos                            | %    | Negativos | %    | Positivos                                      | %    | Negativos | %    | Positivos                            | %    | Negativos | %    | Positivos                                              | %    | Negativos | %    |
| Salmonella                        | —                                    | —    | 17        | 100  | —                                              | —    | 38        | 100  | —                                    | —    | 23        | 100  | —                                                      | —    | 78        | 100  |
| Staphylococcus coagulase positivo | —                                    | —    | 17        | 100  | 2                                              | 5,3  | 36        | 94,7 | —                                    | —    | 23        | 100  | 2                                                      | 2,6  | 76        | 97,4 |
| Enterococos                       | 7                                    | 41,2 | 10        | 58,8 | 37                                             | 97,4 | 1         | 2,6  | 20                                   | 87   | 3         | 13   | 64                                                     | 82,1 | 14        | 17,9 |
| Coliformes                        | 7                                    | 41,2 | 10        | 58,8 | 33                                             | 86,8 | 5         | 13,2 | 14                                   | 60,9 | 9         | 39,1 | 54                                                     | 69,2 | 24        | 30,8 |
| Escherichia coli                  | 4                                    | 23,5 | 13        | 76,5 | 8                                              | 21,1 | 30        | 79   | 2                                    | 8,7  | 21        | 91,3 | 14                                                     | 17,9 | 64        | 82,1 |
| Clostridium Spp                   | —                                    | —    | 17        | 100  | —                                              | —    | 38        | 100  | —                                    | —    | 23        | 100  | —                                                      | —    | 78        | 100  |
| Mesófilos aeróbios «totais»       | 16                                   | 94,1 | 1         | 5,9  | 38                                             | 100  | —         | —    | 23                                   | 100  | —         | —    | 77                                                     | 98,7 | 1         | 1,3  |
|                                   | Valor médio dos resultados positivos |      |           |      | Valor médio dos resultados positivos           |      |           |      | Valor médio dos resultados positivos |      |           |      | Valor médio dos resultados positivos                   |      |           |      |
|                                   | ± 4000                               |      |           |      | ± 277 000                                      |      |           |      | ± 30 000                             |      |           |      | ± 148 200                                              |      |           |      |
| Psicrófilos                       | 8                                    | 47   | 9         | 52,9 | 38                                             | 100  | —         | —    | 23                                   | 100  | —         | —    | 69                                                     | 88,5 | 9         | 11,5 |
|                                   | Valor médio dos resultados positivos |      |           |      | Valor médio dos resultados positivos           |      |           |      | Valor médio dos resultados positivos |      |           |      | Valor médio dos resultados positivos                   |      |           |      |
|                                   | ± 11 690                             |      |           |      | ± 259 900                                      |      |           |      | ± 399 000                            |      |           |      | ± 276 500                                              |      |           |      |
| Leveduras e bolores               | 11                                   | 64,7 | 6         | 35,3 | 34                                             | 89,5 | 4         | 10,5 | 17                                   | 73,9 | 6         | 26,1 | 62                                                     | 79,5 | 16        | 20,5 |
|                                   | Valor médio dos resultados positivos |      |           |      | Valor médio dos resultados positivos           |      |           |      | Valor médio dos resultados positivos |      |           |      | Valor médio dos resultados positivos                   |      |           |      |
|                                   | ± 106                                |      |           |      | ± 123                                          |      |           |      | ± 163                                |      |           |      | ± 131                                                  |      |           |      |

Gelados de água, 35% de negatividade;  
Gelados de «ice-cream», 26% de negatividade;

Gelados com cobertura de chocolate, 10,5% de negatividade.

O valor médio das contagens dos resultados positivos foi muito aproximado para os três tipos de gelados industriais, sendo para todos eles compreendido entre 100 e 200 colónias/g. No entanto a presença destes germes foi menos frequente nos gelados de água (64,7%) e mais frequente (90% das amostras) nos gelados com cobertura de chocolate.

Nos quadros n.ºs 4 e 5 apresentam-se os resultados obtidos na análise das 76 amostras de gelados artesanais e de pequena indústria e das 46 amostras de semi-frios.

**QUADRO N.º 4**

**Resultados das análises de gelados artesanais e de pequena indústria**

|                                   | Em 76 amostras<br>Resultados totais  |      |           |      |
|-----------------------------------|--------------------------------------|------|-----------|------|
|                                   | Positivos                            | %    | Negativos | %    |
| Salmonella                        | —                                    | —    | 76        | 100  |
| Staphylococcus coagulase positivo | 18                                   | 23,7 | 58        | 76,3 |
| Enterococos                       | 74                                   | 97,4 | 2         | 2,6  |
| Coliformes                        | 65                                   | 85,5 | 11        | 14,5 |
| Escherichia coli                  | 24                                   | 31,6 | 52        | 68,4 |
| Clostridium spp.                  | 6                                    | 7,9  | 70        | 92,1 |
| Mesófilos aeróbios totais         | 76                                   | 100  | —         | —    |
|                                   | Valor médio dos resultados positivos |      |           |      |
|                                   | ± 15 930 000                         |      |           |      |
| Psicrófilos                       | 76                                   | 100  | —         | —    |
|                                   | Valor médio dos resultados positivos |      |           |      |
|                                   | ± 26 621 000                         |      |           |      |
| Leveduras e bolores               | 75                                   | 98,7 | 1         | 1,3  |
|                                   | Valor médio dos resultados positivos |      |           |      |
|                                   | > 3900                               |      |           |      |

**QUADRO N.º 5**

**Resultados das análises de gelados semi-frios**

|                                   | Em 46 amostras<br>Resultados totais  |      |           |      |
|-----------------------------------|--------------------------------------|------|-----------|------|
|                                   | Positivos                            | %    | Negativos | %    |
| Salmonella                        | —                                    | —    | 46        | 100  |
| Staphylococcus coagulase positivo | 9                                    | 19,6 | 37        | 80,4 |
| Enterococos                       | 46                                   | 100  | —         | —    |
| Coliformes                        | 43                                   | 93,5 | 3         | 6,5  |
| Escherichia coli                  | 10                                   | 21,7 | 36        | 78,3 |
| Clostridium spp.                  | —                                    | —    | 46        | 100  |
| Mesófilos aeróbios totais         | 46                                   | 100  | —         | —    |
|                                   | Valor médio dos resultados positivos |      |           |      |
|                                   | ± 9 266 000                          |      |           |      |
| Psicrófilos                       | 46                                   | 100  | —         | —    |
|                                   | Valor médio dos resultados positivos |      |           |      |
|                                   | ± 11 947 600                         |      |           |      |
| Leveduras e bolores               | 46                                   | 100  | —         | —    |
|                                   | Valor médio dos resultados positivos |      |           |      |
|                                   | > 30 700                             |      |           |      |

**APRECIACÃO DOS RESULTADOS RELATIVOS A CADA PESQUISA**

**SALMONELLA** — Apesar de em nenhuma das amostras se ter isolado Salmonella, a presença frequente de germes indicadores de contaminação fecal permite uma suspeita sobre a sua possível existência em certos gelados, sobretudo do tipo artesanal.

**STAPHYLOCOCCUS COAGULASE POSITIVA** — Os resultados globais desta pesquisa, expressos no quadro n.º 6, foram de 29 casos positivos e 171 negativos, respectivamente 14,5% e 85,5% das 200 análises efectuadas.

O maior número de casos positivos pertence ao grupo dos gelados artesanais ou de pequena indústria com 18 resultados positivos



QUADRO N.º 6

Resultados da pesquisa e contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* no total das amostras

| N.º de colónias<br>por grama | Gelados<br>industriais | %   | Gelados<br>artesanais<br>e peq. ind. | %    | Soft-ice       | %    | N.º<br>Total | %<br>Total         |
|------------------------------|------------------------|-----|--------------------------------------|------|----------------|------|--------------|--------------------|
|                              | Em 78 amostras         |     | Em 76 amostras                       |      | Em 46 amostras |      |              | Em 200<br>amostras |
| <1                           | 1                      | 1,3 | 5                                    | 6,6  | 8              | 17,4 | 14           | 7                  |
| ≥1<10                        | 1                      | 1,3 | 3                                    | 3,9  | —              | —    | 4            | 2                  |
| ≥10<100                      | —                      | —   | 3                                    | 3,9  | —              | —    | 3            | 1,5                |
| ≥100<10³                     | —                      | —   | 1                                    | 1,3  | 1              | 2,2  | 2            | 1                  |
| ≤10³<10⁴                     | —                      | —   | —                                    | —    | —              | —    | —            | —                  |
| ≥10⁴<10⁵                     | —                      | —   | 1                                    | 1,3  | —              | —    | 1            | 0,5                |
| ≥10⁵<10⁶                     | —                      | —   | 3                                    | 3,9  | —              | —    | 3            | 1,5                |
| ≥10⁶<10⁷                     | —                      | —   | 1                                    | 1,3  | —              | —    | 1            | 0,5                |
| ≥10⁷<10⁸                     | —                      | —   | 1                                    | 1,3  | —              | —    | 1            | 0,5                |
| Total<br>de positivos        | 2                      | 2,6 | 18                                   | 23,7 | 9              | 19,6 | 29           | 14,5               |

(23,7%) em 76 análises, seguindo-se, por ordem decrescente, o grupo de semi-frios, com 9 resultados positivos (19,6%) em 46 análises, e o dos gelados industriais, com apenas 2 resultados positivos (2,6%) em 78 análises.

Pudemos constatar que a presença de *Micrococcaceae* foi quase constante nas análises efectuadas, por vezes em número muito elevado por grama de produto, com excepção dos gelados industriais de água. A percentagem de isolamentos de *Staphylococcus coagulase positiva* em relação com a presença de *Micrococcaceae* revelou-se ínfima para os gelados industriais, sendo as duas amostras positivas do tipo «ice-cream», com cobertura de chocolate, embalado em papel («stick»). A contagem deu valores baixos nas duas amostras, uma com um n.º da ordem de  $\geq 1 < 10$  e na outra apenas foi possível isolar *Staphylococcus* em 5 g do produto.

No grupo de análises referentes aos semi-frios, é de salientar que em 8 dos 9 resultados positivos apenas se isolou *Staphylococcus coagulase positiva* em 5 g do produto, sendo a pesquisa negativa em 1 g. O outro resultado positivo deu uma contagem de 200 col/g.

Em quase todas as análises de semi-frios encontrou-se um elevado número de *Micrococ-*

*caceae*, depreendendo-se que, em valor relativo àquele número e, também, em valor absoluto, a presença de *Staphylococcus coagulase positiva* é quantitativamente diminuta.

Por último, em relação aos gelados artesanais e de pequena indústria encontraram-se 18 resultados positivos em 76 análises (76,3% de negatividade); mas, aqui, cumpre salientar que a contagem por grama de *Staphylococcus coagulase positiva* foi para alguns casos muito elevada:

- 1 análise com contagem  $\geq 10^4 < 10^5$
- 3 com  $\geq 10^5 < 10^6$
- 1 com  $\geq 10^6 < 10^7$
- 1 com  $\geq 10^7 < 10^8$

Destes 6 resultados, 5 corresponderam a gelados provenientes de um mesmo estabelecimento, localizado numa estância balnear, tendo sido todas estas análises efectuadas no mês de Agosto. Mais precisamente, os 5 resultados encontrados foram:

$64 \times 10^5$ ;  $13 \times 10^6$ ;  $22 \times 10^4$ ;  $87 \times 10^4$ ;  $92 \times 10^4$  col/g.

Todas estas amostras eram de gelado tipo «ice-cream», mas de composição diferente.

# QUADRO N.º 7

## Resultados da pesquisa e contagem de Enterococos no total das amostras

| N.º de colónias<br>por grama | Gelados<br>industriais | %    | Gelados<br>artesanaís<br>e peq. ind. | %    | Soít-ice       | %    | N.º<br>Total | %<br>Total         |
|------------------------------|------------------------|------|--------------------------------------|------|----------------|------|--------------|--------------------|
|                              | Em 78 amostras         |      | Em 76 amostras                       |      | Em 46 amostras |      |              | Em 200<br>amostras |
| < 1                          | 6                      | 7,7  | 4                                    | 5,3  | 1              | 2,2  | 11           | 5,5                |
| ≥1<10                        | 16                     | 20,5 | 1                                    | 1,3  | —              | —    | 17           | 8,5                |
| ≥10<100                      | 17                     | 21,8 | 15                                   | 19,7 | 8              | 17,4 | 40           | 20                 |
| ≥100<10³                     | 18                     | 23,1 | 21                                   | 27,6 | 15             | 32,6 | 54           | 27                 |
| ≥10³<10⁴                     | 6                      | 7,7  | 11                                   | 14,5 | 9              | 19,6 | 26           | 13                 |
| ≥10⁴<10⁵                     | —                      | —    | 15                                   | 19,7 | 12             | 26,1 | 27           | 13,5               |
| ≥10⁵<10⁶                     | 1                      | 1,3  | 7                                    | 9,2  | 1              | 2,2  | 9            | 4,5                |
| ≥10⁶<10⁷                     | —                      | —    | —                                    | —    | —              | —    | —            | —                  |
| Total<br>de positivos        | 64                     | 82,1 | 74                                   | 97,4 | 46             | 100  | 184          | 92                 |

Dá-se relevo a este facto, porque ele revela um fabricante a trabalhar em condições inaceitáveis e porque permite repor os resultados desta pesquisa no conjunto do grupo dos gelados artesanais e de peq. indústria num nível mais real, de significado menos alarmante.

De qualquer forma, extrai-se a ideia de que a presença de *Staphylococcus coagulase positiva* é mais frequente nos gelados artesanais e semi-frios do que nos industriais e que o seu número por grama é em geral mais elevado nos artesanais, estando isto ligado mais a fabricantes isolados do que a um determinado tipo de gelado.

**ENTEROCOCOS** — Do quadro n.º 7 em que se encontram expressos os resultados desta pesquisa, salienta-se:

a) a pesquisa de Enterococos foi positiva em 92% das 200 amostras;

b) para os gelados semi-frios a pesquisa foi positiva em 100% das amostras, seguindo-se os artesanais com 97,4%, e os industriais com 82,1%;

c) os dois resultados negativos em gelados artesanais correspondem a gelados de água e limão, de pH extremamente baixo e 10 dos 14 resultados negativos encontrados em gelados industriais pertencem também a gelados de água de pH muito baixo.

d) nos gelados industriais, a contagem de Enterococos revelou 65,4% de resultados entre  $\geq 1 < 10^3$  col/g com a maior percentagem (23,1) no grupo  $\geq 10^2 < 10^3$ , o mesmo acontecendo para os artesanais (27,6%) e semi-frios (32,6%).

Com contagem  $\geq 10^4 < 10^6$  encontraram-se:

1 gelado industrial em 78 análises (1,3%); 22 artesanais em 76 análises (28,9%) e 13 semi-frios em 46 análises (28,3%).

**COLIFORMES** — Do estudo do quadro n.º 8 que mostra os resultados desta pesquisa, verifica-se que se isolaram coliformes em 81% das 200 amostras analisadas, variando sensivelmente a percentagem de casos positivos, se considerarmos separadamente os gelados industriais, os artesanais ou de pequena indústria e os semi-frios.

Comparando os resultados obtidos para cada um destes três tipos de gelado, observa-se que a percentagem mais elevada de positividade se encontra nos semi-frios, com 93,5%, seguindo-se os gelados artesanais com 85,5%, e os industriais com 69,2%.

Mais importante do que a positividade da pesquisa de coliformes é a quantidade em que se encontram numa dada amostra e, também, a presença ou ausência de *Escherichia coli*. Assim, estudando o quadro em que se reúnem

QUADRO N.º 8

Resultados da pesquisa e contagem de coliformes no total das amostras

| N.º de colónias<br>por grama | Gelados<br>industriais | %    | Gelados<br>artesanaís<br>e peq. ind. | %    | Soft-ice       | %    | N.º<br>Total | %<br>Total         |
|------------------------------|------------------------|------|--------------------------------------|------|----------------|------|--------------|--------------------|
|                              | Em 78 amostras         |      | Em 76 amostras                       |      | Em 46 amostras |      |              | Em 200<br>amostras |
| <1                           | 7                      | 9    | 1                                    | 1,3  | 1              | 2,2  | 9            | 4,5                |
| ≥1<10                        | 18                     | 23,1 | 6                                    | 7,9  | 2              | 4,3  | 26           | 13                 |
| ≥10<100                      | 14                     | 18,1 | 11                                   | 14,5 | 8              | 17,4 | 33           | 16,5               |
| ≥100<10³                     | 12                     | 15,4 | 15                                   | 19,7 | 12             | 26,1 | 39           | 19,5               |
| ≥10³<10⁴                     | 1                      | 1,3  | 19                                   | 25   | 15             | 32,6 | 35           | 17,5               |
| ≥10⁴<10⁵                     | 2                      | 2,6  | 8                                    | 10,5 | 5              | 10,9 | 15           | 7,5                |
| ≥10⁵<10⁶                     | —                      | —    | 5                                    | 6,6  | —              | —    | 5            | 2,5                |
| ≥10⁶<10⁷                     | —                      | —    | —                                    | —    | —              | —    | —            | —                  |
| Total<br>de positivos        | 54                     | 69,2 | 65                                   | 85,5 | 43             | 93,5 | 162          | 81                 |

os resultados da pesquisa quantitativa de coliformes, salienta-se que: Para os gelados industriais, a maior percentagem dos resultados positivos (23,1%) pertence ao grupo  $\geq 1 < 10$  col/g, para os artesanais, a maior parte dos resultados positivos (25%) encontra-se no grupo  $\geq 10^3 < 10^4$ , o mesmo acontecendo para os semi-frios, com 32,6%. Assinalam-se ainda 6,6% de amostras de gelado artesanal com um número de coliformes igual ou superior a  $10^5$  col/g.

Tomando como limite máximo aceitável a presença de 10 coliformes por grama de gelado, verifica-se que as percentagens de resultados positivos dentro deste limite são:

|                           |       |
|---------------------------|-------|
| Gelados industriais ..... | 32,1% |
| Gelados artesanais .....  | 9,2%  |
| Gelados semi-frios .....  | 6,5%  |

No conjunto das 200 amostras analisadas, os valores das contagens de coliformes distribuem-se principalmente (e em percentagem) pelos grupos entre  $\geq 10$  e  $10^4$ .

Na totalidade das análises apenas 17,5% dos resultados positivos apresentam uma contagem de coliformes inferior a 10 germes/g.

ESCHERICHIA COLI — Em relação a esta pesquisa (quadro n.º 9) salienta-se:

a) 24% de resultados positivos nas 200 análises efectuadas;

b) maior percentagem de positividade nos gelados artesanais e de pequena indústria, seguindo-se os semi-frios e, por último, os industriais;

c) contagem de *Escherichia coli*, nos gelados industriais, em maior percentagem no grupo  $\geq 1 < 10$  col/g, nos artesanais no grupo  $\geq 10 < 10^2$  e nos semi-frios no grupo  $\geq 1 < 10$ ;

d) 5,1% de contagens superiores ou iguais a 100 col/g em gelados industriais, contra 11,8% nos artesanais e zero nos semi-frios;

e) três resultados de contagem de *Escherichia coli* no grupo  $\geq 10^3 < 10^4$  e dois no grupo  $\geq 10^4 < 10^5$  encontrados em gelados artesanais.

Dos 14 resultados positivos encontrados em gelados industriais, 10 referem-se a gelados de uma das duas empresas cujos produtos foram analisados. Estes números têm maior significado se considerarmos que os 10 casos positivos foram encontrados num somatório de 16 análises de gelados de uma empresa contra 4 casos positivos em 62 gelados da outra empresa.

CLOSTRIDIUM — Esta pesquisa revelou-se positiva em apenas 6 das duzentas análises efectuadas (3%) e exclusivamente em gelados artesanais.

# QUADRO N.º 9

## Resultados da pesquisa e contagem de *Escherichia coli* no total das amostras

| N.º de colónias<br>por grama | Gelados<br>industriais | %    | Gelados<br>artesanaís<br>e psq. ind. | %    | Soft-ice       | %    | N.º<br>Total | %<br>Total         |
|------------------------------|------------------------|------|--------------------------------------|------|----------------|------|--------------|--------------------|
|                              | Em 78 amostras         |      | Em 76 amostras                       |      | Em 46 amostras |      |              | Em 200<br>amostras |
| <1                           | 3                      | 3,8  | 2                                    | 2,6  | 3              | 6,5  | 8            | 4                  |
| ≥1<10                        | 7                      | 9    | 6                                    | 7,9  | 6              | 13   | 19           | 9,5                |
| ≥10<100                      | —                      | —    | 7                                    | 9,2  | 1              | 2,2  | 8            | 4                  |
| ≥100<10³                     | 4                      | 5,1  | 4                                    | 5,3  | —              | —    | 8            | 4                  |
| ≥10³<10⁴                     | —                      | —    | 3                                    | 3,9  | —              | —    | 3            | 1,5                |
| ≥10⁴<10⁵                     | —                      | —    | 2                                    | 2,6  | —              | —    | 2            | 1                  |
| ≥10⁵<10⁶                     | —                      | —    | —                                    | —    | —              | —    | —            | —                  |
| Total<br>de positivos        | 14                     | 17,9 | 24                                   | 31,6 | 10             | 21,7 | 48           | 24                 |

Isolou-se *Clostridium perfringens* em duas amostras (quadro 10).

## QUADRO N.º 10

### Número e espécies de *Clostridium* isoladas no total das amostras

| Espécies isoladas               | N.º de isolamentos em 200 amostras |
|---------------------------------|------------------------------------|
| <i>Clostridium perfringens</i>  | 2                                  |
| <i>Clostridium bifermentans</i> | 2                                  |
| <i>Clostridium sporogenes</i>   | 1                                  |
| <i>Clostridium</i> spp.         | 1                                  |

Salienta-se a presença muito frequente (por vezes em grande número) de germes do género *Bacillus*, sobretudo em gelados com chocolate ou fruta em natureza, em contraste com o baixo número de análises em que se isolou *Clostridium*.

### GERMES MESÓFILOS AERÓBIOS «TOTAIS»

— No quadro n.º 11 apresentam-se os resultados das contagens destes microorganismos.

Para os gelados industriais não se considerou um resultado e para os gelados artesanais e de pequena indústria não se consideraram três resultados, todos prejudicados por acidente de laboratório.

Esta pesquisa foi negativa em 1 amostra referente a um gelado industrial de água e sabor a laranja, de pH muito baixo e em que todos os resultados foram negativos.

Em relação aos gelados industriais, verifica-se que 33,8% e 31,2% dos resultados positivos se situam respectivamente nos grupos  $\geq 10^3 < 10^4$  col/g e  $\geq 10^2 < 10^3$  col/g, isto é, distribuem-se nestes dois grupos em proporções quase iguais. As contagens inferiores a  $10^5$  col/g constituem 91% dos resultados positivos. Como valores máximos encontram-se duas contagens entre  $\geq 10^6 < 10^7$  col/g.

Nos gelados artesanais e de pequena indústria, a maior percentagem dos resultados situa-se no grupo  $\geq 10^5 < 10^6$  (28,8%), encontrando-se 38,4% de contagens inferiores a  $10^5$  col/g e 61,6% de contagens superiores a esse número. Salientam-se, como valores máximos, três análises com um número de germes mesófilos superior a 100 milhões de colónias por grama.

Nos semi-frios não se encontraram resultados inferiores a  $10^4$  col/g, o que contrasta

com 75,4% de gelados industriais e 19,2% de artesanais com contagens inferiores a este limite. Respectivamente 43,5% e 37% dos resultados positivos situam-se nos grupos  $\geq 10^6 < 10^7$  col/g e  $\geq 10^5 < 10^6$  col/g, isto é, em 46 amostras 37 revelaram contagens entre  $\geq 10^5 < 10^7$  col/g.

Destaca-se ainda, em relação aos semi-frios, que apenas em 5 amostras se encontraram resultados inferiores a  $10^5$  col/g e, como valor máximo, um resultado igual ou superior a 100 milhões de colónias/grama.

**GERMES PSICRÓFILOS** — Os resultados destas contagens encontram-se no quadro n.º 12. Por acidente no laboratório não se puderam considerar quatro resultados referentes a gelados industriais e três resultados referentes a gelados artesanais e de pequena indústria.

Esta pesquisa, foi 100% positiva para os gelados artesanais e semi-frios, encontrando-se nos gelados industriais 11,5% de resultados negativos (9 amostras em 78), todas de gelado de água de pH muito baixo.

A contagem de psicrófilos nos gelados industriais, revelou 36,5% de resultados no

grupo  $\geq 10^3 < 10^4$  col/g e 23% no grupo  $\geq 10^2 < 10^3$  col/g. Como valor máximo, referem-se os 5 resultados (6,8%) de contagem entre  $\geq 10^6 < 10^7$  col/g.

Nos gelados artesanais, a maior percentagem (27,4) situa-se no grupo  $\geq 10^5 < 10^6$  col/g, tendo-se encontrado:

8 contagens entre  $\geq 10^6 < 10^7$

12 contagens entre  $\geq 10^7 < 10^8$

6 contagens entre  $\geq$  a 100 milhões col/g.

Nos gelados semi-frios o maior número de contagens encontra-se no grupo  $\geq 10^6 < 10^7$  col/g (39,1% das amostras) registando-se 4 casos entre  $\geq 10^7 < 10^8$  col/g e 2 resultados de contagem igual ou superior a 100 milhões de colónias por grama.

As percentagens de amostras com contagem igual ou superior a um milhão de colónias por grama mostram diferenças apreciáveis para os três tipos de gelado:

Gelados industriais ..... 6,8%

Gelados artesanais ..... 35,6%

Gelados semi-frios ..... 52,1%

#### QUADRO N.º 11

##### Resultados da contagem de germes mesófilos aeróbios «totais» em 196 amostras

| N.º de colónias<br>por grama | Gelados<br>industriais                    | %    | Gelados<br>artesanaís<br>e peq. ind.      |      | %                                        | Soft-ice |                                                  | %    | N.º<br>Total | Total<br>% |
|------------------------------|-------------------------------------------|------|-------------------------------------------|------|------------------------------------------|----------|--------------------------------------------------|------|--------------|------------|
|                              | Em 77* amostras<br>com exame quantitativo |      | Em 73* amostras<br>com exame quantitativo |      | Em 46 amostras<br>com exame quantitativo |          | Em 196*<br>amostras<br>com exame<br>quantitativo |      |              |            |
|                              |                                           |      |                                           |      |                                          |          |                                                  |      |              |            |
| 0                            | 1                                         | 1,3  | 0                                         | —    | 0                                        | —        | 1                                                | 0,5  |              |            |
| ≥1<10                        | 3                                         | 3,9  | 0                                         | —    | 0                                        | —        | 3                                                | 1,5  |              |            |
| ≥10<100                      | 5                                         | 6,5  | 1                                         | 1,4  | 0                                        | —        | 6                                                | 3,1  |              |            |
| ≥10²<10³                     | 24                                        | 31,2 | 4                                         | 5,5  | 0                                        | —        | 28                                               | 14,3 |              |            |
| ≥10³<10⁴                     | 26                                        | 33,8 | 9                                         | 12,3 | 0                                        | —        | 35                                               | 17,9 |              |            |
| ≥10⁴<10⁵                     | 12                                        | 15,6 | 14                                        | 19,2 | 5                                        | 10,9     | 31                                               | 15,8 |              |            |
| ≥10⁵<10⁶                     | 4                                         | 5,2  | 21                                        | 28,8 | 17                                       | 37       | 42                                               | 21,4 |              |            |
| ≥10⁶<10⁷                     | 2                                         | 2,6  | 9                                         | 12,3 | 20                                       | 43,5     | 31                                               | 15,8 |              |            |
| ≥10⁷<10⁸                     | 0                                         | —    | 12                                        | 16,4 | 3                                        | 6,5      | 15                                               | 7,7  |              |            |
| superior a 10⁸               | 0                                         | —    | 3                                         | 4,1  | 1                                        | 2,2      | 4                                                | 2    |              |            |
| Total<br>de positivos        | 77*                                       | 98,7 | 76*                                       | 100  | 46                                       | 100      | 199*                                             | 99,5 |              |            |

\* uma amostra de gelado industrial e três de gelado artesanal não puderam ser estudados quantitativamente devido a acidente laboratorial.

É de notar que não se encontraram para os semi-frios contagens inferiores a  $10^4$  col/g, o que contrasta com 63,6% das amostras de gelados industriais e 26% de amostras de gelados artesanais com contagens inferiores a esse valor.

Salienta-se uma marcada variação do número de psicrófilos nas amostras de gelados industriais e artesanais, variação menos acentuada nos semi-frios, que apresentaram geralmente números altos nesta pesquisa.

Os psicrófilos encontrados nos gelados pertencem a numerosos géneros e espécies, sendo na sua grande maioria germes Gram negativos, pigmentados ou não, e, em alta percentagem, leveduras psicrófilas. Encontraram-se também numerosos bolores.

**LEVEDURAS E BOLORES** — Da leitura do quadro n.º 13 em que se expressam os resultados desta pesquisa verifica-se que a presença de leveduras e bolores é quase constante nos gelados analisados (91,5%) tendo sido negativa só em 17 amostras (8,5%). Destas 17 amostras, 16 correspondem a gelados industriais e uma a gelado artesanal.

Para os semi-frios a pesquisa foi positiva em todas as análises.

Dos 16 resultados negativos em gelados industriais, 6 pertencem a gelados de água, 4 a gelados semi-frios com cobertura de chocolate e 6 a gelado tipo ice-cream, pelo que a distribuição não tem significado em relação à composição.

O resultado negativo encontrado em gelados artesanais corresponde a um gelado de água e limão, com pH muito baixo.

Em relação às contagens salienta-se:

a) Para os gelados industriais, a maior percentagem situa-se no grupo  $\geq 10^2 < 10^3$  col/g (32,1%), sendo de 53,9% os resultados compreendidos entre  $\geq 1$  e  $< 10^2$  col/g.

Para os artesanais, as maiores percentagens, 38,2% e 35,5% correspondem respectivamente aos grupos  $\geq 10^3 < 10^4$  e  $\geq 10^2 < 10^3$ , com 19,7% dos resultados positivos compreendidos entre  $\geq 1$  e  $< 10^2$  col/g, e 5,2% igual ou superior a  $10^4$  col/g.

Como valor máximo encontrou-se um resultado superior a  $10^5$  col/g.

Nos semi-frios, a maior percentagem dos resultados positivos (39,1%) pertence ao grupo  $\geq 10^4 < 10^5$  col/g. Entre  $\geq 10$  e  $< 10^2$  col/g encontram-se apenas 2,2% (1 amostra)

#### QUADRO N.º 12

##### Resultados da contagem de germes psicrófilos em 193 amostras

| N.º de colónias por grama | Gelados industriais                    | %    | Gelados artesanais e peq. ind.         | %    | Soft-ice                              | %    | N.º Total | % Total                                 |
|---------------------------|----------------------------------------|------|----------------------------------------|------|---------------------------------------|------|-----------|-----------------------------------------|
|                           | Em 74* amostras com exame quantitativo |      | Em 73* amostras com exame quantitativo |      | Em 46 amostras com exame quantitativo |      |           | Em 193* amostras com exame quantitativo |
| 0                         | 9                                      | 11,5 | 0                                      | —    | 0                                     | —    | 9         | 4,5                                     |
| $\geq 1 < 10$             | 0                                      | —    | 0                                      | —    | 0                                     | —    | 0         | —                                       |
| $\geq 10 < 100$           | 3                                      | 4,1  | 0                                      | —    | 0                                     | —    | 3         | 1,6                                     |
| $\geq 100 < 10^3$         | 17                                     | 23   | 10                                     | 13,7 | 0                                     | —    | 27        | 14                                      |
| $\geq 10^3 < 10^4$        | 27                                     | 36,5 | 9                                      | 12,3 | 0                                     | —    | 36        | 18,7                                    |
| $\geq 10^4 < 10^5$        | 10                                     | 13,5 | 8                                      | 11   | 10                                    | 21,7 | 28        | 14,5                                    |
| $\geq 10^5 < 10^6$        | 3                                      | 4,1  | 20                                     | 27,4 | 12                                    | 26,1 | 35        | 18,1                                    |
| $\geq 10^6 < 10^7$        | 5                                      | 6,8  | 8                                      | 11   | 18                                    | 39,1 | 31        | 16,1                                    |
| $\geq 10^7 < 10^8$        | —                                      | —    | 12                                     | 16,4 | 4                                     | 8,7  | 16        | 8,3                                     |
| $\geq 10^8$               | —                                      | —    | 6                                      | 8,2  | 2                                     | 4,3  | 8         | 4,1                                     |
| Total de positivos        | 69*                                    | 88,5 | 76*                                    | 100  | 46                                    | 100  | 191*      | 95,5                                    |

\* quatro amostras de gelado industrial e três de gelado artesanal não puderam ser estudadas quantitativamente devido a acidente laboratorial.

sendo de 47,8% a percentagem de resultados com contagem superior a  $10^4$  col/g.

Como valores máximos, encontraram-se 4 amostras com contagem superior a  $10^5$  col/g.

A presença de bolores nos gelados (quadro n.º 14) é frequente (74,5%) sendo menos frequente nos semi-frios (47,8%) do que nos artesanais (86,8%) e industriais (78,2%). Por vezes encontraram-se em número muito elevado. Considerando os gelados industriais podemos verificar que a sua frequência e número são principalmente altos nos gelados de «stick» (pega de madeira).

#### APRECIAÇÃO DOS RESULTADOS EM RELAÇÃO COM A ÉPOCA DE PRODUÇÃO

Nos quadros n.ºs 15, 16 e 17 são expostos os resultados obtidos em três períodos diferentes da época de produção. O primeiro período engloba os resultados das análises efectuadas nos meses de Março, Abril e Maio, isto é, no início da época de fabrico; o segundo corresponde ao auge da produção de gelados, nos meses mais quentes — Junho, Julho, Agosto e Setembro — por último, o terceiro período abrange os meses de Outubro e Novembro.

QUADRO N.º 13

Resultados da contagem de leveduras e bolores no total das amostras

| N.º de colónias<br>por grama | Gelados<br>industriais | %    | Gelados<br>artesanaais<br>e peq. ind. | %    | Soft-ice       | %    | N.º<br>Total | %<br>Total         |
|------------------------------|------------------------|------|---------------------------------------|------|----------------|------|--------------|--------------------|
|                              | Em 78 amostras         |      | Em 76 amostras                        |      | Em 46 amostras |      |              | Em 200<br>amostras |
| 0                            | 16                     | 20,5 | 1                                     | 1,3  | —              | —    | 17           | 8,5                |
| $\geq 1 < 10$                | 17                     | 21,8 | 2                                     | 2,6  | —              | —    | 19           | 9,5                |
| $\geq 10 < 10^2$             | 25                     | 32,1 | 13                                    | 17,1 | 1              | 2,2  | 39           | 19,5               |
| $\geq 10^2 < 10^3$           | 19                     | 24,4 | 27                                    | 35,5 | 11             | 23,9 | 57           | 28,5               |
| $\geq 10^3 < 10^4$           | 1                      | 1,3  | 29                                    | 38,2 | 12             | 26,1 | 42           | 21                 |
| $\geq 10^4 < 10^5$           | —                      | —    | 3                                     | 3,9  | 18             | 39,1 | 21           | 10,5               |
| $\geq 10^5$                  | —                      | —    | 1                                     | 1,3  | 4              | 8,7  | 5            | 2,5                |
| Total<br>de positivos        | 62                     | 79,5 | 75                                    | 98,7 | 46             | 100  | 183          | 91,5               |

QUADRO N.º 14

Resultados da pesquisa de bolores no total das amostras

|           | N.º Totais | %    | Gelados industriais | %    | Gelados artesanais e de pequena indústria | %    | Soft-ice | %    |
|-----------|------------|------|---------------------|------|-------------------------------------------|------|----------|------|
| Positivos | 149        | 74,5 | 61                  | 78,2 | 66                                        | 86,8 | 22       | 47,8 |
| Negativos | 51         | 25,5 | 17                  | 21,8 | 10                                        | 13,2 | 24       | 52,2 |
| TOTAL     | 200        | —    | 78                  | —    | 76                                        | —    | 46       | —    |

## Gelados industriais

Numa apreciação ao quadro n.º 15 referente aos gelados industriais, e pondo em comparação os dados obtidos nos três períodos, merecem referência os seguintes resultados:

**COLIFORMES** — A percentagem de casos positivos aumentou do primeiro para o segundo período e deste para o terceiro. Considera-se significativo os 74% de resultados positivos no 2.º período. Os 90% de resultados positivos obtidos no último período (final de época de fabrico) poderão ser menos significativos devido ao menor número de análises efectuadas que foram predominantemente de produtos de uma das duas empresas estudadas, precisamente a que revelou piores índices higiénicos; no entanto, observa-se um aumento do valor médio das contagens cujo valor médio mínimo passou, sucessivamente, de 10 col/g no 1.º período, para 100 col/g no 2.º e, para 1000 col/g, no 3.º período.

**ESCHERICHIA COLI** — No 1.º período, salienta-se que a pesquisa foi sempre negativa nas 33 análises realizadas. Do 2.º para o 3.º período houve um aumento de cerca de 23% para 60%. Pelos motivos acima expostos consideramos mais representativo o valor de 23% de casos positivos.

Nos dois períodos, o valor médio da contagem manteve-se  $\geq 10 < 10^2$  col/g.

**ENTEROCOCOS** — A evolução, nos três períodos, do número de resultados positivos parece menos significativa, verificando-se, no entanto, um aumento sucessivo de 73% para 86% e para 100%.

Maior interesse desperta o valor médio da contagem nos casos positivos, em que se verificam valores iguais nos primeiro e terceiro períodos ( $\geq 10^2 < 10^3$ ) e, um máximo no segundo período, ( $\geq 10^3 < 10^4$  col/g).

**GERMES MESÓFILOS AERÓBIOS «TOTALS»** — O valor médio dos resultados positivos foi muito semelhante nos 1.º e 2.º períodos (entre 100 000 e 200 000 col/g), descendo bruscamente no último período para um valor médio de 1300 colónias por g.

**GERMES PSICRÓFILOS** — Observa-se uma evolução idêntica à da contagem de mesófilos, com um valor máximo no 2.º período e um acentuado decréscimo no último período.

Considerando o conjunto dos resultados obtidos para as diferentes pesquisas, observa-se que no 3.º período (final da época de fabrico) decrescem acentuadamente os valores médios do número de germes mesófilos e psicrófilos, mas têm-se valores superiores nas percentagens de isolamentos de coliformes, *Escherichia coli* e *Enterococos*, o que tem um significado quanto à higiene de fabrico.

## Gelados artesanais e de pequena indústria

No quadro n.º 16 agrupam-se os resultados obtidos na análise de gelados artesanais e de pequena indústria nos três períodos da época de fabrico.

Verifica-se numa forma geral um aumento gradual da percentagem dos casos positivos e também do valor médio das contagens de mesófilos, psicrófilos e fungos. Destacam-se os seguintes resultados:

**COLIFORMES** — Salienta-se a alta percentagem de resultados positivos no isolamento destes germes, sobretudo nos 2.º e 3.º períodos (praticamente 100%) e, também, o valor médio da sua contagem no 2.º período ( $\geq 10^4 < 10^5$ ). Tem-se, portanto, uma presença quase constante de coliformes neste tipo de gelados e em número muito elevado, com um máximo nos meses quentes e de maior produção.

**ESCHERICHIA COLI** — Verifica-se uma percentagem média de isolamentos de aproximadamente 30% ao longo da época. A sua contagem não sofre grandes variações, cifrando-se o valor médio entre  $10^2$  e  $10^4$  col/g.

**ENTEROCOCOS** — A sua presença nestes gelados é praticamente constante (apenas 2 resultados negativos em 76 análises). Verifica-se um pequeno aumento do número médio de colónias/g a partir do 1.º período, mantendo-se depois estacionário no grupo  $\geq 10^4 < 10^5$  col/g.

**STAPHYLOCOCCUS COAGULASE POSITIVA** — Esta pesquisa apenas se revelou positiva em 7,7% das análises no 1.º período, subindo para 33,3% no 2.º e 27,3% no 3.º.

Salienta-se que nos 1.º e 3.º períodos a sua contagem (valor médio) foi sempre baixa, enquanto que no 2.º período se obteve um valor médio entre  $\geq 10^6 < 10^7$ , referente a 13 isolamentos num total de 39 amostras. Para este elevado valor médio contribuíram espe-



**QUADRO N.º 15**  
**Resultados referentes a amostras de gelados industriais fabricados em três diferentes períodos de produção**

|                                      | Março – Abril – Maio |      |                |      |                                                     | Junho – Julho – Agosto – Setembro |      |                |      |                                                     | Outubro – Novembro |     |                |     |                                                     |
|--------------------------------------|----------------------|------|----------------|------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------|------|----------------|------|-----------------------------------------------------|--------------------|-----|----------------|-----|-----------------------------------------------------|
|                                      | Em 33 amostras       |      |                |      |                                                     | Em 35 amostras                    |      |                |      |                                                     | Em 10 amostras     |     |                |     |                                                     |
|                                      | Posi-<br>tivos       | %    | Nega-<br>tivos | %    | Col/g<br>Valor médio<br>dos resultados<br>positivos | Posi-<br>tivos                    | %    | Nega-<br>tivos | %    | Col/g<br>Valor médio<br>dos resultados<br>positivos | Posi-<br>tivos     | %   | Nega-<br>tivos | %   | Col/g<br>Valor médio<br>dos resultados<br>positivos |
| Coliformes                           | 19                   | 57,6 | 14             | 42,4 | $\geq 10 < 100$                                     | 26                                | 74,3 | 9              | 25,7 | $\geq 100 < 10^3$                                   | 9                  | 90  | 1              | 10  | $\geq 10^3 < 10^4$                                  |
| Escherichia coli                     | 0                    | —    | 33             | 100  | —                                                   | 8                                 | 22,9 | 27             | 77,1 | $\geq 10 < 100$                                     | 6                  | 60  | 4              | 40  | $\geq 10 < 100$                                     |
| Enterococos spp                      | 24                   | 72,7 | 9              | 27,3 | $\geq 100 < 10^3$                                   | 30                                | 85,7 | 5              | 14,3 | $\geq 10^3 < 10^4$                                  | 10                 | 100 | 0              | —   | $\geq 100 < 10^3$                                   |
| Mesófilos aeróbios<br>«totais»       | 32                   | 97   | 1              | 3    | $\pm 139\ 000$                                      | 35                                | 100  | 0              | —    | $\pm 197\ 000$                                      | 10                 | 100 | 0              | —   | $\pm 1300$                                          |
| Leveduras e bolores                  | 28                   | 84,8 | 5              | 15,2 | $\pm 145$                                           | 27                                | 77,1 | 8              | 22,9 | $\pm 94$                                            | 7                  | 70  | 3              | 30  | $\pm 216$                                           |
| Psicrófilos                          | 28                   | 84,8 | 5              | 15,2 | $\pm 154\ 000$                                      | 31                                | 88,6 | 4              | 11,4 | $\pm 487\ 000$                                      | 10                 | 100 | 0              | —   | $\pm 18\ 000$                                       |
| Staphylococcus<br>coagulase positiva | 1                    | 3    | 32             | 97   | $\geq 1 < 10$                                       | 1                                 | 2,9  | 34             | 97,1 | $< 1$                                               | 0                  | —   | 10             | 100 | —                                                   |
| Clostridium spp                      | 0                    | —    | 33             | 100  | —                                                   | 0                                 | —    | 35             | 100  | —                                                   | 0                  | —   | 10             | 100 | —                                                   |

QUADRO N.º 16

Resultados referentes a amostras de gelados artesanais e de pequena indústria fabricados em três diferentes períodos de produção

|                                      | Março – Abril – Maio |      |                |      |                                                     |  | Junho – Julho – Agosto – Setembro |      |                |      |                                                     |  | Outubro – Novembro |      |                |      |                                                     |  |
|--------------------------------------|----------------------|------|----------------|------|-----------------------------------------------------|--|-----------------------------------|------|----------------|------|-----------------------------------------------------|--|--------------------|------|----------------|------|-----------------------------------------------------|--|
|                                      | Em 26 amostras       |      |                |      |                                                     |  | Em 39 amostras                    |      |                |      |                                                     |  | Em 11 amostras     |      |                |      |                                                     |  |
|                                      | Posi-<br>tivos       | %    | Nega-<br>tivos | %    | Col/g<br>Valor médio<br>dos resultados<br>positivos |  | Posi-<br>tivos                    | %    | Nega-<br>tivos | %    | Col/g<br>Valor médio<br>dos resultados<br>positivos |  | Posi-<br>tivos     | %    | Nega-<br>tivos | %    | Col/g<br>Valor médio<br>dos resultados<br>positivos |  |
| Coliformes                           | 17                   | 65,4 | 9              | 34,6 | $\geq 100 < 10^3$                                   |  | 37                                | 94,9 | 2              | 5,1  | $\geq 10^4 < 10^5$                                  |  | 11                 | 100  | 0              | —    | $\geq 10^3 < 10^4$                                  |  |
| Escherichia coli                     | 6                    | 23,1 | 20             | 76,9 | $\geq 100 < 10^3$                                   |  | 13                                | 33,3 | 26             | 66,7 | $\geq 100 < 10^3$                                   |  | 5                  | 45,5 | 6              | 54,5 | $\geq 10^3 < 10^4$                                  |  |
| Enterococos spp                      | 25                   | 96,2 | 1              | 3,8  | $\geq 10^3 < 10^4$                                  |  | 38                                | 97,4 | 1              | 2,6  | $\geq 10^4 < 10^5$                                  |  | 11                 | 100  | 0              | —    | $\geq 10^4 < 10^5$                                  |  |
| Mesófilos aeróbios<br>«totais»       | 26                   | 100  | 0              | —    | $\pm 1\ 244\ 000$                                   |  | 39                                | 100  | 0              | —    | $\pm 15\ 000\ 000$                                  |  | 11                 | 100  | 0              | —    | $\pm 53\ 370\ 000$                                  |  |
| Leveduras e bolores                  | 25                   | 96,2 | 1              | 3,8  | $\pm 548$                                           |  | 39                                | 100  | 0              | —    | $\pm 1545$                                          |  | 11                 | 100  | 0              | —    | $\pm 20\ 243$                                       |  |
| Psicrófilos                          | 26                   | 100  | 0              | —    | $\pm 1\ 650\ 000$                                   |  | 39                                | 100  | 0              | —    | $\pm 24\ 000\ 000$                                  |  | 11                 | 100  | 0              | —    | $\pm 94\ 000\ 000$                                  |  |
| Staphylococcus<br>coagulase positiva | 2                    | 7,7  | 24             | 92,3 | $\geq 1 < 10$                                       |  | 13                                | 33,3 | 26             | 66,7 | $\geq 10^6 < 10^7$                                  |  | 3                  | 27,3 | 8              | 72,7 | $< 1$                                               |  |
| Clostridium spp                      | 3                    | 11,5 | 23             | 88,5 | —                                                   |  | 1                                 | 2,6  | 38             | 97,4 | —                                                   |  | 2                  | 18,2 | 9              | 81,8 | —                                                   |  |

cialmente as análises de gelados provenientes de um só fabricante. Pode concluir-se que não é raro o isolamento destes germes em gelados artesanais, principalmente nos meses mais quentes, em que a fabricação é mais intensa, com uma consequente quebra das normas de higiene em alguns fabricantes.

**CLOSTRIDIUM** — Esta pesquisa foi positiva apenas em gelados artesanais, tendo-se isolado *Clostridium* em 6 amostras. Duas destas amostras revelaram *Clostridium perfringens*.

**GERMES MESÓFILOS «TOTAIS» E PSICRÓFILOS** — Estas contagens seguem uma evolução paralela ao longo da época de fabrico num crescendo do seu valor médio, que atinge respectivamente, 53 000 000 e 94 000 000 col/g para mesófilos e psicrófilos.

Parece evidente que se verifica um relaxamento progressivo da observância das boas regras da higiene de fabrico.

**LEVEDURAS E BOLORES** — Destaca-se a presença destes germes na quase totalidade das amostras e a mesma evolução na sua contagem que para os germes mesófilos e psicrófilos.

De salientar, a cifra do valor médio obtido para o último período, o que reforça a ideia de um progressivo desleixo na higiene de fabrico.

Numa apreciação conjunta dos resultados referentes aos três períodos, verifica-se que, para todas as pesquisas, os números encontrados (resultados positivos e valores médios das contagens) são sempre inferiores no 1.º período (início da época de fabrico). Essas cifras vão aumentando até ao fim do último período, isto é, de Junho a Novembro há uma progressiva deficiência na higiene de fabrico com a consequente repercussão na qualidade bacteriológica dos produtos.

Estes gelados artesanais revelaram-se na sua quase totalidade, de péssima qualidade microbiológica, tendo de considerar-se muitos deles como impróprios e até perigosos para a saúde.

#### **Gelados semi-frios**

No quadro n.º 17 expressam-se os resultados obtidos na análise de 46 amostras de gelado semi-frio, agrupados segundo os três períodos da época de fabrico. O seu estudo sugere os seguintes comentários:

**COLIFORMES** — A percentagem de casos positivos é muito semelhante nos 3 períodos, tendo-se isolado coliformes na quase totalidade das amostras.

O valor médio da sua contagem no 2.º período é superior em relação aos 1.º e 3.º períodos, cifrando-se entre  $10^3$  e  $10^4$  col/g.

**ESCHERICHIA COLI** — No primeiro período não se isolou *Escherichia coli* em nenhuma das cinco análises efectuadas. Nos restantes períodos encontraram-se respectivamente 30% e 19% de resultados positivos.

A sua contagem foi sempre de valor médio baixo ( $\geq 1 < 10$  col/g).

**ENTEROCOCOS** — Destaca-se o número de isolamentos positivos (100%).

O valor médio da sua contagem é muito superior nos 2.º e 3.º períodos ( $\geq 10^3 < 10^4$ ) em relação ao 1.º ( $\geq 10 < 10^2$ ).

**STAPHYLOCOCCUS COAGULASE POSITIVA** — A percentagem de isolamentos foi, nos três períodos, aproximadamente 20%, com um valor médio de contagem também constante ( $< 1$  col/g).

**GERMES MESÓFILOS AERÓBIOS «TOTAIS» E PSICRÓFILOS** — Salienta-se a evolução do valor médio das suas contagens, que aumentam do 1.º para o 2.º período e deste para o 3.º, de forma significativa.

**LEVEDURAS E BOLORES** — É de realçar os 100% de resultados positivos na sua pesquisa, com um valor médio de contagem máximo no 2.º período, ( $> 4 \times 10^4$  col/g).

Na apreciação do conjunto dos resultados dos três períodos destaca-se a presença de coliformes, enterococos e leveduras em quase 100% das amostras, o que, aliado ao alto valor médio das suas contagens, e das contagens de mesófilos e psicrófilos, revela condições de fabrico impróprias sob o ponto de vista microbiológico. Este facto parece poder atribuir-se a deficiência, ou mesmo ausência, de limpeza e desinfecção das máquinas em que estes gelados semi-frios são fabricados.

Verifica-se, também, que estes gelados são especialmente de má qualidade bacteriológica nos meses mais quentes e no final da época, e que não é raro o isolamento de *Escherichia coli* e *Staphylococcus coagulase positiva*.

Numa apreciação de conjunto dos resultados obtidos para os três tipos de gelado

QUADRO N.º 17

Resultados referentes a amostras de gelados semi-frios fabricados em três diferentes períodos de produção

|                                      | Março - Abril - Maio |     |                |     |                                                     | Junho - Julho - Agosto - Setembro |     |                |     |                                                     | Outubro - Novembro |      |                |     |                                                     |
|--------------------------------------|----------------------|-----|----------------|-----|-----------------------------------------------------|-----------------------------------|-----|----------------|-----|-----------------------------------------------------|--------------------|------|----------------|-----|-----------------------------------------------------|
|                                      | Em 5 amostras        |     |                |     |                                                     | Em 20 amostras                    |     |                |     |                                                     | Em 21 amostras     |      |                |     |                                                     |
|                                      | Posi-<br>tivos       | %   | Nega-<br>tivos | %   | Col/g<br>Valor médio<br>dos resultados<br>positivos | Posi-<br>tivos                    | %   | Nega-<br>tivos | %   | Col/g<br>Valor médio<br>dos resultados<br>positivos | Posi-<br>tivos     | %    | Nega-<br>tivos | %   | Col/g<br>Valor médio<br>dos resultados<br>positivos |
| Coliformes                           | 4                    | 80  | 1              | 20  | $\geq 100 < 10^3$                                   | 19                                | 95  | 1              | 5   | $\geq 10^3 < 10^4$                                  | 20                 | 95,2 | 1              | 4,8 | $\geq 100 < 10^3$                                   |
| Escherichia coli                     | 0                    | —   | 5              | 100 | —                                                   | 6                                 | 30  | 14             | 70  | $\geq 1 < 10$                                       | 4                  | 19   | 17             | 81  | 1                                                   |
| Enterococos spp                      | 5                    | 100 | 0              | —   | $\geq 10 < 100$                                     | 20                                | 100 | 0              | —   | $\geq 10^3 < 10^4$                                  | 21                 | 100  | 0              | —   | $\geq 10^3 < 10^4$                                  |
| Mesófilos aeróbios<br>«totais»       | 5                    | 100 | 0              | —   | $\pm 770\ 000$                                      | 20                                | 100 | 0              | —   | $\pm 6\ 111\ 000$                                   | 21                 | 100  | 0              | —   | $\pm 14\ 294\ 000$                                  |
| Leveduras e bolores                  | 5                    | 100 | 0              | —   | $\pm 937$                                           | 20                                | 100 | 0              | —   | $\pm 41\ 200$                                       | 21                 | 100  | 0              | —   | $\pm 27\ 800$                                       |
| Psicrófilos                          | 5                    | 100 | 0              | —   | $\pm 1\ 643\ 000$                                   | 20                                | 100 | 0              | —   | $\pm 12\ 490\ 000$                                  | 21                 | 100  | 0              | —   | $\pm 13\ 900\ 000$                                  |
| Staphylococcus<br>coagulase positiva | 1                    | 20  | 4              | 80  | $< 1$                                               | 4                                 | 20  | 16             | 80  | $< 1$                                               | 4                  | 19   | 17             | 81  | $< 1$                                               |
| Clostridium spp                      | 0                    | —   | 5              | 100 | —                                                   | 0                                 | —   | 20             | 100 | —                                                   | 0                  | —    | 21             | 100 | —                                                   |

nos três períodos sucessivamente considerados, verifica-se:

1.º Período (Março, Abril e Maio).

A percentagem de amostras em que a pesquisa de coliformes se revelou positiva, foi alta em todos os tipos de gelado, com o número mais baixo para os gelados industriais (58%). O valor médio da contagem destes germes foi inferior para os gelados industriais ( $\geq 10 < 10^2$  col/g) em relação aos artesanais e semi-frios, ambos com valores semelhantes ( $\geq 10^2 < 10^3$  col/g). Neste período, apenas se isolou *Escherichia coli* em gelados artesanais.

A percentagem de isolamentos de *Enterococos* foi mais baixa para os gelados industriais (73%) do que para os outros dois tipos de gelado, em que atinge praticamente os 100%.

O valor médio da contagem é superior para os artesanais, com  $\geq 10^3 < 10^4$  col/g, seguido dos industriais  $\geq 10^2 < 10^3$  col/g e por fim dos semi-frios  $\geq 10 < 10^2$  col/g.

O número de isolamento de *Staphylococcus coagulase* positiva foi pequeno para todos os tipos de gelado, com contagens também baixas. A pesquisa de *Clostridium* apenas foi positiva em três análises de gelados artesanais.

Neste período, o valor médio dos resultados obtidos na contagem de mesófilos foi superior nos gelados artesanais ( $> 10^6$  col/g) seguindo-se os semi-frios com cerca de  $7,7 \times 10^5$  col/g e os industriais com aproximadamente  $1,4 \times 10^5$  col/g.

Na contagem de psicrófilos encontrou-se uma nítida diferença no valor médio obtido para os gelados industriais (cerca de  $1,5 \times 10^5$  col/g) em relação ao dos artesanais e semi-frios ambos com aproximadamente  $1,6 \times 10^6$  col/g.

Na contagem de leveduras e bolores o valor médio dos resultados positivos foi maior para os semi-frios com cerca de 900 col/g, e mínimo para os gelados industriais com cerca de 145 col/g.

2.º Período (Junho, Julho, Agosto, Setembro).

A pesquisa de coliformes revelou-se positiva na quase totalidade das análises de gelados artesanais e semi-frios (cerca de 95%), sendo cerca de 74% nos gelados industriais.

Salienta-se também o número médio de coliformes:

Gelados industriais  $> 10^2 < 10^3$  col/g

Gelados semi-frios  $> 10^3 < 10^4$  col/g

Gelados artesanais  $> 10^4 < 10^5$  col/g

O isolamento de *Escherichia coli* em gelados industriais atingiu 23% das análises, contra 33% e 30% respectivamente para os artesanais e semi-frios. Em valor médio, o número de *Escherichia coli* encontrado foi de:

$> 1 < 10$  col/g para gelados semi-frios

$> 10 < 10^2$  col/g para gelados industriais

$> 10^2 < 10^3$  col/g para gelados artesanais.

A pesquisa de *Enterococos* revelou-se positiva na totalidade de análises de gelados semi-frios, em 97% de artesanais e 86% de industriais, isto é, isolaram-se enterococos em quase todas as análises efectuadas neste período. O valor médio encontrado nas contagens destes germes foi sobretudo elevado nos gelados artesanais, com um número entre  $> 10^4 < 10^5$  col/g; nos gelados industriais e semi-frios os valores encontrados situam-se entre  $> 10^3 < 10^4$  col/g.

A pesquisa de *Staphylococcus coagulase* positiva foi apenas em uma amostra dos 35 gelados industriais, e em 4 amostras dos 20 semi-frios. Em qualquer destes tipos de gelado o número de colónias por grama foi sempre inferior a 1. Para os gelados artesanais encontraram-se valores muito diferentes; obtiveram-se 33,3% de isolamentos positivos (13 análises em 39) sendo o número médio de *Staphylococcus coagulase* positiva entre  $> 10^6 < 10^7$  col/g.

A explicação encontra-se no facto de neste período se terem analisado algumas amostras provenientes de um fabricante cujos produtos apresentaram sempre um número de *Staphylococcus coagulase* positiva da ordem de alguns milhões de colónias por grama.

A pesquisa de *Clostridium* spp. foi sempre negativa nos gelados industriais e semi-frios e foi positiva em apenas uma das 39 análises de gelados artesanais.

Neste período houve uma nítida diferença no número médio de germes mesófilos encontrados para os três tipos de gelado, sendo aproximadamente de:

140 000 col/g para os gelados industriais;

6 000 000 col/g para os gelados semi-frios;

15 000 000 col/g para os gelados artesanais.

Na contagem de psicrofilos encontrou-se uma evolução semelhante à dos germes mesófilos, com a diferença dos valores serem ainda mais elevados, sobretudo devido à presença de numerosas leveduras psicrofílicas.

Os números, em valor médio, foram aproximadamente de:

12 500 000 col/g para os gelados semi-frios;  
12 500 000 col/g para os gelados semi-frios;  
24 000 000 col/g para os gelados artesanais.

A pesquisa de leveduras e bolores não foi positiva em todas as análises de gelados industriais (cerca de 77%), ao contrário do que sucedeu para os artesanais e semi-frios (100%). Os valores médios das contagens encontrados para estes germes, apresentam nítidas diferenças, com aproximadamente 90 col/g para os gelados industriais, 1500 col/g e 41 000 col/g com números inferiores obtidos para os artesanais e semi-frios.

### 3.º Período (Outubro, Novembro)

Neste período isolaram-se coliformes na quase totalidade das análises efectuadas, isto é, apenas duas pesquisas foram negativas em 42 análises. O valor médio encontrado para as contagens destes germes situa-se entre:

$>10^2 < 10^3$  nos semi-frios.  
 $>10^3 < 10^4$  nos industriais e artesanais.

A pesquisa de *Escherichia coli* foi positiva em 60% das amostras de gelados industriais, 46% de artesanais e 19% de semi-frios. Importa indicar que a percentagem obtida para os gelados industriais se deve ao facto de neste período se terem analisado predominantemente gelados de uma empresa onde a presença de *Escherichia coli* se revelou frequente.

O número médio de *Escherichia coli* encontrado nas respectivas contagens foi aproximadamente, 1 col/g para os semi-frios,  $>10^2 < 10^3$  para os gelados industriais e  $>10^3 < 10^4$  para os artesanais, sendo de realçar esta última cifra.

Isolaram-se Enterococos em todas as análises efectuadas neste período. As contagens referentes a estes germes apresentaram os valores médios de:

$>10^2 < 10^3$  col/g para os gelados industriais;  
 $>10^3 < 10^4$  col/g para os gelados semi-frios;  
 $>10^4 < 10^5$  col/g para os gelados artesanais.

A pesquisa de *Staphylococcus coagulase* positiva foi negativa em todas as amostras de gelados industriais e foi positiva em 27% das de gelado artesanal e 19% dos semi-frios analisados neste período. O seu número médio, nos casos positivos, foi sempre  $<1$  col/g.

A pesquisa de *Clostridium* foi sempre negativa nos gelados industriais e semi-frios e foi positiva em duas amostras de gelados artesanais.

Neste período, na contagem de germes mesófilos «totais», acentuou-se, a diferença entre os números obtidos para os três tipos de gelado, sendo os números médios obtidos aproximadamente:

Gelados industriais .....  $\approx 1\,300$  col/g  
Gelados semi-frios .....  $\approx 14\,300\,000$  col/g  
Gelados artesanais ...  $\approx 53\,400\,000$  col/g

A pesquisa de germes psicrofilos deu as mesmas indicações que a dos germes mesófilos «totais», seguindo a mesma evolução. Os valores médios obtidos nas contagens, foram em números aproximados, de:

$\approx 18\,000$  col/g para os gelados industriais;  
 $\approx 14\,000\,000$  col/g para os gelados semi-frios;  
 $\approx 94\,000\,000$  col/g para os gelados artesanais.

A pesquisa de leveduras e bolores foi positiva em todas as amostras de gelados artesanais e semi-frios e em 70% das amostras de gelados industriais. Em valor médio, a sua contagem manteve a evolução do 2.º período, com aproximadamente 200 col/g para os gelados industriais e 28 000 col/g e 20 000 col/g respectivamente para os semi-frios e gelados artesanais.

## COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

Para facilitar a apreciação do conjunto dos resultados obtidos, elaborou-se o quadro n.º 18 onde se expressam os resultados positivos e negativos em percentagens.

Para as diferentes pesquisas efectuadas podemos concluir:

a) A pesquisa de *Salmonella* foi negativa na totalidade das amostras, mas não é de excluir a possibilidade da sua presença em certos gelados, dada a frequência com que se isolaram germes indicadores de contaminação fecal por vezes em número muito elevado por grama.

QUADRO N.º 18

## Percentagens de resultados positivos e negativos

|                                   | Gelados industriais |             | Gelados artesanais e de pequena indústria |             | Soft-ice cream |             | Na totalidade das análises |             |
|-----------------------------------|---------------------|-------------|-------------------------------------------|-------------|----------------|-------------|----------------------------|-------------|
|                                   | Em 78 análises      |             | Em 76 análises                            |             | Em 46 análises |             | 200                        |             |
|                                   | Positivos %         | Negativos % | Positivos %                               | Negativos % | Positivos %    | Negativos % | Positivos %                | Negativos % |
| Salmonella                        | —                   | 100         | —                                         | 100         | —              | 100         | —                          | 100         |
| Staphylococcus coagulase positiva | 2,6                 | 97,4        | 23,7                                      | 76,3        | 19,6           | 80,4        | 14,5                       | 85,5        |
| Coliformes                        | 69,2                | 30,8        | 85,5                                      | 14,5        | 93,5           | 6,5         | 81                         | 19          |
| Escherichia coli                  | 17,9                | 82,1        | 31,6                                      | 68,4        | 21,7           | 78,3        | 24                         | 76          |
| Enterococos                       | 82,1                | 17,9        | 97,4                                      | 2,6         | 100            | —           | 92                         | 8           |
| Clostridium spp                   | —                   | 100         | 7,9                                       | 92,1        | —              | 100         | 3                          | 97          |
| Leveduras + bolores               | 79,5                | 20,5        | 98,7                                      | 1,3         | 100            | —           | 91,5                       | 8,5         |
| Só bolores                        | 78,2                | 21,8        | 86,8                                      | 13,2        | 47,8           | 52,2        | 74,5                       | 25,5        |

Se se atribuir maior significado como indicador de contaminação fecal à presença de *Escherichia coli*, pode concluir-se que a probabilidade da presença de *Salmonella* é, por ordem decrescente, maior em gelados de tipo artesanal, seguidamente em semi-frios e por último em gelados industriais.

b) A pesquisa e contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* deu a indicação de que não é muito frequente a sua existência, em número elevado por grama, nos diferentes tipos de gelado, mas que não é raro em pequeno número por grama. Nas amostras em que a pesquisa se revelou positiva, verificaram-se grandes diferenças entre os números das respectivas contagens, pertencendo as cinco contagens de cifra mais elevada a amostras provenientes de um mesmo fabricante. Em contraste com a relativa raridade do isolamento de *Staphylococcus coagulase positiva*, verificou-se uma presença quase constante, muitas vezes em alto número, de outros germes da família *Micrococcaceae*, geralmente *Micrococcus*.

A presença de *Staphylococcus* parece mais ligada a uma higiene do fabrico do que à composição ou tipo de gelado.

c) A presença de coliformes revelou-se muito frequente no conjunto das duzentas amostras (81%) e em todos os tipos de gelado.

As contagens de coliformes, na totalidade das amostras, mostraram 63,5% de resultados com um número de colónias por grama superior a dez.

Se se considerarem estes germes como testemunho de contaminação fecal, a sua frequência nas amostras estudadas e também o seu número por grama, levam à conclusão de que uma importante percentagem dessas amostras revela inferior qualidade higiénica e a possibilidade de presença de germes patogénicos.

d) O isolamento de *Escherichia coli* foi positivo em 24% das duzentas amostras e foi mais frequente em amostras de gelados artesanais (31,6%).

Considerando o número de colónias por grama, verificou-se, que a maior percentagem de resultados positivos na totalidade das amostras se situou entre  $\geq 1 < 10$  col/g.

Nas amostras de gelados industriais a presença de *Escherichia coli*, e o seu número por grama, foi variável segundo a origem de fabrico dessa amostras, sendo muito rara nas de uma origem e em alta percentagem nas de outra.

As amostras de gelados artesanais que revelaram a presença de *Escherichia coli*, mostraram um número de colónias por grama muito variável, salientando-se cinco resultados de valor  $\geq 10^3 < 10^5$ .

A presença de *Escherichia coli* parece estar mais dependente duma deficiente higiene de fabrico do que ligada à composição ou ao tipo de gelado. O seu isolamento, mais do que o de outros coliformes permite uma suspeita sobre a possível presença de germes patogénicos.

e) A pesquisa de Enterococos foi positiva em 184 das 200 amostras estudadas (92%).

A frequência do seu isolamento atingiu 100% nas amostras de semi-frios, 97,4% nas de gelados artesanais e 82,1% nas de gelados industriais.

Considerando —ainda que com restrições— estes germes como indicadores de contaminação fecal, a sua presença quase constante nas amostras estudadas, revela inferiores condições higiénicas de fabrico e reforça idêntica conclusão sugerida pelos resultados das pesquisas e contagens de coliformes e *Escherichia coli*.

f) No conjunto das amostras analisadas, a pesquisa de *Clostridium*, em 1 grama, só foi positiva em seis amostras, todas de gelados artesanais; isolou-se *Clostridium perfringens* apenas em duas.

Pelo contrário, a presença de germes esporulados do género *Bacillus*, apresentou-se extraordinariamente frequente, e, em muitas amostras, em elevado número de colónias por grama.

g) Na totalidade das amostras, os valores médios das contagens de mesófilos aeróbios «totais» foram:

|                           |                   |
|---------------------------|-------------------|
| Gelados industriais ..... | 148 200 col/g;    |
| Gelados semi-frios .....  | 9 266 000 col/g;  |
| Gelados artesanais .....  | 15 930 000 col/g. |

Deste número, pode concluir-se que a carga média de germes mesófilos por grama foi muito elevada em todos os tipos de gelado, principalmente nos gelados artesanais e semi-frios. Dentro do mesmo tipo de gelado, notaram-se apreciáveis diferenças de amostra para amostra, sobretudo em gelados industriais, atribuindo-se esta variação às diferenças de composição, pH e outras características.

No conjunto das amostras de gelados industriais obtiveram-se 7,8% de resultados  $\geq 10^5$  col/g, contra 61,6% nas amostras de gelados artesanais e 55,9% nas de semi-frios.

Valorizando-se a contagem de germes mesófilos «totais» como um índice indicativo da qualidade bacteriológica dum produto, conclui-se que uma grande percentagem das amostras analisadas revelaram má qualidade bacteriológica, sem dúvida devida a deficientes condições higiénicas no fabrico desses gelados.

O número de colónias de mesófilos por grama, em algumas amostras, foi tão elevado ( $>10^8$ ) que esses gelados podem constituir um problema sanitário.

h) No conjunto das duzentas amostras, a presença de germes psicrófilos foi de elevada incidência (95,5%), pertencendo todos os resultados negativos a amostras de gelados industriais.

O valor médio por grama das contagens de psicrófilos, foi superior ao valor médio de mesófilos, em todos os tipos de gelado:

|                           |                   |
|---------------------------|-------------------|
| Gelados industriais ..... | 276 500 col/g;    |
| Gelados semi-frios .....  | 11 947 600 col/g; |
| Gelados artesanais .....  | 26 621 000 col/g. |

Como para os germes mesófilos, notou-se grande variação no número de colónias de psicrófilos por grama entre amostras de gelados do mesmo tipo.

No conjunto das amostras de gelados industriais, obtiveram-se 10,9% de resultados com um número de colónias por grama  $\geq 10^5$  contra 63% nos gelados artesanais e 90% nos semi-frios.

Na sua maioria, os germes psicrófilos isolados ao longo deste trabalho pertenceram aos géneros *Pseudomonas*, *Flavobacterium* e *Acinetobacter*, revelado muitas das amostras a presença em alto número de leveduras psicrófilas.

Os resultados obtidos na contagem de germes psicrófilos reforçam a ideia da má qualidade bacteriológica de muitas amostras analisadas.

i) No conjunto das duzentas amostras, a pesquisa de levedura e bolores revelou-se positiva numa alta incidência (91,5%).

Em 17 resultados negativos, 16 foram de gelados industriais e 1 de gelados artesanais.

A presença de bolores foi menos frequente que a de leveduras tendo sido negativa em 25,5% das 200 amostras.

Os gelados semi-frios apresentaram a mais baixa percentagem de positividade em bolores (47,8%), sendo de notar que a presença de leveduras se revelou positiva em 100% das amostras destes gelados.

Em certas amostras, evidenciaram-se bolores em grande número, como as que contêm fragmentos de frutos secos (por ex. amêndoa) e alguns dos gelados industriais de «stick» (pega de madeira).



Mais importante do que a presença de leveduras e bolores, é o seu número de colónias por grama, apreciável índice de higiene de fabrico.

Neste aspecto, evidenciaram-se grandes diferenças entre as contagens referentes a amostras de gelados industriais e as amostras de gelados artesanais e de semi-frios:

Amostras de gelados industriais  $\approx$  131 col/g  
Amostras de gelados artesanais  $>$  3 900 col/g  
Amostras de gelados semi-frios  $>$  30 700 col/g

Estes números dão uma ideia clara da má qualidade microbiológica e higiénica de muitas das amostras analisadas. Para as amostras de semi-frios o número elevadíssimo de colónias de leveduras por grama encontrado na maioria das amostras estudadas, deve-se sem dúvida à deficiente limpeza e desinfeção das máquinas em que são fabricados.

Relativamente às amostras de gelados industriais de água verifica-se:

a) A pesquisa de germes patogénicos foi negativa em todas as amostras.

b) Os valores encontrados na pesquisa e contagem de coliformes, *Escherichia coli* e Enterococos variaram acentuadamente com a origem de fabrico das amostras. Nas de uma proveniência, a presença destes germes foi sempre negativa e nas de outras, importante percentagem das amostras evidenciaram a sua presença, por vezes em contagem elevada por grama.

No conjunto das amostras de gelados de água isolaram-se coliformes e Enterococos em 41,2% das amostras e *Escherichia coli* em 23,5%.

c) A contagem de germes mesófilos «totais» revelou o valor médio mais baixo de entre todos os tipos de gelado, com aproximadamente 4000 col/g, tendo as amostras com pH muito baixo evidenciado contagens marcadamente inferiores.

d) A pesquisa de germes psicrófilos foi negativa em 52,9% das amostras e o valor médio das contagens revelou-se, tal como para os mesófilos, o mais baixo encontrado nos diferentes tipos de gelado, com  $\approx$  11 700 col/g.

e) A pesquisa de leveduras e bolores foi negativa em 35,3% das amostras, revelando-se o valor médio das contagens muito aproximado ao encontrado nos outros tipos de gelados industriais, com  $\approx$  106 col/g.

f) Os germes mais frequentemente isolados nestes gelados de água foram *Bacillus*, leveduras e bolores.

Em resumo, pode afirmar-se que para o conjunto das pesquisas as amostras deste tipo de gelados industriais apresentaram na generalidade os valores mais favoráveis de entre todos os tipos de gelados estudados.

A restrição posta a esta afirmação baseia-se no facto das amostras provenientes de um fabricante terem evidenciado *Escherichia coli* em significativa percentagem.

Pensa-se que a boa qualidade bacteriológica da maioria destas amostras está relacionada com a sua composição relativamente simples e também com o pH, que se revelou extremamente baixo ( $\approx$  2) precisamente nas amostras que apresentaram uma quase esterilidade.

Em relação às amostras de gelados industriais, de «stick ice-cream» com cobertura de chocolate, pode afirmar-se que, de entre todos os tipos de gelados industriais estudados, foram estes os que revelaram pior qualidade bacteriológica:

a) Evidenciou-se a presença de *Staphylococcus coagulase positiva* em duas amostras, ainda que em pequeno número de colónias por grama.

b) Isolaram-se coliformes e Enterococos em respectivamente 86,8% e 97,4% das amostras e *Escherichia coli* em 21,1%.

Para estas pesquisas, o número de colónias por grama foi, em certas amostras, muito elevado.

c) As contagens de germes mesófilos «totais» e psicrófilos ofereceram um valor médio do número de colónias por grama muito aproximado, respectivamente 277 000 col/g e 259 900 col/g.

d) A presença de leveduras e bolores revelou-se quase constante, mas o número médio de colónias por grama ( $\approx$  123 col) não sofre comparação desfavorável em relação aos outros tipos de gelados industriais.

e) Nas amostras deste tipo de gelados, foi constante a presença de germes esporulados do género *Bacillus*, frequentemente em elevado número por grama.

Em resumo, pode concluir-se que as amostras deste tipo de gelado revelaram, na sua maioria, índices bacterianos de higiene desfavoráveis, para o que devem contribuir as operações de cobertura da massa do gelado com a camada de chocolate, em máquinas

próprias para o efeito, além da qualidade bacteriológica do próprio chocolate (sobretudo em relação aos esporos de *Bacillus*).

Para os gelados industriais tipo «ice-cream» observa-se que:

a) A pesquisa de germes patogénicos foi negativa em todas as amostras.

b) Isolaram-se coliformes e *Enterococos* respectivamente em 60,9% e 87% das amostras, e *Escherichia coli* em 8,7%.

c) As contagens de germes mesófilos «totais» revelaram um número médio de colónias por grama relativamente baixo ( $\approx 30\,000$  col/g), muito inferior ao encontrado para as amostras de gelado «ice-cream» com cobertura de chocolate ( $\approx 277\,000$  col/g).

d) O valor médio das contagens de germes psicrófilos não acompanha o encontrado para as contagens de mesófilos, revelando-se muito superior, com aproximadamente 399 000 col/g.

e) A pesquisa de leveduras e bolores foi negativa em 6 amostras (26,1%) e o valor médio das contagens ( $\approx 163$ ), embora o mais elevado dos revelados nos três tipos de gelados industriais considerados, manteve-se ao nível do encontrado para os restantes.

Pode, portanto, concluir-se que a qualidade bacteriológica revelada pelas amostras de gelados industriais tipo «ice-cream» se situa em posição intermédia em relação à dos outros tipos de gelados industriais estudados — gelados de água e gelados com cobertura de chocolate.

Em relação ao conjunto das 78 amostras de gelados industriais estudados, pode concluir-se que:

a) Foi observada uma acentuada variação dos valores obtidos para as diferentes pesquisas segundo a origem das amostras, a composição do produto e suas características físico-químicas — principalmente de pH.

b) A presença de bactérias mais frequentemente causadoras de toxi-infecções alimentares graves foi diminuta — apenas se isolaram *Staphylococcus* coagulase positiva em duas amostras e em pequeno número de colónias por grama.

c) Os resultados obtidos nas pesquisas e contagens de coliformes, *Escherichia coli* e *Enterococos*, permitem concluir que muitas das amostras de gelados industriais revelam infe-

rior qualidade higiénica. Foi nestas pesquisas que se observaram as maiores diferenças em relação à origem de fabrico das amostras.

d) Notaram-se em relação às contagens de germes mesófilos, psicrófilos, leveduras e bolores, importantes diferenças relacionadas com a composição e pH do gelado.

e) Em média, os valores encontrados nas pesquisas e contagens foram mais baixos do que os observados nos gelados de tipo artesanal e semi-frio.

Em resumo, pode afirmar-se que, no seu conjunto, as amostras de gelados industriais revelaram melhor qualidade bacteriológica que o conjunto das amostras de gelados artesanais ou de semi-frios. Todavia, considerando os resultados obtidos para cada amostra de gelado industrial, verifica-se que ainda é elevado o número das que evidenciaram inferior qualidade bacteriológica.

Apreciando os resultados obtidos para o conjunto, das 76 amostras de gelados artesanais e de pequena indústria provenientes de 23 fabricantes diferentes, conclui-se:

a) Isolaram-se *Staphylococcus* coagulase positiva em 23,7% das amostras, em alguns casos em número muito elevado de colónias por grama. Em amostras de diferente composição, colhidas em datas distintas, e todas provenientes do mesmo fabricante, isolaram-se *Staphylococcus* coagulase positiva, em contagens da ordem de alguns milhões de colónias por grama, o que não se verificou para quaisquer outras amostras de proveniência diferente.

b) Atendendo aos valores encontrados nas pesquisas e contagens de coliformes, *Escherichia coli* e *Enterococos*, a presença de germes patogénicos, como *Salmonella*, é possível senão provável em alguns destes gelados.

c) Os resultados obtidos nas pesquisas de germes considerados como índices higiénicos ou de contaminação fecal, de que se destacam a presença de coliformes em 85,5% das amostras, de *Escherichia coli* em 31,6% e de enterococos em 97,4%, aliados ao número de colónias por grama encontrado em muitas das contagens, revelam a má qualidade higiénica da maioria das amostras estudadas.

d) A pesquisa de *Clostridium*, em 1 g de gelado, revelou a pequena incidência destes germes (7,9%), embora só neste tipo de gelados se tenha comprovado a sua presença.

Das seis estirpes isoladas, duas identificaram-se como *Clostridium perfringens*.

e) Os valores médios das contagens de germes mesófilos «totais» e psicrófilos com:

Mesófilos «totais» ..... 15 930 000 col/g

Psicrófilos ..... 26 621 000 col/g

revelaram-se os mais elevados de entre todos os tipos de gelados.

A maioria destas amostras, apresenta assim uma enorme carga microbiana, reveladora de deficientes condições higiénicas, que põe para muitos destes gelados um problema sanitário.

f) Na generalidade, observa-se um progressivo agravamento de má qualidade bacteriológica destes gelados, desde o início da época de fabrico até ao seu final, pertencendo ao 2.º período considerado algumas amostras que revelaram resultados mais desfavoráveis.

g) O conjunto das amostras de gelados do tipo artesanal ou de pequena indústria, revelaram para a quase totalidade das pesquisas piores resultados que as amostras de gelados industriais e de semi-frios. Evidenciaram, na generalidade, uma inferior qualidade bacteriológica e higiénica, e uma importante percentagem de amostras põe um problema sanitário.

Numa apreciação dos resultados obtidos para o conjunto das 46 amostras de gelado semi-frio, provenientes de 24 diferentes fabricantes, conclui-se:

a) Isolaram-se *Staphylococcus coagulase* positiva em (19,6%) das amostras, mas em pequeno número de colónias por grama;

b) A presença de coliformes e Enterococos foi muito frequente, atingindo respectivamente 93,5% e 100%. A pesquisa de *Escherichia coli* revelou uma incidência muito inferior, com 21,7% de positividade.

Estas cifras e os valores médios das respectivas contagens, revelam uma má higiene de fabrico da totalidade das amostras estudadas, o que talvez possa ser devido, dadas as especiais condições de fabrico dos semi-frios em máquinas apropriadas a partir de produtos desidratados e depois reconstituídos, não às matérias-primas, mas a deficiente limpeza e desinfecção das máquinas. Esta ideia é corroborada pela ausência de patogénicos e pelos valores muito elevados encontrados nas pesquisas e contagens de germes, índices de higiene, e pelas cargas microbianas de mesófilos, psicrófilos e leveduras;

c) A evolução dos resultados obtidos para as diferentes pesquisas ao longo da época de fabrico, parece indicar um agravamento da qualidade microbiológica no 2.º e 3.º períodos considerados (auge e final da época de fabrico) em relação ao início da época, não havendo particulares diferenças a assinalar entre os dois períodos.

Isto pode indicar, que, com o aumento da produção, há um progressivo relaxamento das boas regras da higiene de fabrico;

d) As amostras de semi-frios estudadas não se revelaram problema sanitário pela presença de germes patogénicos, mas sim pelas enormes cargas microbianas por grama.

### CONCLUSÕES RELATIVAS ÀS EXIGÊNCIAS LEGAIS

No quadro n.º 19 apreciam-se os resultados obtidos em relação às exigências microbiológicas das «Instruções Sanitárias sobre o fabrico ou preparação e venda de gelados e sorvetes» de 7/Março/1957.

#### a) Amostras de gelados industriais

Verifica-se que 44,9% das amostras não obedecem pelo menos a uma das exigências e 55,1% satisfazem todas as exigências.

A maioria das amostras satisfaz as exigências referentes à contagem de germes mesófilos «totais» ( $<100\,000\text{ col/cm}^3$ ) e à ausência de germes patogénicos, (respectivamente 91% e 97,4%); uma percentagem importante (37,2%) não satisfaz a exigência referente a coliformes ( $<10\text{ col/cm}^3$ ) e 14,1% a referente a *Escherichia coli* (ausência em  $1\text{ cm}^3$ ).

Parece, portanto, que um esforço no sentido da eliminação de coliformes levaria à resolução do maior problema «legal» evidenciado no estudo das amostras deste tipo de gelados.

#### b) Amostras de gelados artesanais e de pequena indústria

Nestas amostras 82,9% não satisfaz pelo menos uma das exigências e 17,1% satisfazem todas as exigências.

As contagens de germes mesófilos e de coliformes não satisfazem as diferentes exigências em grande percentagem das amostras

QUADRO N.º 19

Quadro de apreciação, segundo as «Instruções Sanitárias sobre o fabrico ou preparação e venda de gelados e sorvetes»

| Contagem de mesófilos aeróbios «totais» inferior 100 000/cm³<br><br>Coliformes inferior 10/cm³<br>Escherichia coli neg 1/cm³<br><br>Presença de germes patogénicos (1) | Gelados industriais                        |      |                          |      | Gelados artesanais e de pequena indústria  |      |                          |      | «Soft-ice cream»                           |      |                          |      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|------|--------------------------|------|--------------------------------------------|------|--------------------------|------|--------------------------------------------|------|--------------------------|------|
|                                                                                                                                                                        | Em 78 análises                             |      |                          |      | Em 76 análises                             |      |                          |      | Em 46 análises                             |      |                          |      |
|                                                                                                                                                                        | Satisfazendo a norma                       | %    | Não satisfazendo a norma | %    | Satisfazendo a norma                       | %    | Não satisfazendo a norma | %    | Satisfazendo a norma                       | %    | Não satisfazendo a norma | %    |
|                                                                                                                                                                        | 71                                         | 91   | 7                        | 9    | 28                                         | 36,8 | 48                       | 63,2 | 5                                          | 10,9 | 41                       | 89,1 |
|                                                                                                                                                                        | 49                                         | 62,8 | 29                       | 37,2 | 18                                         | 23,7 | 58                       | 76,3 | 6                                          | 13   | 40                       | 87   |
|                                                                                                                                                                        | 67                                         | 85,9 | 11                       | 14,1 | 54                                         | 71,1 | 22                       | 28,9 | 39                                         | 84,8 | 7                        | 15,2 |
|                                                                                                                                                                        | 76                                         | 97,4 | 2                        | 2,6  | 58                                         | 76,3 | 18                       | 23,7 | 37                                         | 80,4 | 9                        | 19,6 |
|                                                                                                                                                                        | Não satisfazendo pelo menos uma das normas |      |                          |      | Não satisfazendo pelo menos uma das normas |      |                          |      | Não satisfazendo pelo menos uma das normas |      |                          |      |
|                                                                                                                                                                        | 35                                         |      | 44,9                     |      | 63                                         |      | 82,9                     |      | 44                                         |      | 95,7                     |      |
|                                                                                                                                                                        | Conjunto das quatro exigências             |      |                          |      | Conjunto das quatro exigências             |      |                          |      | Conjunto das quatro exigências             |      |                          |      |
|                                                                                                                                                                        | Satisfazendo                               | %    | Não satisfazendo         | %    | Satisfazendo                               | %    | Não satisfazendo         | %    | Satisfazendo                               | %    | Não satisfazendo         | %    |
|                                                                                                                                                                        | 43                                         | 55,1 | 1                        | 1,3  | 13                                         | 17,1 | 7                        | 9,2  | 2                                          | 4,3  | 4                        | 8,7  |

(1) Considera-se neste quadro, o n.º de análises em que se isolou Staphylococcus coagulase positiva, que aceitamos como potencialmente patogénico.

estudadas, o mesmo acontecendo em relação a *Escherichia coli* (28,9%) e a germes patogénicos (23,7%).

#### c) Amostras de semi-frios

Uma grande percentagem das amostras, não obedecem à exigência referente à contagem de germes mesófilos «totais» (89,1%) e à contagem de coliformes (87%).

Ao contrário, a esmagadora maioria obedece à exigência referente a *Escherichia coli* e a germes patogénicos.

De notar, que das 46 amostras estudadas, 44 (95,7%) não obedecem à totalidade das exigências.

Tudo indica que uma frequente limpeza e desinfecção das máquinas em que são fabricados estes gelados, contribuiria para melhorar a sua qualidade bacteriológica a ponto de satisfazer as exigências legais.

#### Em resumo

Das duzentas amostras estudadas, 142, (71%) não obedeceram às exigências microbiológicas das «Instruções Sanitárias sobre o fabrico ou preparação e venda de gelados e sorvetes», de 7 de Março de 1957, o que, para cada tipo de gelado considerado, foi devido principalmente:

— Amostras de gelados industriais — às contagens de coliformes/cm<sup>3</sup> e à presença de *Escherichia coli* em 1 cm<sup>3</sup>.

— Amostras de gelados semi-frios — às contagens de germes mesófilos «totais»/cm<sup>3</sup>,

às contagens de coliformes/cm<sup>3</sup> e, em menor grau, às restantes exigências.

— Amostras de gelados artesanais e de pequena indústria — às contagens de coliformes/cm<sup>3</sup>, às contagens de germes mesófilos «totais»/cm<sup>3</sup>, à presença de *Escherichia coli* em 1 cm<sup>3</sup> e, em menor grau, à presença de germes potencialmente patogénicos.

#### RESUMO

Com base na análise microbiológica de duzentas amostras de gelado, dos tipos industriais, artesanal e semi-frios, fabricados na região de Lisboa, análise que incidiu especialmente na pesquisa de germes patogénicos e índices bacteriológicos de higiene, comentam-se os resultados obtidos e tiram-se algumas conclusões sobre a sua qualidade bacteriológica.

#### Expressamos os nossos reconhecidos agradecimentos:

— As empresas que nos prestaram prestimosa colaboração, facilitando-nos acesso a material de trabalho e a bibliografia.

— As nossas colaboradoras — Dr.<sup>a</sup> Maria do Rosário Laranjeira, Dr.<sup>a</sup> Maria José Gomes — e a todo o grupo de trabalho, pela zelosa assistência técnica, sem a qual teria sido impossível a realização deste estudo no prazo estabelecido.

— A Dr.<sup>a</sup> Adriana de Figueiredo, pela cuidada revisão crítica.

#### BIBLIOGRAFIA

- Alström, J. and Kämpe, A. — Nordisk Hyg. Tidskr. 1961, 42, N.º 3/4, 81-89.
- Butiaux, R. et Van Agt, J. — Rev. d'Hyg. et de Med. Sociale. Paris 1960, Apr-May, 8, N.º 3, 211-16.
- Calcanis, A. — Bacteriological Examinations of Ice Cream in Düsseldorf. 1962, Aug. 54, N.º 8, 114-17.
- Custot, F. — Bull. Acad. Natu. Méd., 1967, 151, N.º 7/8, 139-45.
- Dehove, A. Raymonde — La Réglementation des produits alimentaires et non alimentaires. Répression des fraudes et controle de la qualité, Commerce — éditions Paris, 7.<sup>a</sup> edição.
- Elyföldi, J. — Népegészségügy Budapest, 1963 June, 44, N.º 6, 181-3, 192.
- Köhler, F. Schneider, W. und Beck, E. — Ztschr. f. d. g. Hyg. u. ihre Geuzgebiste, Berlin, 1961, May, 7, N.º 5, 355-68.
- Koschnharoff, B. und Stawreff. — Zent. f. Bakt. J. Abt. Orig., 1964, 194, N.º 2, 193-203.
- Maximos, A. — Arch. f. Hyg. und. Bakt., 1964, Sept. 148, N.º 7, 527-35.
- Plaschke, J. — Ztschr. f. d. g. Hyg. u. ihre Grenzgebiete. Berlin, 1965, May, 11, N.º 5, 344-5.
- Robinson, S. V. — Pub. Health Inspector, 1965, Mar. 73, N.º 6, 271-7, 286.
- Schmidt — Sange, W. u. Traupe, A. — Münche, med. Woch. 1963, May, 105, N.º 21, 1110-13.
- Seaman, A. Smith, Kathleen N. & Woodbine, M. — J. Applied Bact. 1961, Aug. 24, N.º 2, 229-33.
- Székelyöldi, J. — Népegészségügy. Budapest. 1963, June, 44, N.º 6, 181-3, 192.
- Wundt, W. & Voss, J. — Arch. f. Hyg. u. Bakt. 1963, Aug. 147, N.º 4/5, 358-68.
- Instruções Sanitárias sobre o fabrico ou preparação e venda de gelados e sorvetes — Diário do Governo, n.º 55, 2.<sup>a</sup> Série, de 7 de Março de 1957.
- Fédération Internationale de Laiterie — Bruxelles, 1969

# **CARACTERÍSTICAS HIGIÊNICAS MICROBIOLÓGICAS DAS MANTEIGAS NACIONAIS À VENDA NA REGIÃO DE LISBOA**

*Ricardina Dantas<sup>1</sup>*

## **ABSTRACT**

*Three hundred and thirty one samples of salted and fresh butter of nineteen different marks and from several manufacturers have been analysed in order:*

- a) to study the microbiological hygienic quality of the product;*
- b) to ascertain the influence of salt on the microbiological quality of butter;*
- c) to investigate the reason for the high count of yeasts generally found in the control analysis;*
- d) to contribute to the microbiological normalization of butter in the country.*

*The results have proved the effective action of salt in the hygienic quality of butter and have shown that the preservation temperature (+7° C) allows the growth of yeasts.*

*Some final comments have been made about the temperature of preservation and about the hygienic conditions of production.*

As análises microbiológicas de «contrôle» de diversos tipos de manteiga à venda no comércio da região de Lisboa, realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Instituto Nacional de Saúde, revelam frequentemente um elevado teor em leveduras, excedendo em muito o tolerado na maioria dos países.

Esta verificação motivou o presente estudo, que visa:

- a) avaliar as características higiênicas das manteigas nacionais à venda na região referida;
- b) verificar a influência da presença de sal nas características higiênicas da manteiga;

- c) procurar conhecer a possível causa do elevado número de leveduras geralmente revelado nas análises;
- d) contribuir para o estabelecimento de normas nacionais de apreciação da manteiga.

A manteiga define-se, em termos gerais, como produto exclusivamente obtido por batida da nata, do leite ou dos seus subprodutos, suficientemente desembaraçado de leite e de água por malaxagem e lavagem, a fim de não conter por cem gramas, mais de dezoito gramas de matérias não gordas, das quais a água representará, no máximo, dezasseis gramas (COGITORE). A análise química da man-

<sup>1</sup> Técnico especialista, Laboratório de Bacteriologia, Instituto Nacional de Saúde — Lisboa.

teiga deve revelar uma composição média de cerca de 80 a 83% de gordura; 14 a 16% de água; e 1 a 2% dos restantes componentes do leite — composição expressa na própria definição de manteiga, já mencionada.

Na legislação portuguesa (Portaria n.º 13 699, de 10 de Outubro de 1951) a manteiga é definida como o produto butiroso extraído do leite de vaca ou da respectiva nata ou de ambos. As disposições legais mais recentes sobre a manteiga (Portaria n.º 20 774, de 25 de Agosto de 1964) estabelecem as seguintes características:

|                                                                   |      |
|-------------------------------------------------------------------|------|
| Matéria gorda — mínimo .....                                      | 80%  |
| Água — máximo .....                                               | 16%  |
| Substância seca isenta de matéria gorda, incluindo cloretos ..... | 4,5% |

A relação ponderal entre a água e os componentes principais do extracto seco da manteiga, isento de gordura, mantem-se aproximadamente igual à do leite. Há, por conseguinte, na emulsão que constitui a manteiga, duas fracções importantes a considerar: a fase aquosa (f. a.), também designada por soro, e a fase lipídica, constituída por gordura. A f. a. é a fracção responsável pela viabilidade da flora microbiana existente e encontra-se sob a forma de glóbulos diminutos, cujo diâmetro, num produto normal, deverá ser, dum forma geral, inferior a  $3\ \mu$  (1). Estes glóbulos, pelas suas dimensões e consequente escassez de meios nutritivos, não constituem substrato que permita a multiplicação da flora contaminante. Porém, se a preparação da emulsão conduzir à formação de glóbulos da f. a. de dimensões da ordem dos  $10\ \mu$  eles constituem, já, um meio nutritivo mais favorável à proliferação microbiana, resultando inconveniente para a conservação do produto, sob o ponto de vista higiénico, e, para a composição, sob o ponto de vista químico. Com efeito, a flora microbiana, em condições favoráveis, pode promover alteração da fase lipídica, originando um alimento impróprio para consumo.

Pelo exposto, podemos concluir que, como alimento de consumo directo, a manteiga não representa perigo para a saúde sob o ponto de vista microbiológico, desde que a emulsão

seja convenientemente preparada. Se isso não acontecer, ao ser usada como componente de elevado número de preparações culinárias (molhos, cremes, etc.) para adicionar a pratos já cozinhados, a manteiga é susceptível de poder originar surtos de toxi-infecção alimentar, sempre que veicule germes patogénicos e as condições de ambiente permitam a multiplicação destes no substrato em que foi incorporada. No entanto, apesar de a sobrevivência de germes patogénicos, como *Salmonella* e *Staphylococcus* produtores de coagulase, ter sido verificada na manteiga, LONGRÉE (1967) não encontrou relatos de casos de toxi-infecção alimentar atribuíveis a este produto.

## MATERIAL E MÉTODOS

Realizaram-se análises microbiológicas em 331 amostras de manteiga pasteurizada de 19 marcas diferentes e de dois tipos: meio sal e sem sal (1/2 sal e s/sal, conforme a designação comercial). Destas amostras, 287 foram adquiridas no mercado de Lisboa, de forma a cobrir o maior número possível de áreas, sendo 195 constituídas por manteiga tipo 1/2 sal e 92 por manteiga tipo s/sal. A maioria das amostras foi colhida pelos serviços Técnicos de Higiene da Alimentação e Bromatologia, da Direcção-Geral de Saúde, para análises de «contrôle». Algumas foram compradas em vários estabelecimentos comerciais, de diferentes categorias e situados em diversos locais da cidade, como complemento de estudo que abrange um período de 5 anos (Janeiro de 1967 a Fevereiro de 1973). Analisaram-se ainda 44 amostras de manteiga pasteurizada, com dois a três dias de fabrico, obtidas directamente em armazéns industriais que nos prestaram colaboração. Destas, 30 amostras pertenciam a diferentes lotes de fabrico, tirados ao acaso, sendo 16 amostras 1/2 sal e 14 amostras s/sal. O seu estudo pretendeu avaliar se o processo de conservação das manteigas nas casas comerciais de venda ao público tem influência nas suas características higiénicas. À chegada ao laboratório cada amostra foi dividida, sob condições de assépsia, em duas partes iguais, analisando-se imediatamente uma das metades. A segunda foi analisada após 30 dias de conservação a temperatura idêntica à dos balcões frigoríficos dos estabelecimentos comerciais (cerca de  $+7^{\circ}\text{C}$ ).

(1) Em 95% dos glóbulos de f. a. o diâmetro é inferior a  $3\ \mu$  sendo inferior a  $5\ \mu$  nos restantes 5% (MOSSEL, 1962).

Pretendendo-se avaliar a uniformidade das características higiénicas do produto de um mesmo lote de fabrico, distribuído em embalagens de origem, estudaram-se as restantes 14 amostras, todas de manteiga tipo 1/2 sal, pertencentes a um mesmo lote escolhido ao acaso.

Todos os exames efectuados se referem a uma quantidade conveniente de f. a. extraída de 125 g de manteiga, mediante adição de 5 ml de tampão de fosfatos, estéril, (pH=8), fusão em banho maria a temperatura de  $43(\pm 1)^{\circ}\text{C}$  durante o mínimo tempo necessário (25 a 40 minutos, segundo a marca do produto analisado) e separação da fase lipídica sobrenadante por decantação.

O volume de f. a. obtido contém a grande maioria dos microrganismos correspondentes à massa do produto analisado e o seu valor oscilou entre 16 e 20 ml, predominando de 18 a 20 ml, conforme as marcas da manteiga. As contagens de germes referiram-se a um grama de manteiga, para o que se tomou em conta a equivalência entre volume de f. a. e massa de produto que lhe deu origem.

#### **Contagem de leveduras**

Foram usados dois meios sólidos: Malte-Agar (Difco) e Batata-Dextrose-Agar (Difco), com pH ajustado a  $3,5(\pm 0,1)$ . As sementeiras foram feitas a partir de diluições adequadas e os meios foram incubados a  $21(\pm 2)^{\circ}\text{C}$ , durante 5 dias.

#### **Pesquisa e contagem de coliformes e identificação de *E. coli***

De diluições adequadas fizeram-se sementeiras directas em meios sólidos de Endo e de MacConkey. Em paralelo determinou-se o N. M. P. mediante sementeiras em Caldo Lactosado Biliado com verde brilhante, seguidas da prova de Mackenzie para a caracterização de *E. coli* (produção de gás no caldo biliado com verde brilhante e produção de indol em água peptonada a  $44(\pm 0,1)^{\circ}\text{C}$ ). Também se efectuaram sempre enriquecimentos, semeando 1 ml de f. a. em Caldo Nutritivo, do qual, após incubação a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 18 horas, se fizeram passagens para meios sólidos de Endo e de MacConkey. As culturas desenvolvidas, tanto nas sementeiras directas, como após enriquecimento, foram caracterizadas por provas bioquímicas.

#### **Pesquisa e contagem de enterococos**

Foram feitas sementeiras directas de 0,1 ml de f. a. e de 0,1 ml de diferentes diluições em meio de *M. Enterococcus* Agar (BBL). Como estudo comparativo, procedeu-se à determinação do N. M. P., usando o meio de Rothe como prova presuntiva e o meio de Litsky como prova confirmativa. As colónias suspeitas foram isoladas por passagem para meio de Geose-Sangue e estudadas segundo as suas características bioquímicas e de resistência.

#### **Pesquisa de Clostrídios, contagem de esporos de Clostrídios sulfito-redutores e identificação das respectivas espécies**

Diluições apropriadas para que a 5 ml correspondesse 1 g de manteiga foram aquecidas em banho-maria a  $80^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos, imediatamente arrefecidas e inoculadas, segundo as técnicas apropriadas para o estudo de anaeróbios, em meios de Rosenow cisteinado e de VL glicosado e adicionado de sulfito de sódio a 5% e de alúmen de ferro. Semearam-se 5 ml em meio de Rosenow e 5,1 ml em 4 tubos de meio VL-sulfito de sódio-alúmen de ferro com a seguinte distribuição: 2 ml, 2 ml, 1 ml e 0,1 ml. Os meios foram incubados a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 5 dias. Das culturas obtidas fizeram-se isolamentos em meio de VL-Sangue, procedendo-se à identificação das colónias isoladas segundo o método de BEERENS. Um volume de f. a., não pasteurizada, equivalente a 1 g de manteiga, foi também inoculado em meio de Rosenow e a cultura estudada nos mesmos moldes.

#### **Pesquisa de Salmonelas**

Um volume de f. a. equivalente a 25 g de manteiga foi inoculado em meios de Caldo-Selenito, Caldo-Tetrationato e Caldo Nutritivo. Após 18 a 48 horas a  $37^{\circ}\text{C}$  fizeram-se subculturas em meios selectivos de SS-Agar (Difco) e de Bismuto-Sulfito-Agar (Difco), a partir dos caldos de Selenito e de Tetrationato. Uma gota de cultura de 18 horas em Caldo Nutritivo foi semeada em 10 ml. de Caldo-Selenito e de Caldo-Tetrationato. Após 18-24 horas de incubação a  $37^{\circ}\text{C}$  fizeram-se passagens para os meios de SS-Agar e de Bismuto Sulfito Agar. As colónias suspeitas foram isoladas em meio de T.S.I. e devidamente estudadas.



## Pesquisa e contagem de *Estafilococos* produtores de coagulase

Fizeram-se sementeiras directas, em superfície, de 0,1 ml de f. a. em meios de Manitol-Salt-Agar (Difco) e de Baird Parker (Oxoid). Procedeu-se a enriquecimento de um volume de f. a. equivalente a 1 g de manteiga, em meio líquido de Chapman, seguindo-se passagens para os meios sólidos mencionados. As leituras efectuaram-se às 48 horas de incubação a 37° C e as colónias suspeitas, repicadas para Gelose Nutritiva, foram estudadas em função do tipo respiratório, fermentação do manitol, produção de hemólise e presença das enzimas coagulase, fosfatase e desoxiribonuclease (Dnase).

## RESULTADOS E COMENTÁRIOS

Os resultados das análises efectuadas nas 195 amostras de manteiga pasteurizada 1/2 sal e nas 92 s/sal, adquiridas no mercado de Lisboa (quadros n.º 1 e 2), mostram que, das bactérias consideradas índice de características higiénicas dos alimentos, são os enterococos que se encontram em maior percentagem de amostras — 74,4% das manteigas 1/2 sal e 81,5% das manteigas s/sal. Encontram-se coliformes, com exclusão de *E. coli*, em 51,8% das manteigas 1/2 sal (sendo 20,5% com teores compreendidos entre  $10^2$  e  $10^5$  col./g) e em 74,0% das amostras s/sal (sendo 34,8% com teores entre  $10^2$  e  $10^6$  col./g) e *E. coli*, em 16,9% das manteigas 1/2 sal e em 47,8% das manteigas s/sal.

Raramente se isolaram microrganismos do género *Clostridium* — 4,6% nas manteigas 1/2 sal e 3,3% nas manteigas s/sal e só em teores  $\leq 10$  col./g.

Os dois tipos de manteiga revelaram a presença de *Staphylococcus* produtores de coagulase em concentrações geralmente inferiores a  $10^2$  sendo as respectivas percentagens de 22,5, nas amostras 1/2 sal, e 11,0, nas amostras s/sal. Só em uma manteiga tipo 1/2 sal a contagem atingiu um valor superior a  $10^3$ .

De nenhuma amostra se isolaram microrganismos do género *Salmonella*.

Nos dois tipos de manteiga encontraram-se leveduras em 100% das amostras (84,1% em teores compreendidos entre  $10^2$  e  $10^7$  col./g nas manteigas 1/2 sal e 93,5% nas manteigas

s/sal), com predomínio de contagens entre  $10^3$  e  $10^4$  col./g, atingindo valores extremamente altos ( $10^6$  col./g) em alguns casos e ( $10^7$  col./g) num caso de manteiga s/sal.

A presença de *Pseudomonas* — de grande interesse sob o ponto de vista comercial, devido às alterações organolépticas que as suas propriedades lipolíticas podem originar no produto — só foi revelada em 0,5% das amostras 1/2 sal e em 8,7% das amostras s/sal e sempre em teores muito baixos ( $<10$  col./g).

Baseando-se este estudo principalmente em análises de rotina correspondentes a um período de 5 anos, consideram-se em separado os resultados de 57 amostras de manteiga pasteurizada — 21, 1/2 sal, e 36, s/sal — estudadas nos últimos três meses do ano de 1972, numa tentativa de comparação entre as características higiénicas dos produtos nas duas épocas e apreciação sobre a possível melhoria da sua qualidade higiénica. Os resultados foram anotados nos quadros n.ºs 3 e 4, respectivamente. A apreciação conjunta destes e dos quadros n.ºs 1 e 2 mostra que, exceptuando a contaminação por *Staphylococcus* produtores de coagulase, não se observa qualquer evolução para melhor nas características higiénicas deste produto alimentar.

No que se refere às análises efectuadas nas 30 amostras obtidas directamente nos armazéns das empresas industriais (16, 1/2 sal, e 14, s/sal) os resultados analíticos correspondentes à metade de cada amostra analisada imediatamente após a chegada ao Laboratório encontram-se referidos nos quadros n.ºs 5 e 6. Os resultados das análises feitas nas metades restantes, após um mês de conservação à temperatura de +7° C, encontram-se nos quadros n.ºs 7 e 8.

Verifica-se que já no armazém (quadros n.ºs 5 e 6) 100% das amostras apresentavam leveduras em teores compreendidos entre  $10^2$  e  $10^6$  col./g nas manteigas 1/2 sal e entre  $10^2$  e  $10^5$  col./g nas manteigas s/sal. Nos dois tipos de manteiga as percentagens mais elevadas encontram-se em contagens compreendidas entre  $10^2$  e  $10^4$  col./g. Quanto à presença de outros germes habitualmente considerados na apreciação das características higiénicas dos alimentos, são ainda os Enterococos que se encontram em maior percenta-

QUADRO N.º 1

Resultados dos exames microbiológicos de 195 amostras de manteiga pasteurizada 1/2 sal, colhidas no mercado de Lisboa de 1967 a 1972

|                                        | Distribuição dos casos positivos segundo níveis de concentração microbiana |      |                 |      |                   |      |                   |      |                   |      |                   |     |                   |     | Total de casos positivos |       | Total de casos negativos |       |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------|-----------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|-----|-------------------|-----|--------------------------|-------|--------------------------|-------|
|                                        | $\leq 10$                                                                  |      | $>10 \leq 10^2$ |      | $>10^2 \leq 10^3$ |      | $>10^3 \leq 10^4$ |      | $>10^4 \leq 10^5$ |      | $>10^5 \leq 10^6$ |     | $>10^6 \leq 10^7$ |     | N.º                      | %     | N.º                      | %     |
|                                        | N.º                                                                        | %    | N.º             | %    | N.º               | %    | N.º               | %    | N.º               | %    | N.º               | %   | N.º               | %   |                          |       |                          |       |
| E. coli                                | 25                                                                         | 12,8 | 6               | 3,1  | 2                 | 1,0  | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 0                 |     | 33                       | 16,9  | 162                      | 83,1  |
| Coliformes com exclusão de E. coli     | 61                                                                         | 31,3 | 19              | 9,7  | 16                | 8,2  | 2                 | 1,0  | 3                 | 1,5  | 0                 |     | 0                 |     | 101                      | 51,8  | 94                       | 48,2  |
| Enterococos                            | 44                                                                         | 22,5 | 27              | 13,8 | 43                | 22,0 | 25                | 13,0 | 2                 | 1,0  | 1                 | 0,5 | 3                 | 1,5 | 145                      | 74,4  | 50                       | 25,6  |
| Clostridium                            | 9                                                                          | 4,6  | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 0                 |     | 9                        | 4,6   | 186                      | 95,4  |
| Staphylococcus produtores de coagulase | 25                                                                         | 12,8 | 11              | 5,6  | 7                 | 3,6  | 1                 | 0,5  | 0                 |      | 0                 |     | 0                 |     | 44                       | 22,5  | 151                      | 77,5  |
| Salmonella                             | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 0                 |     | 0                        |       | 195                      | 100,0 |
| Pseudomonas                            | 1                                                                          | 0,5  | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 0                 |     | 1                        | 0,5   | 194                      | 99,5  |
| Leveduras                              | 8                                                                          | 4,1  | 23              | 11,8 | 47                | 24,1 | 66                | 33,8 | 32                | 16,4 | 12                | 6,1 | 7                 | 3,6 | 195                      | 100,0 | 0                        |       |

### Resultados dos exames microbiológicos de 92 amostras de manteiga pasteurizada s/ sal colhidas no mercado de Lisboa de 1967 a 1972

|                                        | Distribuição dos casos positivos segundo níveis de concentração microbiana |      |                 |      |                   |      |                   |      |                   |      |                   |      |                   |     | Total de casos positivos |       | Total de casos negativos |       |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------|-----------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|-----|--------------------------|-------|--------------------------|-------|
|                                        | $\leq 10$                                                                  |      | $>10 \leq 10^2$ |      | $>10^2 \leq 10^3$ |      | $>10^3 \leq 10^4$ |      | $>10^4 \leq 10^5$ |      | $>10^5 \leq 10^6$ |      | $>10^6 \leq 10^7$ |     | $>10^7 \leq 10^8$        |       | N.º                      | %     |
|                                        | N.º                                                                        | %    | N.º             | %    | N.º               | %    | N.º               | %    | N.º               | %    | N.º               | %    | N.º               | %   | N.º                      | %     |                          |       |
|                                        |                                                                            |      |                 |      |                   |      |                   |      |                   |      |                   |      |                   |     |                          |       |                          |       |
| E. coli                                | 37                                                                         | 40,2 | 4               | 4,3  | 2                 | 2,2  | 0                 |      | 1                 | 1,1  | 0                 |      | 0                 |     | 44                       | 47,8  | 48                       | 52,2  |
| Coliformes com exclusão de E. coli     | 36                                                                         | 33,1 | 7               | 7,6  | 12                | 13,0 | 9                 | 10,0 | 0                 |      | 4                 | 4,3  | 0                 |     | 68                       | 74,0  | 24                       | 26,0  |
| Enterococos                            | 18                                                                         | 19,6 | 19              | 20,7 | 16                | 17,4 | 17                | 18,5 | 4                 | 4,3  | 1                 | 1,0  | 0                 |     | 75                       | 81,5  | 17                       | 18,5  |
| Clostridium                            | 3                                                                          | 3,3  | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 3                        | 3,3   | 89                       | 96,7  |
| Staphylococcus produtores de coagulase | 5                                                                          | 5,5  | 3               | 3,3  | 2                 | 2,2  | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 10                       | 11,0  | 82                       | 89,0  |
| Salmonella                             | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 0                        |       | 92                       | 100,0 |
| Pseudomonas                            | 8                                                                          | 8,7  | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 8                        | 8,7   | 84                       | 91,3  |
| Leveduras                              | 4                                                                          | 4,3  | 2               | 2,2  | 18                | 19,6 | 24                | 26,1 | 21                | 22,8 | 18                | 19,6 | 4                 | 4,3 | 92                       | 100,0 | 0                        |       |

QUADRO N.º 3

Resultados dos exames microbiológicos de 21 amostras de manteiga pasteurizada 1/2 sal, colhidas no mercado de Lisboa e analisadas de 13/9 a 14/12 de 1972

|                                        | Distribuição dos casos positivos segundo níveis de concentração microbiana |      |                 |      |                   |      |                   |      |                   |     | Total de casos positivos |     | Total de casos negativos |       |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------|-----------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|-----|--------------------------|-----|--------------------------|-------|
|                                        | $\leq 10$                                                                  |      | $>10 \leq 10^2$ |      | $>10^2 \leq 10^3$ |      | $>10^3 \leq 10^4$ |      | $>10^4 \leq 10^5$ |     | $>10^5 \leq 10^6$        |     | N.º                      | %     |
|                                        | N.º                                                                        | %    | N.º             | %    | N.º               | %    | N.º               | %    | N.º               | %   | N.º                      | %   |                          |       |
| E. coli                                | 2                                                                          | 9,5  | 2               | 9,5  | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 0                        |     | 4                        | 19,1  |
| Coliformes com exclusão de E. coli     | 4                                                                          | 19,1 | 4               | 19,1 | 2                 | 9,5  | 0                 |      | 2                 | 9,5 | 0                        |     | 12                       | 57,2  |
| Enterococos                            | 4                                                                          | 19,1 | 7               | 33,3 | 8                 | 38,1 | 2                 | 9,5  | 0                 |     | 0                        |     | 21                       | 100,0 |
| Clostridium                            | 1                                                                          | 4,7  | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 0                        |     | 1                        | 4,7   |
| Staphylococcus produtores de coagulase | 0                                                                          |      | 0               |      | 1                 | 4,7  | 0                 |      | 0                 |     | 0                        |     | 1                        | 4,7   |
| Salmonella                             | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 0                        |     | 0                        |       |
| Pseudomonas                            | 1                                                                          | 4,7  | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 0                        |     | 1                        | 4,7   |
| Leveduras                              | 0                                                                          |      | 3               | 14,3 | 6                 | 28,6 | 8                 | 38,1 | 2                 | 9,5 | 2                        | 9,5 | 21                       | 100,0 |
|                                        |                                                                            |      |                 |      |                   |      |                   |      |                   |     |                          |     | 20                       | 95,3  |
|                                        |                                                                            |      |                 |      |                   |      |                   |      |                   |     |                          |     | 21                       | 100,0 |
|                                        |                                                                            |      |                 |      |                   |      |                   |      |                   |     |                          |     | 20                       | 95,3  |
|                                        |                                                                            |      |                 |      |                   |      |                   |      |                   |     |                          |     | 20                       | 95,3  |

## QUADRO N.º 4

Resultados dos exames microbiológicos de 36 amostras de manteiga pasteurizada s/sal colhidas no mercado de Lisboa e analisadas de 13/9 a 14/12 de 1972

|                                        | Distribuição dos casos positivos segundo níveis de concentração microbiana |      |                 |      |                   |      |                   |      |                   |      |                   |      |                   |     |     |       | Total de casos positivos |       | Total de casos negativos |  |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------|-----------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|-----|-----|-------|--------------------------|-------|--------------------------|--|
|                                        | $\leq 10$                                                                  |      | $>10 \leq 10^2$ |      | $>10^2 \leq 10^3$ |      | $>10^3 \leq 10^4$ |      | $>10^4 \leq 10^5$ |      | $>10^5 \leq 10^6$ |      | $>10^6 \leq 10^7$ |     | N.º | %     | N.º                      | %     |                          |  |
|                                        | N.º                                                                        | %    | N.º             | %    | N.º               | %    | N.º               | %    | N.º               | %    | N.º               | %    | N.º               | %   |     |       |                          |       |                          |  |
|                                        |                                                                            |      |                 |      |                   |      |                   |      |                   |      |                   |      |                   |     |     |       |                          |       |                          |  |
| E. coli                                | 10                                                                         | 27,8 | 7               | 19,4 | 2                 | 5,5  | 1                 | 2,8  | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 20  | 55,5  | 16                       | 44,5  |                          |  |
| Coliformes com exclusão de E. coli     | 8                                                                          | 22,2 | 4               | 11,1 | 4                 | 11,1 | 9                 | 25,0 | 0                 |      | 4                 | 11,1 | 0                 |     | 29  | 80,5  | 7                        | 19,5  |                          |  |
| Enterococos                            | 2                                                                          | 5,5  | 10              | 22,8 | 9                 | 25,0 | 8                 | 22,2 | 5                 | 14,0 | 2                 | 5,5  | 0                 |     | 36  | 100,0 | 0                        |       |                          |  |
| Clostridium                            | 1                                                                          | 2,7  | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 1   | 2,7   | 35                       | 97,3  |                          |  |
| Staphylococcus produtores de coagulase | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 0   |       | 36                       | 100,0 |                          |  |
| Salmonella                             | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 0   |       | 36                       | 100,0 |                          |  |
| Pseudomonas                            | 3                                                                          | 8,3  | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |     | 3   | 8,3   | 33                       | 91,7  |                          |  |
| Leveduras                              | 0                                                                          |      | 1               | 2,8  | 9                 | 25,0 | 8                 | 22,2 | 7                 | 19,4 | 10                | 27,8 | 1                 | 2,8 | 36  | 100,0 | 0                        |       |                          |  |

QUADRO N.º 5

Resultados dos exames microbiológicos de 16 amostras de manteiga pasteurizada 1/2 sal colhidas directamente num armazém duma fábrica

|                                        | Distribuição dos casos positivos segundo níveis de concentração microbiana |      |                 |      |                   |      |                   |      |                   |      | Total de casos positivos |     | Total de casos negativos |       |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------|-----------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|--------------------------|-----|--------------------------|-------|
|                                        | $\leq 10$                                                                  |      | $>10 \leq 10^2$ |      | $>10^2 \leq 10^3$ |      | $>10^3 \leq 10^4$ |      | $>10^4 \leq 10^5$ |      | $>10^5 \leq 10^6$        |     | N.º                      | %     |
|                                        | N.º                                                                        | %    | N.º             | %    | N.º               | %    | N.º               | %    | N.º               | %    | N.º                      | %   |                          |       |
| E. coli                                | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                        |     | 16                       | 100,0 |
| Coliformes com exclusão de E. coli     | 1                                                                          | 6,3  | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                        |     | 15                       | 93,7  |
| Enterococos                            | 11                                                                         | 68,7 | 2               | 12,5 | 1                 | 6,3  | 0                 |      | 0                 |      | 0                        |     | 14                       | 87,5  |
| Clostridium                            | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                        |     | 16                       | 100,0 |
| Staphylococcus produtores de coagulase | 3                                                                          | 18,7 | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                        |     | 3                        | 18,7  |
| Salmonella                             | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                        |     | 16                       | 100,0 |
| Pseudomonas                            | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                        |     | 16                       | 100,0 |
| Leveduras                              | 0                                                                          |      | 0               |      | 8                 | 50,0 | 5                 | 31,3 | 2                 | 12,5 | 1                        | 6,3 | 16                       | 100,0 |

QUADRO N.º 6

Resultados dos exames microbiológicos de 14 amostras de manteiga pasteurizada s/sal, colhidas directamente num armazém duma fábrica

|                                        | Distribuição dos casos positivos segundo níveis de concentração microbiana |      |                 |      |                   |      |                   |      |                   |      | Total de casos positivos |       | Total de casos negativos |       |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------|-----------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|--------------------------|-------|--------------------------|-------|
|                                        | $\leq 10$                                                                  |      | $>10 \leq 10^2$ |      | $>10^2 \leq 10^3$ |      | $>10^3 \leq 10^4$ |      | $>10^4 \leq 10^5$ |      | N.º                      | %     | N.º                      | %     |
|                                        | N.º                                                                        | %    | N.º             | %    | N.º               | %    | N.º               | %    | N.º               | %    |                          |       |                          |       |
|                                        |                                                                            |      |                 |      |                   |      |                   |      |                   |      |                          |       |                          |       |
| E. coli                                | 1                                                                          | 7,1  | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 1                        | 7,1   | 13                       | 92,9  |
| Coliformes com exclusão de E. coli     | 4                                                                          | 28,6 | 1               | 7,1  | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 5                        | 35,7  | 9                        | 64,3  |
| Enterococos                            | 1                                                                          | 7,1  | 6               | 42,9 | 5                 | 35,7 | 2                 | 14,3 | 0                 |      | 14                       | 100,0 | 0                        |       |
| Clostridium                            | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                        |       | 14                       | 100,0 |
| Staphylococcus produtores de coagulase | 2                                                                          | 14,3 | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 2                        | 14,3  | 12                       | 85,7  |
| Salmonella                             | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                        |       | 14                       | 100,0 |
| Pseudomonas                            | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                 |      | 0                        |       | 14                       | 100,0 |
| Leveduras                              | 1                                                                          | 7,1  | 2               | 14,3 | 6                 | 42,9 | 3                 | 21,4 | 2                 | 14,3 | 14                       | 100,0 | 0                        |       |

gem de amostras e em teores mais elevados (87,5% nas manteigas 1/2 sal e 100% nas manteigas s/sal).

Só se isolou *E. coli* nas amostras s/sal (7,1%) e os outros coliformes, com exclusão de *E. coli*, encontravam-se em 6,3% das manteigas 1/2 sal em teores inferiores a 10 col./g e em 35,7% das manteigas s/sal em contagens compreendidas entre 10 e 10<sup>2</sup> col./g.

Isolaram-se *Staphylococcus* produtores de coagulase nos dois tipos de manteiga, em teores iguais, mas em menor percentagem de amostras no tipo s/sal.

Após a permanência de um mês na geleira (quadros n.ºs 7 e 8) nota-se que as leveduras continuam a ser reveladas em 100% das amostras, evidenciando no entanto uma deslocação dos seus teores para níveis mais elevados (entre 10<sup>3</sup> e 10<sup>7</sup> col./g). Não se isolaram *Staphylococcus* produtores de coagulase nestas amostras.

Das 14 amostras de um mesmo lote (quadro n.º 9), 13 revelaram a presença de *E. coli* em concentrações que atingiram valores superiores a 10<sup>2</sup> col./g. Outros coliformes e enterococos foram encontrados em 100% das amostras com valores de concentração elevados, o mesmo acontecendo no que se refere a leveduras.

Este lote, que, como se disse, foi escolhido ao acaso, apresentou regularmente, nas diferentes amostras, características higiénicas nitidamente deficientes e distintas das encontradas nos outros lotes do mesmo produtor. A uniformidade dos resultados evidencia que a deficiente qualidade higiénica é inerente ao lote e não devida a contaminação ocasional ocorrida em algumas embalagens.

Considerando os objectivos que motivaram este estudo, no que se refere às características higiénicas, os quadros n.ºs 1, 2, 3 e 4 e os gráficos n.ºs 1 e 2 permitem comparar a produção durante um período de 5 anos com a produção na actualidade. Verifica-se, como já foi referido, que não houve melhoria na qualidade higiénica e que a presença de *E. coli* em 1 grama de manteiga não é rara. A análise do gráfico n.º 1 revela, para *E. coli*, outros Coliformes, Enterococos e *Pseudomonas*, uma percentagem de casos ligeiramente superior nas amostras analisadas no período de Setembro-Dezembro de 1972, mas evidencia uma diminuição na percentagem de amostras com *Staphylococcus*. Este facto pode ser accidental

ou pode sugerir a observância de um «controle» mais cuidadoso dos manipuladores portadores destes germes.

Quanto à influência do sal nas características higiénicas da manteiga, tanto dos quadros n.ºs 1, 2, 3 e 4, como dos gráficos n.ºs 3 e 4, se infere da sua acção conservante. As percentagens de amostras positivas revelam-se maiores nas manteigas s/sal, excepto em relação a *Staphylococcus*, o que está de acordo com a sua marcada tolerância para concentrações elevadas de cloreto de sódio e possivelmente, com a menor concorrência biológica por parte de microrganismos sensíveis à acção inibidora do sal.

Para as leveduras, nos gráficos n.ºs 5 e 6 verifica-se que a maior percentagem de amostras de manteiga 1/2 sal apresenta teores inferiores a 10<sup>4</sup>, enquanto que as manteigas s/sal têm maior percentagem de amostras com contagens superiores a 10<sup>4</sup>, chegando a atingir teores entre 10<sup>7</sup> e 10<sup>8</sup>.

Embora a presença de *Pseudomonas* tenha sido raramente verificada, estes germes foram revelados em maior percentagem de amostras de manteiga s/sal. Transmitidas à manteiga através da água de lavagem ou de equipamento em más condições higiénicas, a sua presença é sempre indesejável. Com efeito, trata-se de germes lipolíticos, cujas enzimas permanecem activas mesmo após a destruição das células vivas pelo calor. Algumas espécies actuam sobre o diacetilo, tornando a manteiga insípida, e certas espécies, como *Pseudomonas putrefaciens*, conferem-lhe uma tonalidade superficial anormal e um odor desagradável.

O elevado teor em leveduras das manteigas estudadas é uma realidade. Os quadros e gráficos n.ºs 7 e 8 confirmam a característica psicrófila de muitos destes microrganismos. Após um mês de permanência na geleira a +7° C, o teor em leveduras aumentou nos dois tipos de manteiga, atingindo níveis elevados em maior percentagem de amostras e deixando de se encontrar teores inferiores a 10<sup>3</sup>.

Tratando-se de germes muitas vezes psicrófilos, tanto a fase de latência, como a fase de multiplicação activa são prolongadas. O teor da manteiga em leveduras está, portanto, na dependência do grau de contaminação inicial, do tempo de conservação e da temperatura a que esta se processa. É possível que para teores mais baixos na produção, estes elevados níveis em leveduras não sejam atingidos durante a permanência a cerca



## QUADRO N.º 7

Resultados dos exames microbiológicos de 16 amostras de manteiga pasteurizada 1/2 sal colhidas directamente num armazém industrial e analisadas após um mês de permanência na geleira a +7° C

|                                        | Distribuição dos casos positivos segundo níveis de concentração microbiana |      |                  |      |                    |      |                    |      |                    |      |                    |      |                    |     |     |       | Total de casos positivos |       | Total de casos negativos |  |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------|------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|-----|-----|-------|--------------------------|-------|--------------------------|--|
|                                        | $\leq 10$                                                                  |      | $> 10 \leq 10^2$ |      | $> 10^2 \leq 10^3$ |      | $> 10^3 \leq 10^4$ |      | $> 10^4 \leq 10^5$ |      | $> 10^5 \leq 10^6$ |      | $> 10^6 \leq 10^7$ |     | N.º | %     | N.º                      | %     |                          |  |
|                                        | N.º                                                                        | %    | N.º              | %    | N.º                | %    | N.º                | %    | N.º                | %    | N.º                | %    | N.º                | %   |     |       |                          |       |                          |  |
|                                        |                                                                            |      |                  |      |                    |      |                    |      |                    |      |                    |      |                    |     |     |       |                          |       |                          |  |
| E. coli                                | 0                                                                          |      | 0                |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |     | 0   |       | 16                       | 100,0 |                          |  |
| Coliformes com exclusão de E. coli     | 0                                                                          |      | 1                | 6,3  | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |     | 1   | 6,3   | 15                       | 93,7  |                          |  |
| Enterococos                            | 9                                                                          | 56,2 | 4                | 25,0 | 3                  | 18,8 | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |     | 16  | 100,0 | 0                        |       |                          |  |
| Clostridium                            | 2                                                                          | 12,5 | 0                |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |     | 2   | 12,5  | 14                       | 87,5  |                          |  |
| Staphylococcus produtores de coagulase | 0                                                                          |      | 0                |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |     | 0   |       | 16                       | 100,0 |                          |  |
| Salmonella                             | 0                                                                          |      | 0                |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |     | 0   |       | 16                       | 100,0 |                          |  |
| Pseudomonas                            | 0                                                                          |      | 0                |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |     | 0   |       | 16                       | 100,0 |                          |  |
| Leveduras                              | 0                                                                          |      | 0                |      | 0                  |      | 3                  | 18,8 | 5                  | 31,2 | 7                  | 43,7 | 1                  | 6,3 | 16  | 100,0 | 0                        |       |                          |  |

QUADRO N.º 8

Resultados dos exames microbiológicos de 14 amostras de manteiga pasteurizada s/sal colhidas directamente num armazém industrial e analisadas após um mês de permanência na geladeira a +7º C

|                                        | Distribuição dos casos positivos segundo níveis de concentração microbiana |      |                  |      |                    |      |                    |      |                    |      |                    |      |                    |      | Total de casos positivos |       | Total de casos negativos |       |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------|------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------------|-------|--------------------------|-------|
|                                        | $\leq 10$                                                                  |      | $> 10 \leq 10^2$ |      | $> 10^2 \leq 10^3$ |      | $> 10^3 \leq 10^4$ |      | $> 10^4 \leq 10^5$ |      | $> 10^5 \leq 10^6$ |      | $> 10^6 \leq 10^7$ |      | N.º                      | %     | N.º                      | %     |
|                                        | N.º                                                                        | %    | N.º              | %    | N.º                | %    | N.º                | %    | N.º                | %    | N.º                | %    | N.º                | %    |                          |       |                          |       |
|                                        |                                                                            |      |                  |      |                    |      |                    |      |                    |      |                    |      |                    |      |                          |       |                          |       |
| E. coli                                | 1                                                                          | 7,1  | 0                |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 1                        | 7,1   | 13                       | 92,8  |
| Coliformes com exclusão de E. coli     | 3                                                                          | 21,4 | 2                | 14,3 | 1                  | 7,1  | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 6                        | 42,8  | 8                        | 57,2  |
| Enterococos                            | 4                                                                          | 28,6 | 3                | 21,4 | 4                  | 28,6 | 3                  | 21,4 | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 14                       | 100,0 | 0                        |       |
| Clostridium                            | 0                                                                          |      | 0                |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      |                          |       | 14                       | 100,0 |
| Staphylococcus produtores de coagulase | 0                                                                          |      | 0                |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                        |       | 14                       | 100,0 |
| Salmonella                             | 0                                                                          |      | 0                |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                        |       | 14                       | 100,0 |
| Pseudomonas                            | 0                                                                          |      | 0                |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                  |      | 0                        |       | 14                       | 100,0 |
| Leveduras                              | 0                                                                          |      | 0                |      | 0                  |      | 1                  | 7,1  | 5                  | 35,7 | 6                  | 42,8 | 2                  | 14,3 | 14                       | 100,0 | 0                        |       |

**QUADRO N.º 9**  
**Resultados dos exames microbiológicos de 14 amostras de manteiga pasteurizada 1/2 sal dum mesmo lote colhidas directamente num armazém Industrial**

|                                        | Distribuição dos casos positivos segundo níveis de concentração microbiana |      |                 |      |                   |      | Total de casos positivos |       | Total de casos negativos |       |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------|-----------------|------|-------------------|------|--------------------------|-------|--------------------------|-------|
|                                        | $\leq 10$                                                                  |      | $>10 \leq 10^2$ |      | $>10^2 \leq 10^3$ |      | $>10^3 \leq 10^4$        |       | N.º                      | %     |
|                                        | N.º                                                                        | %    | N.º             | %    | N.º               | %    | N.º                      | %     |                          |       |
| E. coli                                | 9                                                                          | 64,2 | 2               | 14,3 | 2                 | 14,3 | 0                        | 92,8  | 13                       | 7,2   |
| Coliformes com exclusão de E. coli     | 0                                                                          |      | 6               | 42,9 | 8                 | 57,1 | 0                        | 100,0 | 14                       | 0     |
| Enterococos                            |                                                                            |      |                 |      |                   |      | 14                       | 100,0 | 14                       | 0     |
| Clostridium                            | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                        |       | 0                        | 100,0 |
| Staphylococcus produtores de coagulase | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                        |       | 0                        | 100,0 |
| Salmonella                             | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                        |       | 0                        | 100,0 |
| Pseudomonas                            | 0                                                                          |      | 0               |      | 0                 |      | 0                        |       | 0                        | 100,0 |
| Leveduras                              | 0                                                                          |      | 3               | 21,4 | 11                | 78,6 | 0                        | 100,0 | 14                       | 0     |

Gráficos comparativos das percentagens de positividade no total das amostras analisadas num período de 5 anos e nas analisadas de Setembro a Dezembro de 1972

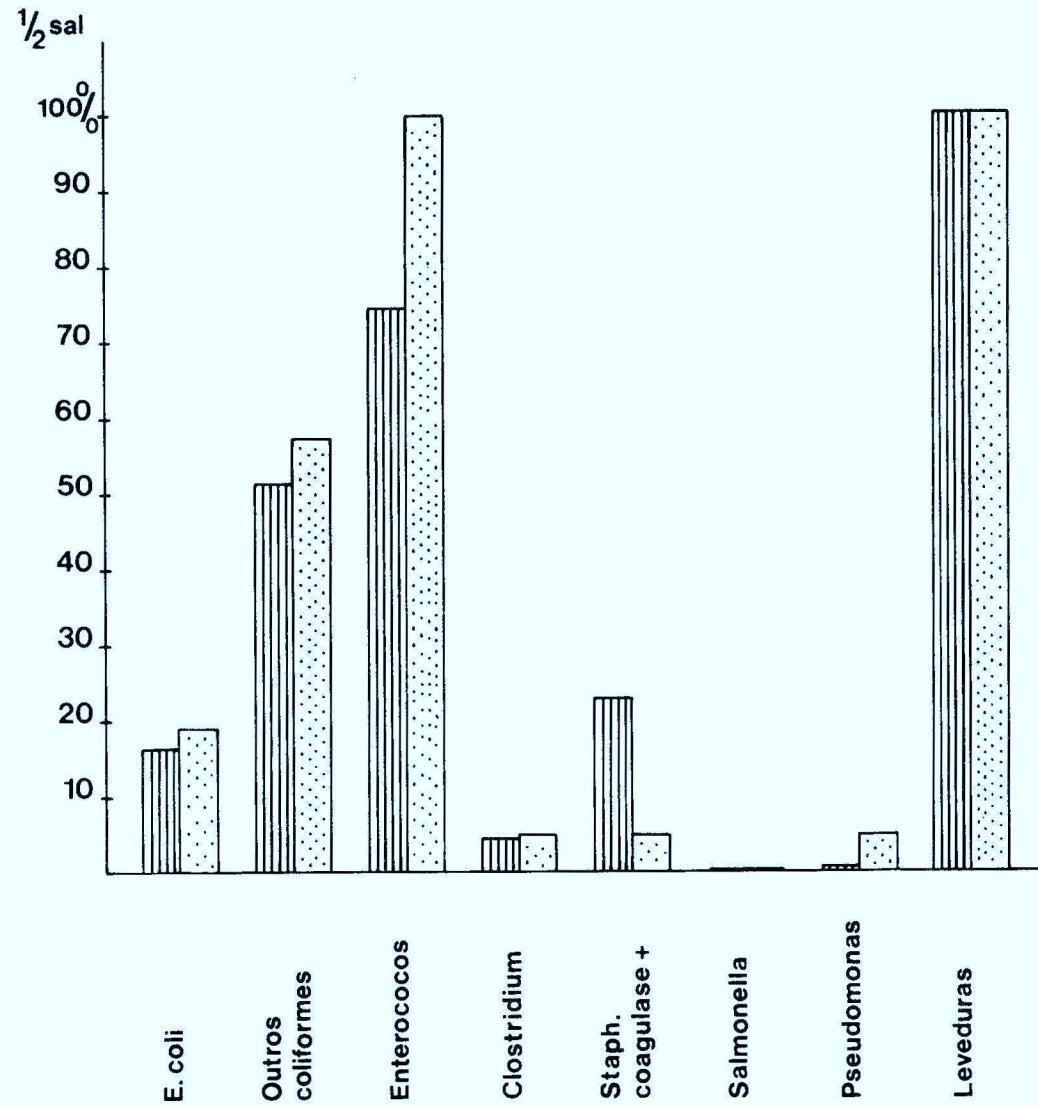


Gráfico nº 1

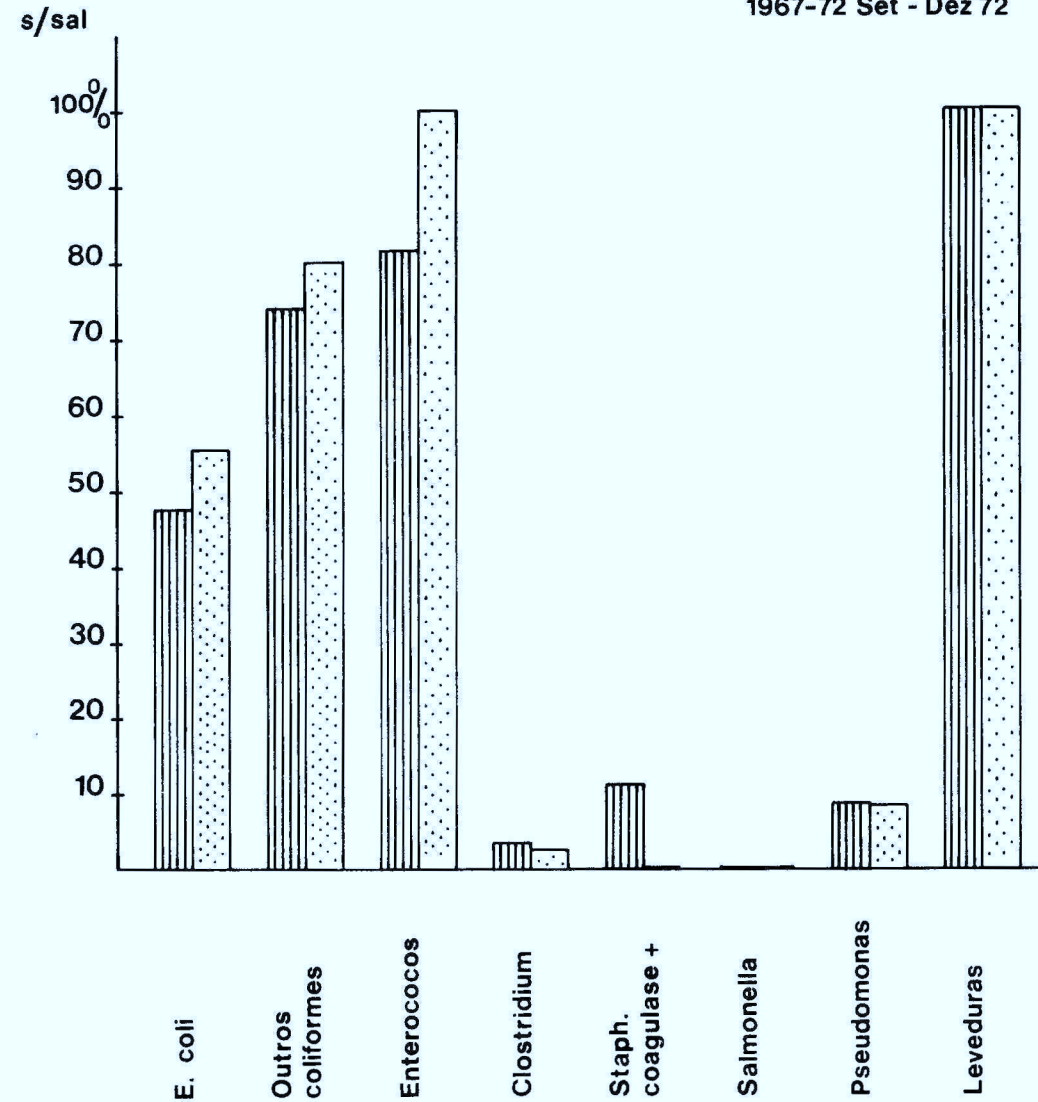


Gráfico nº 2

1967-72 Set - Dez 72

Gráfico comparativo das percentagens de positividade no total das amostras dos dois tipos de manteiga (195 1/2 sal e 92 s/sal)

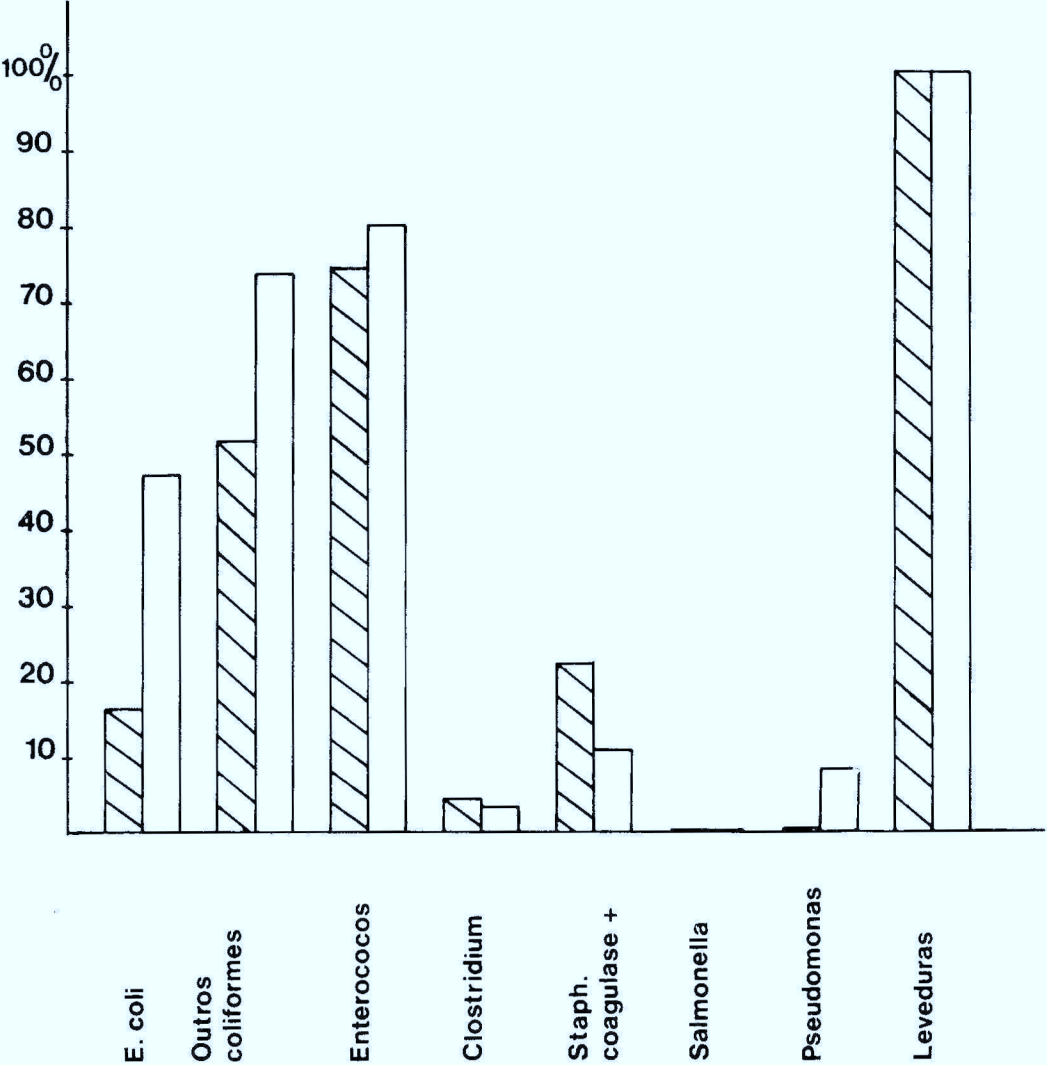


Gráfico nº 3

Gráfico comparativo das percentagens de positividade nas amostras analisadas de Setembro-Dezembro 1972 (21 1/2 sal e 36 s/sal)

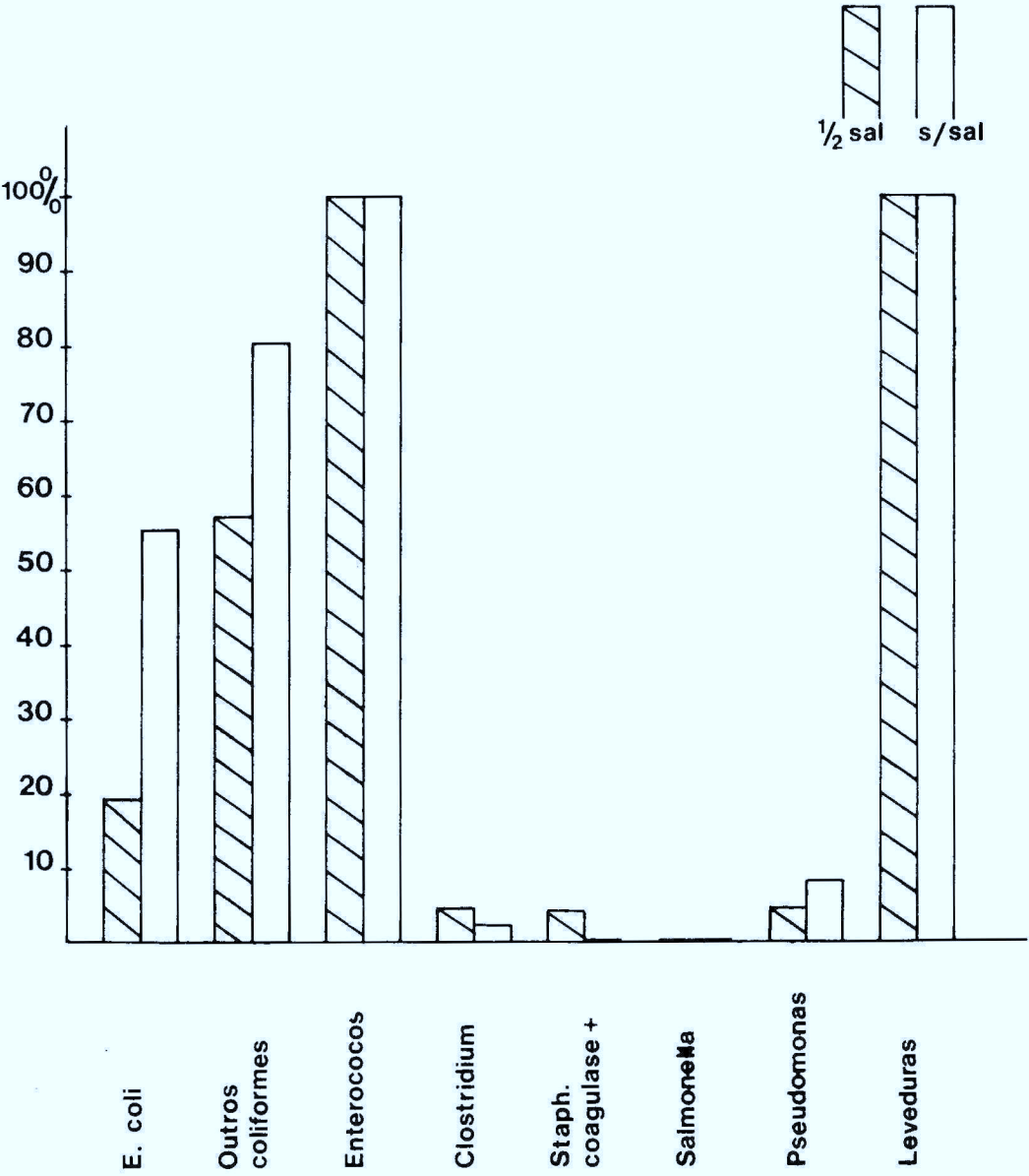


Gráfico nº 4

Gráfico comparativo das percentagens de positividade de leveduras nos diferentes níveis,  
no total das amostras dos 2 tipos de manteigas (195  $\frac{1}{2}$  sal e 92 s/sal)

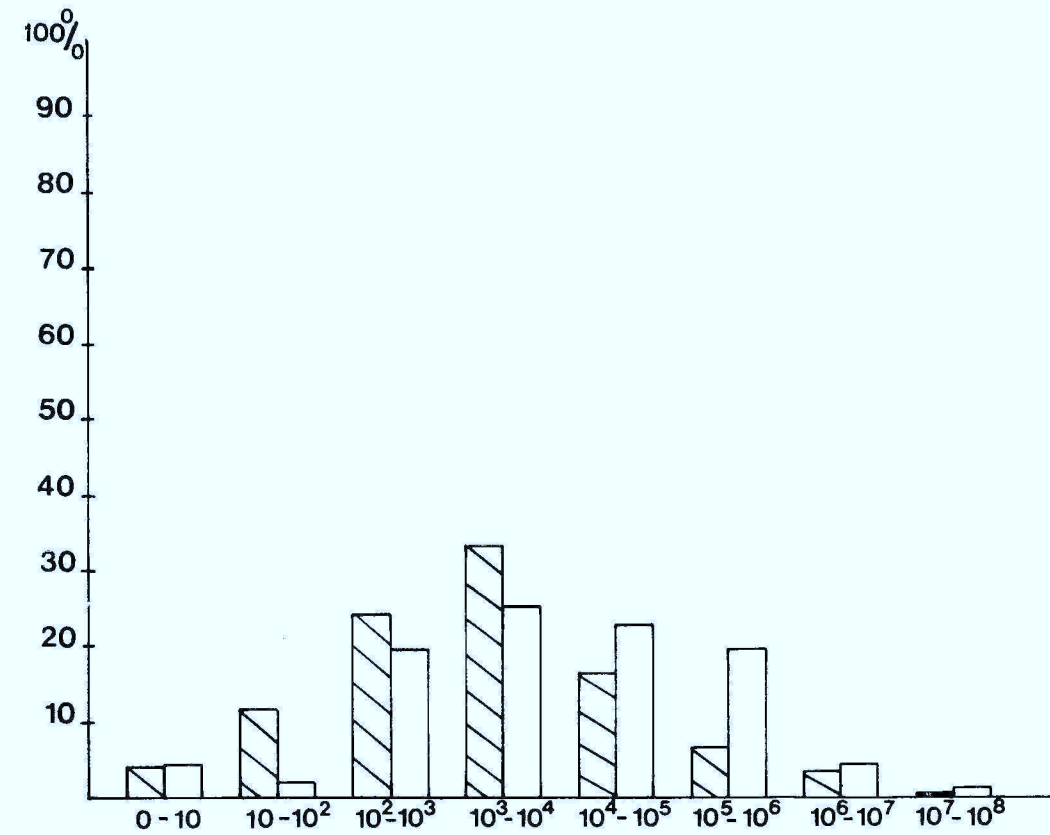


Gráfico nº 5

Gráfico comparativo das percentagens de positividade de leveduras nos diferentes níveis,  
nas amostras analisadas de Setembro-Dezembro 1972 (21  $\frac{1}{2}$  sal e 92 s/sal)

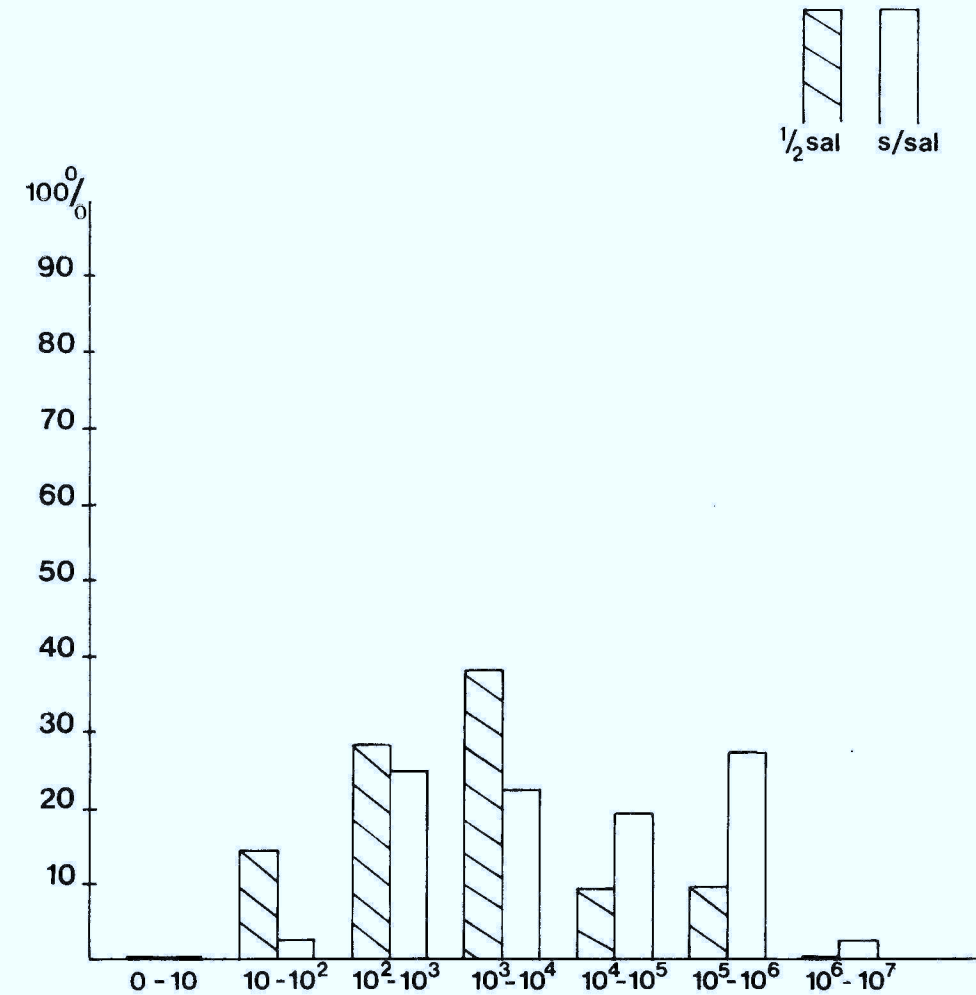


Gráfico nº 6

Gráfico comparativo das percentagens de positividade de leveduras nos diferentes níveis, nas amostras dos 2 tipos de manteiga obtidas num armazém fabril (16 1/2 sal e 14 s/sal)

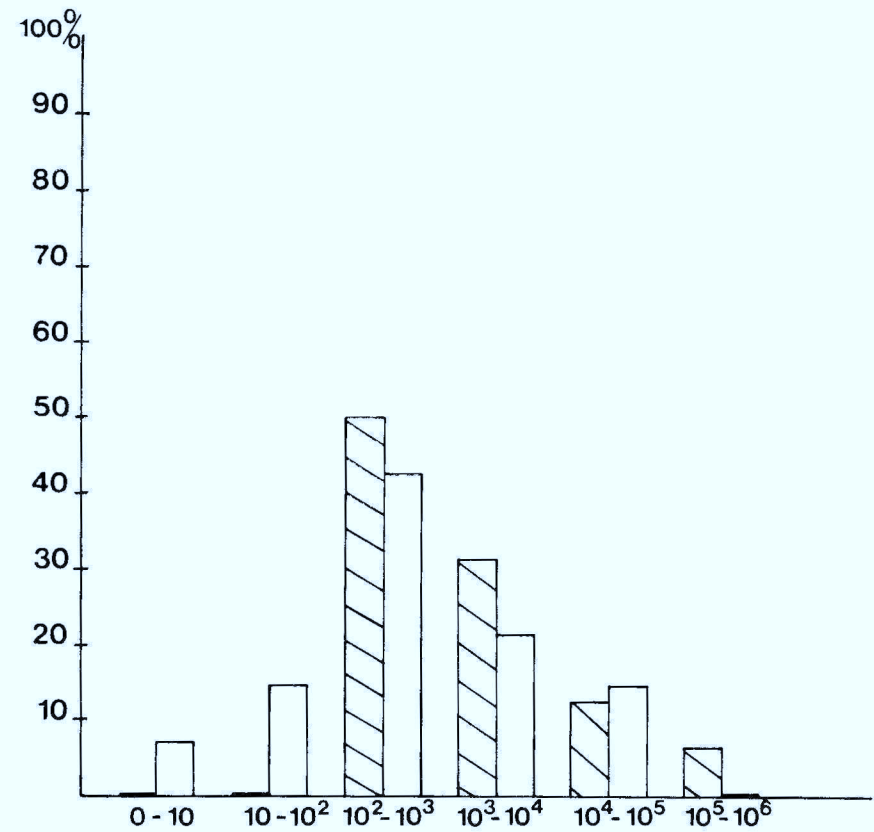


Gráfico nº 7

Gráfico comparativo das percentagens de positividade de leveduras nos diferentes níveis, nas amostras dos 2 tipos de manteiga obtidas num armazém fabril e mantidas no Laboratório durante 1 mês à temperatura de + de 7° C (16 1/2 sal e 14 s/ sal)

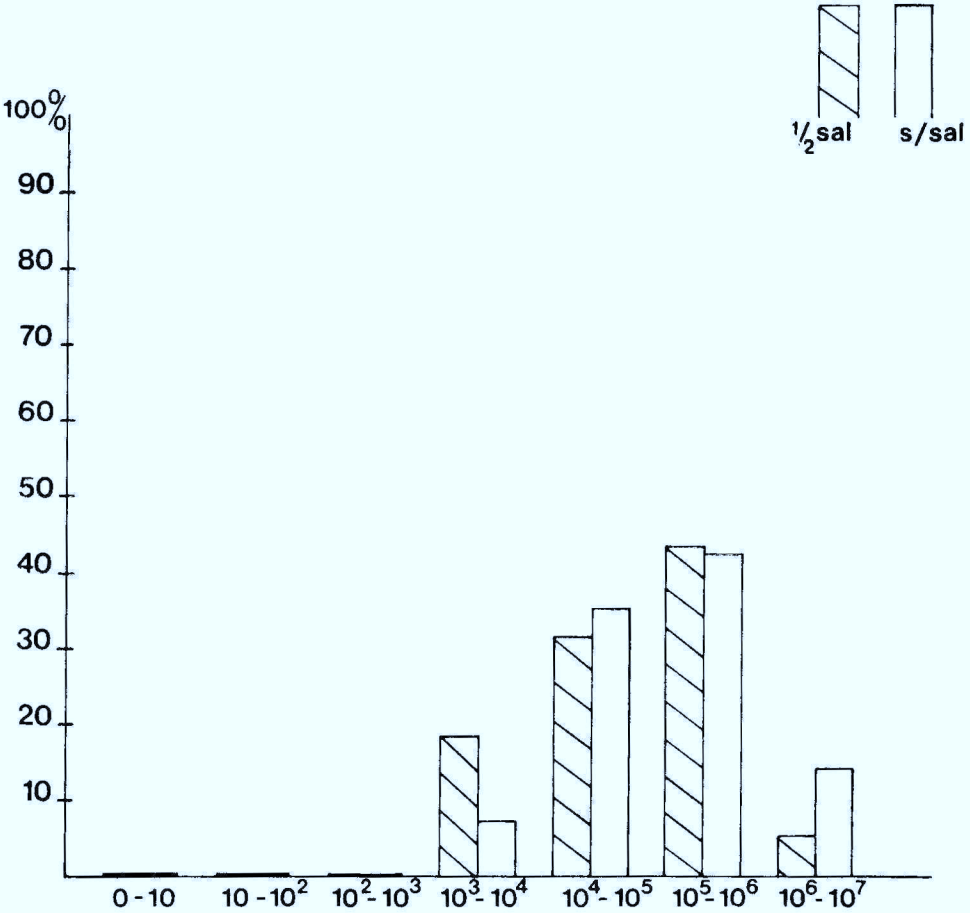


Gráfico nº 8

de  $+7^{\circ}\text{C}$  e, nesse caso, a indústria conseguirá facilmente manter teores aceitáveis no mercado retalhista, desde que imponha rigorosa higienização no ambiente de fabrico — diminuindo assim o grau de contaminação inicial — e adopte normas de conservação, em temperatura e tempo, adequadas. Segundo FRAZIER (1967), a temperatura de conservação, tanto durante o período de armazenagem fabril, como durante a permanência nos balcões frigoríficos do retalhista, deveria ser inferior a  $+7^{\circ}\text{C}$ . Este autor refere como temperatura óptima de conservação da manteiga a de  $-17,8^{\circ}\text{C}$ , à qual se não processa qualquer crescimento microbiano.

A qualidade higiénica da produção industrial de alimentos está na dependência directa de vários factores, de entre os quais se salientam os seguintes:

- qualidade higiénica da matéria-prima;
- higiene de fabrico;
- condições de conservação no armazém e no retalhista.

A qualidade higiénica da matéria-prima é fundamental. O recurso a leite proveniente de animais de trabalho de pequenas herdades da província, onde nem todos os animais estão sob «contrôle» veterinário, onde os hábitos de higiene são muitas vezes precários e as ordenhas decorrem sem os cuidados de higiene devidos, ocasiona a obtenção de um produto com elevado teor microbiano, cujo transporte para os locais fabris nem sempre é feito sob refrigeração adequada. Sabe-se que a pasteurização de um produto muito contaminado, mesmo efectuada correctamente, não pode conduzir a um produto final de qualidade higiénica conveniente. Nas fábricas de lacticínios processa-se ainda uma selecção, sendo o leite e natas de melhor qualidade higiénica pasteurizados para consumo directo e os de piores características higiénicas destinados à obtenção de subprodutos entre os quais se situa a manteiga.

Por outro lado, parte da indústria não dispõe ainda de uma produção de concepção actualizada, quer do ponto de vista tecnológico quer do ponto de vista de higiene do fabrico, em instalações equipadas com material apropriado, devidamente higienizadas e situadas em locais adequados, escolhidos sob conselho de consultores sanitários competentes.

Estes factores podem explicar, por vezes, a contaminação anormal de um dado lote de fabrico, como a observada com as amostras cujos resultados analíticos são mencionados no quadro n.º 9.

Não dispõe a nossa legislação de normas oficiais que permitam a apreciação higieno-sanitária de todos os produtos alimentares. Essa apreciação torna-se cada vez mais necessária, não só para satisfazer as exigências crescentes no campo da Saúde Pública, como para orientar a indústria nacional para uma produção que, satisfazendo as normas impostas pelos países sanitariamente mais avançados, lhe permita competir no mercado internacional.

Na maioria dos países da Europa, a legislação propõe como índices de apreciação da qualidade higiénica, para produtos pasteurizados, valores que se aproximam dos seguintes:

|                           |   |                  |
|---------------------------|---|------------------|
| <i>E. coli</i>            | — | 0/g              |
| Coliformes                | — | 0 ou 10/g        |
| <i>Staphylococcus</i>     | — | 0 ou 10/g        |
| <i>Salmonella</i>         | — | ausência em 50/g |
| Outros germes patogénicos | — | ausência em 1/g  |
| Leveduras                 | — | $\leq 100/g$     |

Duma maneira geral as legislações não fazem referência a enterococos. Os *Streptococcus* do grupo D encontram-se muito frequentemente em teores elevados em grande número de alimentos, sendo muitas vezes difícil atribuir-se-lhes significado higieno-sanitário. Enquanto que para a água de abastecimento há acordo quanto à valorização da sua presença, nos alimentos que fornecem bom substrato para a sua multiplicação, a grande ubiquidade destes microrganismos, a sua capacidade de resistência a condições hostis e a possibilidade de se multiplicarem entre limites de temperatura muito afastados ( $+10$  a  $+60^{\circ}\text{C}$ ) explicam, talvez, a hesitação dos legisladores em valorizar a sua presença quando não se encontram simultaneamente coliformes em teores significativos.

O INSA inicia com este estudo a divulgação de uma série de dados com que se procura fornecer aos órgãos competentes informação concreta que possa contribuir para uma legislação adequada às possibilidades da indústria nacional e simultaneamente às exigências internacionais.



## AGRADECIMENTO

Os nossos reconhecidos agradecimentos:

- às empresas industriais que nos facilitaram a aquisição de amostras;
- ao Sr. Dr. Inácio dos Santos, pela bibliografia que pôs à nossa disposição;

- às nossa colaboradoras, Dr.<sup>as</sup> Maria do Rosário Laranjeira, Dr.<sup>a</sup> Maria José Gomes e Maria Amélia Paiva, pela sua colaboração técnica;
- à Dr.<sup>a</sup> Adriana de Figueiredo, pela revisão crítica.

## BIBLIOGRAFIA

- Beerens, H. — Amélioration des techniques d'étude et d'identification des bactéries anaérobies. *Annales de l'Institut Pasteur de Lille*, VI: 36-47, 1953.
- Beerens, H. e Tahon-Castel, M. — Infections humaines à bactéries anaérobies non toxigènes. Presses Académiques Européennes, Bruxelles, 1965.
- Buttiaux, R. — Corps gras. *Revue française*, 9: 1962.
- Cogitore, A. — Traité Pratique de Réglementation Laitière, Laites et Produits Laitiers. A. Cogitore, Epinal.
- Dehove, A. R. — La Réglementation des Produits Alimentaires et non Alimentaires et la Répression des Fraudes et Contrôle de la Qualité, Commercio-Éditions. Paris, 1967.
- Fleischmann, W. — Tratado de Lecheria. Trad. ad 6.<sup>a</sup> ed. alemã. Editorial Gustavo Gili, Barcelona, 1945.
- Frazier, C. W. — Food Microbiology. 2.<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill Book Company, N. Y., 1967.
- Longrée, K. — Quantify Food Sanitation. Interscience Publishers, N. Y., 1967.
- Mossel, D. A. A. — L'examen microbiologique des beurres et des margarines. *Annales de l'Institut Pasteur de Lille*, XIII: 165-177, 1962.

# APLICAÇÃO DA CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA (CGL) AO ESTUDO DA GORDURA DE ALGUNS CACAUS E CHOCOLATES DO MERCADO NACIONAL

Beatriz Charters Monteiro<sup>1</sup>

## ABSTRACT

*This is a qualitative and quantitative study of the fatty acids of the cocoa and chocolates, available in the Portuguese market. Through the determination and the relation of these same acids, it is possible to detect any adulterations that the cocoa and chocolates can present.*

## 1. INTRODUÇÃO

A gordura de cacau é correntemente apreciada, quanto à sua genuinidade e pureza, por um certo número de índices — p. fusão, índ. sapon., índ. iodo, índ. refr. — que não dão a sua composição em ácidos gordos. Esta composição, cujo conhecimento se considera, todavia, indispensável para o efeito, era até há pouco mal conhecida, por falta de métodos com a sensibilidade necessária para a determinação de todos os seus constituintes. A CGL, técnica de uso relativamente recente, que se revelou um poderoso meio de investigação dos corpos gordos, uma vez que permite determinar qualitativa e quantitativamente todos os ácidos gordos constituintes dos glicéridos, veio, porém, resolver este problema, com notáveis vantagens de precisão, sensibilidade e rapidez (1). A sua aplicação neste campo reveste-se do maior interesse, dado, que, em

virtude do seu alto preço, o cacau é com frequência sujeito a adulterações, por substituição total ou parcial da gordura por gorduras estranhas de mais baixo preço. A detecção destas falsificações é, por vezes, difícil, pela simples apreciação dos valores dos índices clássicos, mas pode ser posta em evidência pela aplicação da CGL. Assim, a incorporação de gorduras à base de palmiste e coco é facilmente apreciada pela existência de ácidos gordos com baixo número de átomos de carbono, que não entram na composição da gordura de cacau; a incorporação de outras gorduras mais semelhantes à do cacau pode ser detectada pelos valores das relações  $C_{16}/C_{18:1}$  e  $C_{18:1}/C_{18}$  que, no caso da gordura de cacau, são ambas vizinhas de um. Se alguma dúvida persiste, deve recorrer-se à análise dos esteróis (2).

A apreciação da pureza da gordura de cacau e seus derivados, exige, pois, o conhecimento

<sup>1</sup> Assistente, Laboratório de Química Sanitária, Instituto Nacional de Saúde — Lisboa.

da composição desta gordura em ácidos gordos, ou seja, os valores extremos e o valor médio da percentagem de cada um deles. Sendo a técnica de CGL de aplicação recente, são escassos na bibliografia os trabalhos neste campo, pelo que se dispõe ainda de um número reduzido de valores.

Por outro lado, o Comité de peritos do CODEX ALIMENTARIUS, reunido em Lucerne, de 29 de Junho a 3 de Julho de 1970 pediu, a cada delegação presente, para realizar um estudo de cacaos, efectuando as análises que julgasse mais aconselháveis. O Comité decidiu manter as normas provisórias, adoptadas actualmente, até que os vários governos fornecessem as indicações pedidas. Isto dará ao Comité a possibilidade de continuar não só a examinar as normas como ao mesmo tempo de proceder a modificações necessárias.

O objectivo deste trabalho foi utilizar a CGL na determinação qualitativa e quantitativa dos ácidos gordos constituintes das gorduras dos cacaos e chocolates do nosso mercado, com o fim de avaliar o seu grau de pureza e, no caso de possíveis adulterações, determinar quais as gorduras utilizadas para esse fim.

## 2. MATERIAL

Efectuaram-se análises de 70 amostras de cacaos e seus derivados, adquiridos no mercado de Lisboa ou amavelmente cedidos pelos fabricantes, tendo havido a preocupação de abranger o maior número possível de marcas nacionais, assim como algumas das estrangeiras mais comuns entre nós, nomeadamente:

— MANTEIGA DE CACAU: 10 amostras, 8 adquiridas no comércio, avulso, em farmácias categorizadas e duas cedidas pelas fábricas Favorita e Villares (Angola), com a garantia de se tratar de manteigas de cacau genuínas, obtidas por pressão, tal como é expresso na legislação portuguesa;

— CACAU EM PÓ: 14 amostras, 10 adquiridas no comércio, 2 avulso e 8 em embalagens de origem, das marcas Favorita, Regina, Villares, Rajá, Cadbury e Lilly's, sendo as restantes cedidas pelas fábricas Favorita e Villares;

— CHOCOLATE EM PÓ: 3 amostras adquiridas no mercado em embalagens de origem, das marcas Regina, Rajá e Lilly's;

— CHOCOLATE: 27 amostras, 17 adquiridas no mercado em embalagens de origem das

marcas Regina, Favorita, Rajá, Celeste, Valenciana, Suchard e Tobler e duas amostras cedidas pelas fábricas;

— CHOCOLATE DE LEITE: 15 amostras adquiridas no mercado em embalagens de origem das marcas Regina, Favorita, Rajá, Excelsior, Aliança, Suchard, Cadbury, Yowa, Tobler e Lindt.

## 3. MÉTODO

A aplicação da CGL à determinação dos ácidos gordos de uma gordura exige a sua extracção prévia e conveniente preparação. Descrevemos em seguida as diferentes fases do processo.

### 3.1. Extracção da gordura

A manteiga de cacau é apenas homogeneizada. A gordura dos cacaos em pó e dos chocolates em pó e em tablete, é extraída pelo éter de petróleo. A gordura é em seguida filtrada a quente por sulfato de sódio anidro, para eliminar a humidade.

### 3.2. Metilação da gordura

Dado que por um lado não é possível aplicar a CGL directamente às gorduras, essencialmente constituídas por glicéridos de P. E. elevado e que, por outro lado, o que está em causa é o conhecimento da sua composição em ácidos gordos, tem de se proceder previamente às duas operações seguintes:

— Libertação dos ácidos gordos, por saponificação dos triglicéridos;

— Conversão dos ácidos gordos livres em produtos convenientemente voláteis e aptos a serem cromatografados.

Os ésteres metílicos dos ácidos gordos são considerados como os derivados mais apropriados para o fim em vista (3).

A escolha, no nosso trabalho da técnica de P. Gianessi (4) para a metilização, foi feita após ensaios com outras técnicas propostas, como a de Francesco — metilato de sódio e metanol (5); Prevot e Barbat — metilato de sódio e metanol (6); Wolff — metanol anidro e potassa metanólica (2). Dado que os ensaios realizados mostraram comparabilidade nos resultados obtidos para a composição da gordura em ácidos gordos, damos preferência a esse método, pelas suas vantagens de simplicidade e rapidez (7).

Na técnica de Gianessi, que a seguir descrevemos, as duas etapas referidas realizam-se numa só operação:

### Transesterificação em meio alcalino

Saponifica-se em banho maria, durante meia hora, 5 ml de gordura com 10 ml de uma solução de potassa metanólica a 10%. Deixa-se arrefecer ligeiramente e juntam-se 2 ml de dimetil sulfato, gota a gota e com agitação constante, mergulhando repetidamente o fundo do balão num banho a cerca de 80° C. Quando a solução turva, juntam-se 10 ml de uma solução de ácido clorídrico+metanol (1:1), sem agitar, mas volteando o balão. Decanta-se a fase líquida para um tubo de ensaio, deixa-se repousar alguns minutos e retira-se por pipetagem a camada superficial constituída pelos ésteres, que se filtram por óxido de alumínio.

Uma vez realizada a esterificação metílica, as amostras são imediatamente cromatografadas, ou quando convenha, guardadas em frigorífico até à sua utilização.

Para ajuizar da possível influência do período de conservação da gordura metilada (note-se que os ésteres não estão em ampola fechada com atmosfera inerte), nalgumas amostras os ésteres metílicos obtidos foram cromatografados a seguir à sua preparação e também após um período de 2 meses de conservação em frigorífico. Os resultados obtidos num e noutro caso foram concordantes, o que prova não ter havido influência sensível do tempo na composição qualitativa e quantitativa da gordura.

### 3.3. Cromatografia da gordura

Operámos com um cromatógrafo Perkin-Elmer F11, de ionização de chama, com registador Hitachi Perkin-Elmer 159, acoplado.

Os ésteres metílicos foram injectados por intermédio de uma microseringa Hamilton.

A obtenção dos cromatogramas obedeceu às seguintes condições de trabalho (8) (9):

— Coluna cromatográfica: de aço inoxidável com 2 m de comprimento e 1/8 pol. d. i. preenchida com material suporte chromosorb W 80-100 mesh, impregnado de 20% de succinato de dietileno glicol (DEGS);

— Temperatura do forno: 180° C;

— Temperatura do bloco de injeção: 220° C;

— Temperatura dos detectores: sensivelmente a mesma do forno;

— Pressão de entrada dos gases no cromatógrafo:

Ar comprimido: 300 ml/mn

Hidrogénio:  $\pm$  24 ml/mn

Azoto:  $\pm$  24 ml/mn (fizemos variar este fluxo de acordo com as necessidades inerentes à obtenção de bons cromatogramas);

— Sensibilidade: no início da análise  $10 \times 10^2$ . Esta sensibilidade é modificada, se necessário, durante a obtenção dos cromatogramas (caso dos picos que poderiam sair fora do papel registador);

— Velocidade do papel: 5 mm/mn;

— Tamanho da amostra: 0,05–0,1  $\mu$ l.

### 3.4. Interpretação dos cromatogramas

Consideraremos em primeiro lugar a interpretação qualitativa e em seguida a interpretação quantitativa.

#### 3.4.1. Interpretação qualitativa

A interpretação qualitativa é facilitada pela bibliografia respeitante à identificação dos picos, no nosso caso, a referente aos ésteres metílicos dos ácidos gordos (10). Além disso, a incorporação de padrões de elevado grau de pureza, pode eliminar as dúvidas resultantes de identificações imprecisas. Finalmente, recorre-se à determinação do «comprimento equivalente das cadeias», quando a identificação de um determinado pico não pode ser perfeitamente esclarecida nas condições anteriores (2).

Verifica-se experimentalmente que, usando colunas DEGS, consideradas como as mais adequadas na análise de ácidos gordos, a ordem de saída dos picos, desde o pico de referência (solvente) é, para cada série com o mesmo número de átomos de carbono, a seguinte:

- 1.º ácidos gordos ramificados
- 2.º ácidos gordos saturados
- 3.º ácidos gordos mono-insaturados
- 4.º ácidos gordos di-insaturados
- 5.º ácidos gordos tri-insaturados

Deste modo, na análise cromatográfica da gordura dos cacaus e dos chocolates com e sem leite, e atendendo às condições de trabalho anteriormente estabelecidas, a ordem de saída dos sucessivos picos é identificada como se segue:

|      |                                                      |                                        |
|------|------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1.º  | $C_6$                                                | Acido caprónico                        |
| 2.º  | $C_8$                                                | » caprilico                            |
| 3.º  | $C_{10}$                                             | » cáprico                              |
| 4.º  | $C_{10:1} + C_{11}$                                  | » decenónico + endecanónico            |
| 5.º  | $C_{12}$                                             | » láurico                              |
| 6.º  | $C_{13}$                                             | » tridecanónico                        |
| 7.º  | $C_{14}$                                             | » mirístico                            |
| 8.º  | $C_{14:1}$                                           | » tetradecanónico                      |
| 9.º  | $C_{15}$                                             | » pentadecanónico                      |
| 10.º | $C_{15:1} + C_{16}$                                  | » pentadecenoico + isohehexadecanónico |
| 11.º | $C_{16}$                                             | » palmítico                            |
| 12.º | $C_{16:1}$                                           | » palmitoleico                         |
| 13.º | $C_{17}$                                             | » heptadecanoico                       |
| 14.º | $C_{18}$                                             | » esteárico                            |
| 15.º | $C_{18:1}$                                           | » oleico                               |
| 16.º | $C_{18:2}$                                           | » linoleico                            |
| 17.º | $C_{20} + \text{ou } C_{18:3} + \text{ou } C_{20:1}$ | » araquídico/linolénico/gadoleico      |
| 18.º | $C_{22}$                                             | » behénico                             |

Note-se que os ácidos até ao mirístico, exclusivé, só estão presentes no chocolate de leite.

Acontece, por vezes, haver sobreposição de 2 ou 3 picos correspondendo a 2 ou 3 ácidos diferentes. É o caso, p. ex., dos ácidos linolénico, araquídico e gadoleico que, conforme a coluna (mesmo dentro das DEGS) e o seu tempo de uso, podem sair em picos separados ou sobrepostos. Para a resolução deste problema podemos empregar padrões internos. Realce-se ainda que, nas nossas condições de trabalho, não se obtém separação de isómeros.

#### 3.4.2. Interpretação quantitativa

Identificados nos cromatogramas os diferentes ácidos gordos, procedeu-se à determinação da percentagem de cada um deles. Não dispondo de integrador electrónico para uma medição automática, usámos o método de medição baseado nos «tempos de retenção» (11). Comparámos este método com o da triangulação, seja por inscrição do triângulo internamente à curva, seja pela sua inscrição externamente à curva, calculando ainda nos dois casos, a área a partir da base e a partir da largura a meia altura. Por terem sido concordes os resultados obtidos, a nossa escolha recaiu sobre o método dos «tempos de retenção», por nos resolver os casos de difícil triangulação como sucede com os picos muito

estreitos, picos muito juntos, ou picos de conformação irregular.

Dado que apenas considerámos percentagens de cada um dos componentes na mistura mediu-se no cromatograma a distância, em centímetros, de cada pico até à saída do pico do solvente, e a respectiva altura, também em centímetros. Para picos de ramos desiguais, tomámos como referência para a determinação da altura, o ramo maior. Por outro lado, teve-se em consideração as atenuações levadas a efeito quando tal se tornou necessário (caso dos picos que saíam fora do papel registador). O produto da distância de retenção pela altura e pela atenuação dá-nos um valor proporcional à área do pico e que corresponde à percentagem do componente na mistura. Como a soma de todas as áreas corresponde à percentagem total de 100%, fácil é conhecer as percentagens unitárias através de interpolações simples.

Para que os resultados obtidos mereçam aceitável confiança (para total confiança é necessário o integrador electrónico), a soma das percentagens unitárias deve estar compreendida no lim  $100,00 \pm 0,05$ .

O resultado final dos valores quantitativos dos ácidos gordos constituintes de cada amostra, foi fornecido após obtenção de, pelo menos, dois cromatogramas semelhantes, isto é, aqueles cujas percentagens unitárias não se desviavam muito acentuadamente umas das outras.

Assim sendo, o resultado final será a média de dois resultados parciais. Ressalva-se com a indicação de V (vestígios) aqueles picos minoritários que, revelando a presença dos respectivos ácidos, são de difícil interpretação quantitativa, e com a indicação — ? — os que, pelas distorções figurativas com que se apresentam, são também impossíveis de medir.

#### 4. RESULTADOS E APRECIACÕES

Os valores qualitativos e quantitativos dos ácidos gordos e das suas relações mais significativas constam dos quadros I a IV. Para a apreciação destes valores, vamos considerar sucessivamente os grupos:

- 4.1. MANTEIGA DE CACAU
- 4.2. CACAU EM PÓ
- 4.3. CHOCOLATE SEM LEITE
- 4.4. CHOCOLATE DE LEITE

##### 4.1. Manteiga de cacau

O comité de peritos do CODEX ALIMENTARIUS define «manteiga de cacau» como a matéria gorda obtida por um processo mecânico e/ou por meio de solventes autorizados, a partir de um ou mais dos seguintes produtos: «fêves» de cacau, cacau em grão, cacau em pasta, «tourteau» de cacau ou pó de cacau.

A legislação nacional só permite o desengorduramento do cacau por pressão mecânica.

Analisámos 10 amostras que mostraram composição semelhante. Os cromatogramas

são constituídos por 4 picos principais correspondendo aos ácidos palmítico, esteárico, oleico e linoleico. Os outros pequenos picos correspondem a diminutas quantidades de ácidos láurico, mirístico, palmitoleico, heptadecanoico, araquídico e linolénico e/ou behénico.

Os limites das percentagens encontradas por nós, para os ácidos gordos da manteiga de cacau e outras gorduras do cacau, assim como para algumas das suas relações mais significativas, estão representados no quadro A. Note-se que estas relações, entre ácidos de cadeia carbonada próxima, estão dentro de uma menor dispersão biológica do que os ácidos de «per si», sendo portanto mais significativas para a avaliação da pureza desta gordura. Assim sendo, para este estudo, pudemos comparar os valores das várias relações com os valores das relações correspondentes, determinadas em cacaos de grande pureza. Existem valores estabelecidos, que nos podem servir de referência. Assim, a dr.<sup>a</sup> M. Jesus Rubio, (10) indica as relações:

| Relações               | Lim.<br>Inf. | Lim.<br>Sup. |
|------------------------|--------------|--------------|
| Palmítico/Oleico (P/O) | 0,63         | 0,73         |
| Oleico/Esteárico (O/E) | 0,94         | 1,09         |
| Oleico/Linoleico (O/L) | 10,00        | 13,00        |

Por outro lado Woff (2) indica os valores:

|                        |     |
|------------------------|-----|
| Palmítico/Oleico (P/O) | ± 1 |
| Esteárico/Oleico (E/O) | ± 1 |

QUADRO A

| Ácidos                           | Manteiga de cacau | Cacau em pó | Chocolate em pó | Chocolate |
|----------------------------------|-------------------|-------------|-----------------|-----------|
| C <sub>12</sub> — Láurico        | 0,0—0,1           | 0,0—1,2     | 0,0—0,2         | 0,0—0,2   |
| C <sub>14</sub> — Mirístico      | 0,1—0,2           | vest.—0,8   | vest.—0,6       | vest.—0,2 |
| C <sub>16</sub> — Palmítico      | 23,0—25,5         | 21,8—28,2   | 22,6—24,1       | 21,5—28,6 |
| C <sub>16:1</sub> — Palmitoleico | 0,2—0,4           | vest.—0,5   | vest.—0,4       | vest.—0,5 |
| C <sub>17</sub> — Heptadecanoico | 0,2—0,3           | vest.—0,3   | vest.—0,4       | vest.—0,4 |
| C <sub>18</sub> — Esteárico      | 27,6—33,3         | 24,1—34,4   | 28,6—34,0       | 25,6—34,1 |
| C <sub>18:1</sub> — Oleico       | 37,7—41,2         | 37,7—42,5   | 38,2—40,2       | 35,4—39,8 |
| C <sub>18:2</sub> — Linoleico    | 3,5—5,2           | 3,7—6,0     | 3,8—4,5         | 3,4—5,9   |
| C <sub>18:3</sub> — Linolénico   | 0,1—0,3           | —           | 0,7—2,1         | 0,9—1,9   |
| C <sub>20</sub> — Araquídico     | 1,2—1,4           | —           |                 |           |
| C <sub>22</sub> — Behénico       | 0,2—0,3           | 0,0—0,4     | 0,0—0,2         | 0,0—0,3   |
| P/O — Palmítico/Oleico           | 0,6—0,7           | 0,5—0,7     | 0,6—0,7         | 0,5—0,8   |
| O/E — Oleico/Esteárico           | 1,1—1,5           | 1,2—1,8     | 1,1—1,8         | 1,0—1,5   |
| O/L — Oleico/Linoleico           | 7,8—11,0          | 6,5—10,7    | 8,9—10,1        | 6,0—11,1  |

QUADRO B

| Ácidos                           | Woidich<br>(12) | Doro<br>(13) | Purr<br>(14) | Wolff<br>(2) | M. J. Rubio<br>(10) |
|----------------------------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|---------------------|
| C <sub>12</sub> — Láurico        | 0,0 — vest.     | 0,00 — vest. | 0,01 — 0,02  | —            | 0,00 — vest.        |
| C <sub>14</sub> — Mirístico      | 0,0 — 0,20      | 0,00 — 0,20  | 0,12         | —            | 0,00 — 0,14         |
| C <sub>16</sub> — Palmítico      | 25 — 31,9       | 24 — 28      | 26,0         | 25,0 — 29,6  | 23,60 — 26,80       |
| C <sub>16:1</sub> — Palmitoleico | 0,00 — 0,80     | 0,00 — vest. | —            | 0,0 — 0,8    | 0,00 — 0,12         |
| C <sub>17</sub> — Heptadecanoico | 0,00 — vest.    | 0,00 — vest. | —            | —            | 0,00 — vest.        |
| C <sub>18</sub> — Esteárico      | 32 — 37         | 34 — 36      | 35,2         | 32,7 — 35,0  | 33,20 — 37,00       |
| C <sub>18:1</sub> — Oleico       | 33 — 38         | 34 — 36      | 36,1         | 33,0 — 34,5  | 34,90 — 37,30       |
| C <sub>18:2</sub> — Linoleico    | 2 — 4           | 2 — 3,5      | 2,6          | 2,5 — 3,8    | 2,87 — 3,38         |
| C <sub>18:3</sub> — Linolénico   | 0,00 — 0,30     | 0,00 — vest. | —            | —            | 0,00 — 0,22         |
| C <sub>20</sub> — Araquídico     | 0,00 — 1,00     | 0,00 — vest. | —            | 0,0 — 1,0    | 0,00 — vest.        |
| C <sub>22</sub> — Behénico       | 0,00 — vest.    | —            | —            | —            | —                   |

No quadro B, apresentamos os dados dos diferentes autores para a composição qualitativa e quantitativa da manteiga de cacau.

Ao compararmos estes valores com os obtidos por nós, verifica-se uma disparidade no que respeita às percentagens de ácido esteárico, que no nosso caso são mais baixas e às dos ácidos linoleico e linolénico, para os quais obtivemos valores mais altos. Assim as relações oleico/esteárico e oleico/linoleico são naturalmente afectadas. Isto pode ser devido ao método empregado na determinação quantitativa.

Se não depende da técnica de medição, pode resultar de: no que respeita ao baixo conteúdo em ácido esteárico, adição de gorduras animais, principalmente sebos, que possuem um esteárico inferior a 18%; no que respeita à alta percentagem em ácido linoleico e linolénico, adição de óleos de sementes, tais como soja, cártamo, gergelim, girassol, etc. No entanto, a constância obtida na percentagem destes valores leva-nos a admitir poder tratar-se de qualquer outro factor. Na realidade a composição da gordura do cacau pode variar segundo o clima, variedade, etc. Como já referimos antes, o cacau português não é ainda suficientemente conhecido quanto à composição dos seus glicéridos para que possamos tirar qualquer conclusão sem recorrermos previamente à análise dos esterois (15). Esta técnica, muito específica, requiere a associação da cromatografia em camada fina com a cromatografia em fase gasosa e poderá dar-nos indicações valiosas.

Afim de facilitar a interpretação dos resultados encontrados faz-se um breve resumo do significado dos diferentes ácidos gordos:

**Ácido Láurico** — se aparece em quantidade superior a simples vestígios, indica a presença duma gordura láurica, do tipo palmiste ou côco.

**Ácido Mirístico** — se aparece em quantidade apreciável, sem que apareça ácido láurico, é indicativo de adulteração com gorduras animais. Numa adulteração por gorduras láuricas apareceria também ácido láurico associado.

**Ácido Palmítico** — em grande quantidade, é indicativo de incorporação de óleo de palma.

**Ácido Esteárico** — em excesso, pode ser devido a hidrogenações ou à adição de gordura de ilipe (13), se aparece diminuído, pode ser devido à presença de gorduras animais.

**Ácido Oleico** — em quantidade superior aos limites normais, indica a presença de gergelim, avelã, etc. ou ainda a presença de gorduras poli-insaturadas, hidrogenadas.

**Ácido Linoleico** — se se encontra aumentado, pode ser devido à adição de soja, cártamo, gergelim, girassol, etc.; se se encontra diminuído, pode indicar a adição de gorduras como, sebo, palmiste, etc.

Quanto às relações oleico/esteárico, palmítico/oleico e oleico/linoleico são, como já referimos, ainda mais importantes para a detecção de adulterações. A mais significativa é, no entanto, a relação oleico/linoleico que, se se encontra aumentada, pode ser devida à incorporação de sebo, manteiga de palmiste ou de côco; se se encontra diminuída, pode ser devida à adição de óleos de sementes ou de óleo de palma.

**QUADRO 1**  
**Manteiga de cacau**  
(Composição por 100 gramas do produto)

| Amostra | Ácidos gordos   |                 |                 |                   |                 |                 |                   |                   |                 |                   |                 | Relações |      |       |
|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|----------|------|-------|
|         | C <sub>12</sub> | C <sub>14</sub> | C <sub>16</sub> | C <sub>16:1</sub> | C <sub>17</sub> | C <sub>18</sub> | C <sub>18:1</sub> | C <sub>18:2</sub> | C <sub>20</sub> | C <sub>18:3</sub> | C <sub>22</sub> | P/O      | O/E  | O/L   |
| 1       | 0,06            | 0,14            | 23,92           | 0,30              | 0,17            | 27,56           | 40,95             | 5,22              | 1,18            | 0,21              | 0,27            | 0,58     | 1,49 | 7,84  |
| 2       |                 | 0,10            | 23,61           | 0,24              | 0,20            | 30,17           | 39,62             | 4,49              | 1,18            | 0,22              | 0,18            | 0,60     | 1,31 | 8,82  |
| 3       |                 | 0,08            | 23,75           | 0,24              | 0,22            | 31,35           | 38,99             | 4,09              | 1,16            | 0,11              | ?               | 0,61     | 1,24 | 9,53  |
| 4       |                 | 0,11            | 25,47           | 0,32              | 0,23            | 29,87           | 38,27             | 4,33              | 1,21            | 0,19              | v               | 0,67     | 1,28 | 8,84  |
| 5       |                 | 0,10            | 23,56           | 0,35              | 0,24            | 28,43           | 41,18             | 4,47              | 1,21            | 0,30              | 0,16            | 0,57     | 1,45 | 9,21  |
| 6       | 0,14            | 0,16            | 25,53           | 0,30              | 0,26            | 29,60           | 38,12             | 4,14              | 1,38            | 0,23              | 0,15            | 0,67     | 1,29 | 9,21  |
| 7       |                 | 0,09            | 23,38           | 0,25              | 0,28            | 33,30           | 37,71             | 3,45              | 1,31            | 0,21              | ?               | 0,62     | 1,13 | 10,93 |
| 8       |                 | 0,09            | 23,04           | 0,21              | 0,20            | 30,06           | 40,58             | 3,98              | 1,37            | 0,31              | 0,17            | 0,57     | 1,35 | 10,20 |
| 9       | 0,09            | ?               | 24,69           | 0,23              | 0,23            | 30,79           | 38,42             | 3,94              | 1,25            | 0,19              | 0,16            | 0,64     | 1,25 | 9,75  |
| 10      |                 | 0,13            | 23,81           | 0,29              | 0,21            | 30,10           | 39,55             | 4,36              | 1,29            | ?                 | 0,26            | 0,60     | 1,31 | 9,09  |



Observando os resultados obtidos chega-se à conclusão que:

Amostra 1 — o ácido oleico e linoleico encontram-se em proporção elevada; a relação O/L, é baixa.

Nas outras amostras, as diferenças encontradas em relação aos valores dados pelos vários autores, foram referidas atrás.

### 3.2. — Cacau em pó

Analisámos 14 amostras que, como se esperava, apresentaram composição semelhante à manteiga de cacau.

A constituição em ácidos gordos e suas relações mais significativas estão representadas no quadro II.

Os limites entre os quais variam estes valores encontram-se no quadro A.

Pela observação do quadro II, verificamos as seguintes variações nas percentagens dos ácidos gordos:

Amostra 1 — alta percentagem em ácido láurico e mirístico.

Amostra 2 — alta percentagem em ácido oleico.

Amostra 3 — alta percentagem em ácidos oleico e linoleico.

Amostra 5 — alta percentagem em ácido behénico.

Amostra 6 — esta amostra, nitidamente adulterada, mostra teor superior ao normal em ácidos láurico, mirístico, oleico, linoleico e behénico, assim como presença de ácido lignocérico. As relações P/O e O/L, são baixas; pelo contrário a relação O/E, é elevada. Este cacau tem provavelmente incorporadas uma gordura do tipo láurico e óleo de amendoim.

Amostras 8 e 13 — alta percentagem em ácido linoleico.

### 3.3. — Chocolate sem leite

Analisámos 30 amostras.

A composição dos chocolates é muito variável, desde os constituídos somente por cacau e açúcar, ingredientes que entram no fabrico de todos eles, até aos que, além disso, contém leite em pó, nozes, amêndoas, etc., inteiras ou partidas. No entanto, a incorporação de frutos secos não vem geralmente modificar a composição da gordura, ou por serem adicio-

nados numa fase adiantada de fabrico, ou por serem incorporados inteiros ou em pedaços, não havendo assim a possibilidade de uma mistura detectável da gordura destes frutos, na gordura do próprio cacau.

O Comité de peritos do CODEX ALIMENTARIUS define «chocolate» como o produto homogéneo obtido por um processo apropriado de fabrico, a partir das seguintes substâncias, em proporções diversas: cacau em grão, pasta de cacau, «tortéau» de cacau, cacau em pó e açúcar, com ou sem adição de manteiga de cacau.

A constituição em ácidos gordos, encontrada por nós, está representada no quadro III, assim como as relações mais significativas entre esses ácidos. Os limites entre os quais variam estes valores, encontram-se no quadro A.

Da observação do quadro III, podemos concluir que:

Amostras 3, 21, 22, 23, 24, 25 — a adulteração é evidente, pela presença de ácidos de cadeia inferior ao láurico;

Amostra 1 — apresenta alta percentagem em ácido oleico; a relação O/L, é baixa;

Amostras 12, 15, 20 — contém alta percentagem de ácido mirístico.

Quanto ao ácido esteárico, continua a apresentar um valor mais baixo do que o dado pelos diferentes autores; o conjunto dos ácidos linolénico e araquídico, continua também a aparecer aumentado.

### 3.4. — Chocolate de leite

Interessa em primeiro lugar conhecer a gordura do leite, para a deduzir do chocolate que o contém.

O comité de peritos do CODEX ALIMENTARIUS define «chocolate de leite» como o chocolate em cuja composição entra o leite.

Acontece, porém, que no fabrico destes chocolates se utilizam diferentes classes de leite, pelo que muitos chocolates denominados «com leite» não o acusam, ou o acusam em pequenas quantidades. Também a gordura de leite varia com a raça, região, e especialmente com a alimentação do animal produtor. Assim, para que nos servisse de referência, utilizámos os valores obtidos para os ácidos gordos da gordura de leites em pó, por nós analisados. Estes valores encontram-se no Quadro C.

**QUADRO II**  
**Cacaos em pó**  
(Composição por 100 gramas da gordura)

| Amostra | Ácidos gordos   |                 |                 |                 |                   |                 |                 |                   |                   |                 |                   |                 |                 | Relações |      |       |
|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------|----------|------|-------|
|         | C <sub>10</sub> | C <sub>12</sub> | C <sub>14</sub> | C <sub>16</sub> | C <sub>16:1</sub> | C <sub>17</sub> | C <sub>18</sub> | C <sub>18:1</sub> | C <sub>18:2</sub> | C <sub>20</sub> | C <sub>18:3</sub> | C <sub>22</sub> | C <sub>24</sub> | P/O      | O/E  | O/L   |
| 1       | 0,07            | 1,20            | 0,79            | 23,47           | 0,34              | 0,27            | 28,92           | 38,46             | 4,45              | 1,58            | 0,25              | 0,20            |                 | 0,61     | 1,33 | 8,64  |
| 2       |                 | 0,02            | 0,12            | 22,13           | 0,25              | 0,19            | 29,68           | 40,96             | 4,90              | 1,35            | 0,23              | 0,19            |                 | 0,54     | 1,38 | 8,36  |
| 3       |                 | 0,09            | v               | 22,54           | 0,33              | 0,21            | 29,36           | 40,53             | 5,19              | 1,30            | 0,27              | 0,18            |                 | 0,56     | 1,38 | 7,81  |
| 4       |                 | 0,10            | v               | 24,90           | 0,32              | 0,23            | 30,33           | 39,19             | 4,23              | 1,17            | 0,23              | 0,19            |                 | 0,61     | 1,29 | 9,26  |
| 5       |                 | 0,15            | —               | 24,82           | 0,31              | 0,23            | 29,96           | 38,67             | 4,35              | 1,26            | ?                 | 0,24            | t. v.           | 0,64     | 1,29 | 8,89  |
| 6       | 0,10            | 0,14            | 0,57            | 23,58           | 0,43              | 0,26            | 24,13           | 42,53             | 5,80              | 1,44            | 0,32              | 0,40            | 0,23            | 0,55     | 1,76 | 7,33  |
| 7       |                 |                 | 0,13            | 27,08           | 0,38              | 0,19            | 27,84           | 37,82             | 4,79              |                 | 1,77              | ?               |                 | 0,72     | 1,36 | 7,90  |
| 8       |                 |                 | 0,13            | 26,39           | 0,40              | 0,18            | 25,93           | 39,23             | 6,05              |                 | 1,67              |                 |                 | 0,67     | 1,51 | 6,48  |
| 9       |                 | 0,06            | 0,18            | 28,15           | 0,37              | 0,27            | 25,75           | 39,44             | 4,13              |                 | 1,66              |                 |                 | 0,71     | 1,53 | 9,55  |
| 10      |                 |                 | 0,12            | 27,64           | 0,36              | 0,26            | 25,76           | 39,41             | 4,72              |                 | 1,53              | 0,20            |                 | 0,70     | 1,53 | 8,35  |
| 11      |                 |                 | v               | 23,47           | v                 | v               | 32,51           | 38,92             | 3,90              |                 | 1,20              |                 |                 | 0,60     | 1,20 | 9,98  |
| 12      |                 |                 | v               | 21,77           | v                 | v               | 33,69           | 39,72             | 3,72              |                 | 1,10              |                 |                 | 0,55     | 1,18 | 10,68 |
| 13      |                 |                 | 0,15            | 27,79           | 0,45              | 0,23            | 25,04           | 39,79             | 5,02              |                 | 1,53              | ?               |                 | 0,70     | 1,59 | 7,94  |
| 14      |                 |                 | v               | 22,77           | v                 | v               | 34,42           | 37,74             | 3,73              |                 | 1,34              |                 |                 | 0,60     | 1,10 | 10,12 |

**QUADRO III**  
**Chocolate (sem leite)**  
(Composição por 100 gramas da gordura)

| Amostra | Ácidos gordos  |                |                 |                 |                 |                 |                   |                 |                 |                   |                   |                 |                   |                 | Relações |      |       |
|---------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|----------|------|-------|
|         | C <sub>6</sub> | C <sub>8</sub> | C <sub>10</sub> | C <sub>12</sub> | C <sub>14</sub> | C <sub>16</sub> | C <sub>16:1</sub> | C <sub>17</sub> | C <sub>18</sub> | C <sub>18:1</sub> | C <sub>18:2</sub> | C <sub>20</sub> | C <sub>18:3</sub> | C <sub>22</sub> | P/O      | O/E  | O/L   |
|         |                |                |                 |                 |                 |                 |                   |                 |                 |                   |                   |                 |                   |                 |          |      |       |
| 1       |                |                |                 |                 | 0,13            | 24,10           | 0,27              | ?               | 28,64           | 40,21             | 4,52              | 1,38            | 0,59              | 0,16            | 0,60     | 1,40 | 8,90  |
| 2       |                |                |                 |                 | v               | 22,6'           | v                 | v               | 33,95           | 38,56             | 3,83              | 1,04            |                   |                 | 0,59     | 1,14 | 10,07 |
| 3       |                | v              | 0,15            | 0,19            | 0,57            | 23,69           | 0,38              | v               | 29,00           | 38,27             | 5,67              | 2,08            |                   |                 | 0,62     | 1,32 | 6,75  |
| 4       |                |                | v               | 0,03            | 0,20            | 26,63           | 0,43              | 0,18            | 28,99           | 35,43             | 5,92              | 1,89            |                   | 0,31            | 0,75     | 1,22 | 5,98  |
| 5       |                |                |                 |                 | 0,16            | 27,62           | 0,35              | 0,24            | 25,60           | 39,37             | 5,00              | 1,65            |                   | v               | 0,70     | 1,54 | 7,87  |
| 6       |                |                |                 |                 | 0,18            | 28,59           | 0,47              | 0,22            | 26,55           | 36,67             | 5,23              | 1,84            |                   | 0,26            | 0,78     | 1,38 | 7,01  |
| 7       |                |                |                 |                 | v               | 22,79           | v                 | v               | 32,88           | 38,96             | 4,24              | 1,13            |                   | v               | 0,58     | 1,18 | 9,19  |
| 8       |                |                |                 |                 | v               | 22,54           | v                 | v               | 33,55           | 38,84             | 4,02              | 1,04            |                   |                 | 0,58     | 1,16 | 9,66  |
| 9       |                |                | v               | v               | v               | 23,80           | v                 | v               | 34,01           | 37,67             | 3,62              | 0,90            |                   |                 | 0,63     | 1,11 | 10,41 |
| 10      |                |                |                 |                 | v               | 23,15           | v                 | v               | 33,31           | 38,80             | 3,74              | 0,99            |                   |                 | 0,60     | 1,16 | 10,37 |
| 11      |                |                |                 |                 | v               | 23,12           | v                 | v               | 33,03           | 39,27             | 3,58              | 1,00            |                   |                 | 0,59     | 1,19 | 10,97 |
| 12      |                |                |                 | 1,07            | 0,59            | 23,27           | v                 | v               | 33,04           | 37,51             | 3,53              | 1,00            |                   |                 | 0,62     | 1,14 | 10,63 |
| 13      |                |                |                 |                 | v               | 22,74           | v                 | v               | 33,31           | 39,00             | 4,06              | 0,91            |                   |                 | 0,58     | 1,17 | 9,61  |
| 14      |                |                |                 |                 | v               | 24,48           | v                 | v               | 35,41           | 35,50             | 3,52              | 1,13            |                   |                 | 0,69     | 1,00 | 10,09 |
| 15      |                |                | v               | v               | 0,43            | 23,10           | v                 | v               | 33,41           | 38,63             | 3,53              | 0,89            |                   |                 | 0,60     | 1,16 | 10,94 |
| 16      |                |                |                 | v               | v               | 21,54           | v                 | v               | 34,11           | 39,77             | 3,59              | 0,98            |                   |                 | 0,54     | 1,17 | 11,08 |
| 17      |                |                |                 |                 | v               | 23,55           | v                 | v               | 34,10           | 38,11             | 3,43              | 0,82            |                   |                 | 0,62     | 1,12 | 11,11 |
| 18      |                |                |                 |                 | v               | 22,74           | v                 | v               | 33,61           | 38,71             | 3,98              | 0,96            |                   |                 | 0,59     | 1,15 | 9,73  |

# QUADRO C

## Composição da gordura de leite em ácidos gordos

| Ácidos                               |                         | Lim. inf. % | Lim. sup. % |
|--------------------------------------|-------------------------|-------------|-------------|
| Caproico                             | C <sub>6</sub>          | 0,20        | 0,60        |
| Caprílico                            | C <sub>8</sub>          | 0,40        | 0,60        |
| Cáprico                              | C <sub>10</sub>         | 1,70        | 1,90        |
| Decenoico + Endecanoico              | C <sub>10:1 + 11</sub>  | 0,20        | 0,30        |
| Laurico                              | C <sub>12</sub>         | 2,70        | 3,00        |
| Dodecenoico                          | C <sub>12:1</sub>       | v           | 0,10        |
| Tridecanoico                         | C <sub>13</sub>         | 0,13        | 0,15        |
| Tridecenoico + iso — tetradecanoico  | C <sub>3:1 + 14r</sub>  | 0,15        | 0,18        |
| Mirístico                            | C <sub>14</sub>         | 11,34       | 11,79       |
| Miristoleico                         | C <sub>14:1</sub>       | 1,63        | 1,78        |
| Pentadecanoico                       | C <sub>15</sub>         | 1,37        | 1,59        |
| Pentadecenoico + iso — hexadecanoico | C <sub>15:1 + 16r</sub> | 0,29        | 0,32        |
| Palmitico                            | C <sub>16</sub>         | 27,22       | 27,83       |
| Palmitoleico                         | C <sub>16:1</sub>       | 1,73        | 2,53        |
| Heptadecanoico                       | C <sub>17</sub>         | 1,12        | 1,28        |
| Heptadecenoico + iso — octadecanoico | C <sub>17:1 + 18r</sub> | 0,47        | 0,59        |
| Estearico                            | C <sub>18</sub>         | 11,07       | 14,09       |
| Oleico                               | C <sub>18:1</sub>       | 29,06       | 29,52       |
| Nonadecanoico                        | C <sub>19</sub>         | 0,49        | 0,64        |
| Linoleico                            | C <sub>18:2</sub>       | 1,77        | 2,72        |
| Araquídico                           | C <sub>20</sub>         | 2,31        | 2,75        |
| Linolénico                           | C <sub>18:3</sub>       | —           | —           |
| Gadoleico                            | C <sub>20:1</sub>       | v           | v           |
| Behénico                             | C <sub>22</sub>         | v           | v           |

Note-se que estes valores foram calculados em condições isotérmicas, visto não ter sido possível na altura, dispor de um programador de temperatura. Assim, os valores correspondentes aos ácidos caproico, caprílico e cáprico, vêm com o erro inerente a esta deficiência.

Quanto ao ácido butírico, sai juntamente com o solvente. Na literatura encontramos para estes ácidos, os valores aproximados de:

|                       | %    |
|-----------------------|------|
| Ácido caproico .....  | 1,39 |
| Ácido caprílico ..... | 1,84 |
| Ácido cáprico .....   | 3,66 |

Analisámos 15 amostras de chocolates de leite. A composição qualitativa e quantitativa da gordura em ácidos gordos destes chocolates

assim como as relações mais significativas entre os seus ácidos, estão representadas na tabela IV. Os limites entre os quais variam estes valores estão representados na tabela A.

Observando os resultados obtidos para os chocolates de leite, assinalámos, como era de esperar, a presença de ácidos de cadeia curta como o caproico, caprílico e cáprico; outros aparecem em proporções mais ou menos elevadas, como o láurico, mirístico e palmitoleico; notam-se ainda pequenas quantidades de miristoleico, pentadecanoico e heptadecanoico.

Quanto às relações entre os ácidos, consideradas nos casos dos cacau e chocolates sem leite, verifica-se que elas não são geralmente alteradas pela presença da gordura do leite.

**QUADRO IV**  
**Chocolate de leite**  
(Composição por 100 gramas da gordura)

| Amostra | Ácidos gordos  |                |                 |                                       |                 |                 |                   |                 |                   |                 |                   |                 |                   |                 |                   |                   |                                             | Relações        |      |      |      |
|---------|----------------|----------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|---------------------------------------------|-----------------|------|------|------|
|         | C <sub>6</sub> | C <sub>8</sub> | C <sub>10</sub> | C <sub>10:1+</sub><br>C <sub>11</sub> | C <sub>12</sub> | C <sub>14</sub> | C <sub>14:1</sub> | C <sub>15</sub> | C <sub>15:1</sub> | C <sub>16</sub> | C <sub>16:1</sub> | C <sub>17</sub> | C <sub>17:1</sub> | C <sub>18</sub> | C <sub>18:1</sub> | C <sub>18:2</sub> | C <sub>20+</sub><br>ou<br>C <sub>18:3</sub> | C <sub>22</sub> | P/O  | O/E  | O/L  |
|         |                |                |                 |                                       |                 |                 |                   |                 |                   |                 |                   |                 |                   |                 |                   |                   |                                             |                 |      |      |      |
| 1       | 0,04           | 0,12           | 0,26            | 0,02                                  | 2,18            | 2,13            | 0,23              | 0,22            | v                 | 26,69           | 0,69              | 0,36            | 0,09              | 22,19           | 37,96             | 5,21              | 1,61                                        | v               | 0,70 | 1,71 | 7,29 |
| 2       | 0,12           | 0,14           | 0,40            | 0,05                                  | 0,76            | 2,27            | 0,29              | 0,25            | v                 | 26,74           | 0,77              | 0,26            | v                 | 25,18           | 35,18             | 5,15              | 2,13                                        | 0,32            | 0,76 | 1,40 | 6,83 |
| 3       | 0,06           | 0,07           | 0,19            | 0,03                                  | 0,35            | 1,57            | 0,22              | 0,22            | v                 | 27,92           | 0,53              | 0,24            | v                 | 26,76           | 34,22             | 5,60              | 1,92                                        | 0,11            | 0,81 | 1,28 | 6,11 |
| 4       | v              | v              | 0,04            | v                                     | 0,08            | 0,47            | v                 | v               | v                 | 28,41           | 0,45              | 0,35            | v                 | 24,35           | 39,21             | 4,91              | 1,73                                        | v               | 0,72 | 1,61 | 7,99 |
| 5       | 0,12           | 0,17           | 0,47            | 0,05                                  | 1,63            | 2,81            | 0,24              | 0,27            | v                 | 27,42           | 0,70              | 0,31            | v                 | 25,82           | 33,67             | 4,65              | 1,68                                        | v               | 0,81 | 1,30 | 7,24 |
| 6       | v              | 0,50           | 0,17            | v                                     | 0,23            | 1,03            | v                 | v               | v                 | 32,27           | v                 | v               | v                 | 30,77           | 38,79             | 4,16              | 1,09                                        |                 | 0,60 | 1,26 | 9,32 |
| 7       | v              | v              | v               | v                                     | v               | 0,49            | v                 | v               | v                 | 21,40           | v                 | v               | v                 | 32,22           | 40,78             | 4,52              | 0,59                                        |                 | 0,52 | 1,27 | 9,02 |
| 8       |                | v              | v               | v                                     | 0,52            | v               | v                 | v               | v                 | 21,79           | v                 | v               | v                 | 32,32           | 39,76             | 4,49              | 1,13                                        |                 | 0,55 | 1,23 | 8,86 |
| 9       | v              | v              | v               | v                                     | v               | 0,91            | v                 | v               | v                 | 23,13           | v                 | v               | v                 | 32,31           | 38,53             | 4,18              | 0,93                                        |                 | 0,60 | 1,19 | 9,22 |
| 10      | ?              | 0,06           | 0,16            | v                                     | 0,24            | 1,04            | ?                 | ?               | v                 | 22,55           | v                 | v               | v                 | 32,00           | 38,50             | 3,98              | 1,48                                        |                 | 0,59 | 1,20 | 9,67 |
| 11      | ?              | 0,07           | 0,23            | v                                     | 0,34            | 1,57            | ?                 | ?               | v                 | 23,27           | 0,46              | v               | v                 | 30,65           | 37,47             | 4,29              | 1,66                                        |                 | 0,62 | 1,22 | 8,73 |
| 12      | 0,08           | 0,11           | 0,31            | 0,04                                  | 0,50            | 2,16            | 0,33              | 0,40            | 0,05              | 27,52           | 0,76              | 0,44            | 0,13              | 22,22           | 38,00             | 5,50              | 1,11                                        | 0,35            | 0,72 | 1,71 | 7,00 |
| 13      | 0,11           | 0,14           | 0,43            | 0,05                                  | 0,74            | 3,13            | 0,46              | 0,45            | 0,05              | 27,69           | 0,79              | 0,50            | 0,19              | 22,51           | 36,35             | 4,30              | 2,10                                        | ?               | 0,76 | 1,76 | 8,45 |
| 14      | 0,09           | 0,12           | 0,40            | 0,05                                  | 0,61            | 2,37            | 0,29              | 0,29            | 0,03              | 27,00           | 0,68              | 0,29            | 0,12              | 22,22           | 37,83             | 5,02              | 1,71                                        | 0,24            | 0,71 | 1,70 | 6,73 |
| 15      | 0,06           | 0,07           | 0,25            | v                                     | 0,40            | 1,70            | 0,19              | 0,26            | v                 | 27,46           | 0,48              | 0,37            | v                 | 24,82           | 38,00             | 4,53              | 1,42                                        | v               | 0,72 | 1,53 | 8,39 |

As amostras que apresentem vestígios de ácidos próprios do leite, podem ter sido fabricadas com leite semi-desnatado.

As anomalias encontradas, dizem respeito às seguintes amostras:

Amostras 1 e 5 — alta percentagem em ácido láurico;

Amostra 2 — alta percentagem em ácidos tetradecenoico e behénico;

Amostra 3 — alta percentagem em ácidos palmitoleico e behénico;

Amostra 4 — alta percentagem em ácidos palmítico, oleico e behénico;

Amostras 7, 8, 12 — alta percentagem em ácido oleico;

Amostras 12 e 13 — alta percentagem em ácido tetradecenoico, pentadecanoico e palmítico;

Amostras 14, 15, 16 — alta percentagem em ácido palmítico.

Quanto aos ácidos heptadecanoico, heptadecenoico e linolénico+araquídico, obtivemos sempre valores mais altos do que os encontrados na literatura. Pelo contrário, para o ácido esteárico, encontramos sempre um valor bastante baixo. A relação O/L, tal como aconteceu com todas as gorduras de cacau estudadas por nós, é sempre baixa.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

— Ensaíram-se várias técnicas de metilação para os ácidos gordos. Escolhemos a de P. Gianessi porque assim realizamos a metilação simultânea dos ácidos gordos livres e esterificados; esta técnica é de fácil manejo e grande rapidez.

— Fixaram-se as condições de trabalho para o estudo, por CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA (CGL), das gorduras de cacaos e derivados.

— Estabeleceu-se a composição qualitativa e quantitativa dos ácidos gordos da manteiga

de cacau do mercado nacional; confirmou-se que a gordura do «chocolate sem leite», deve corresponder à gordura de cacau; a gordura do «chocolate de leite» deve corresponder à gordura de cacau adicionada de gordura de leite.

— O estudo realizado permitiu verificar que a maior parte dos cacaos e chocolates do nosso mercado, apresentam uma composição da gordura em ácidos gordos que corresponde à composição da gordura de cacau, sem adição de gorduras estranhas, tal como é exigido pela Legislação Nacional.

— As poucas amostras que se apresentam adulteradas parecem ter sido adicionadas de óleo de côco ou palmiste e, em menor número de casos, de óleo de amendoim.

Será oportuno lembrar os problemas levantados pela aplicação de métodos muito rigorosos.

Segundo Wolff [3], a CGL é um dos métodos que facilita grandemente a análise e permite controlos de extremo rigor. Note-se, contudo, que as palavras «puro» e «negativo» não têm hoje o mesmo significado de há alguns anos atrás. Por exemplo, numa indústria em que se fabricam simultaneamente vários tipos de óleos, é impossível evitar uma inter-poliuição. É portanto também impossível, não admitir uma certa tolerância.

Mas até que ponto se deve ir, sem passar da tolerância à fraude?

Dever-se-ão eliminar como falsificados os óleos que apresentem incorporados uma pequena percentagem de outro produto? Dever-se-á, fixando um limite superior, permitir possíveis falsificações? Não será preferível, antes de se fixar um máximo legal muito baixo, estar seguro da reprodutividade dos resultados obtidos?

Para tentar resolver estas dificuldades é indispensável distinguir bem:

- limite de detecção analítico;
- pureza.

Contudo, é preciso não esquecer que o «limite de detecção analítico» baixa sem cessar, graças ao emprego de métodos de análise cada vez mais sensíveis. Quanto à «pureza» de uma substância, é uma noção imprecisa que varia com a sensibilidade do método de análise e, portanto, com o tempo, será preferível substituí-la pela noção de «grau de pureza».

## 6. AGRADECIMENTOS

Exprimo a minha profunda gratidão ao Professor Doutor F. A. Gonçalves Ferreira, pela motivação, ensinamentos e facilidades concedidos, na realização deste estudo.

Estou igualmente muito grata à Doutora Maria Ernestina S. G. Mendes, pela assistência completa que me deu no seu laboratório.

Ao Doutor Aloísio Coelho, cujos conselhos

e críticas foram para mim uma importante ajuda na redacção deste trabalho, agradeço reconhecidamente.

Quero estender os meus agradecimentos, à Engenheira Ana Maria Ferrão e Doutora Maria Helena Venceslau, que me deram esclarecimentos teóricos e práticos de grande valor.

Finalmente, à Senhora D. Maria Benvinda Gonçalves Rio, agradeço a sua valiosa colaboração em numerosas determinações.

## BIBLIOGRAFIA

1. Chagas dos Santos, V. M. — Aplicação da cromatografia em fase gasosa à caracterização de alguns óleos vegetais portugueses. *Indústria*, 17: 1965.
2. Wolff, J. P. — Manuel d'Analyse des Corps Gras. Azoulay Editeur, Paris, 1968.
3. Wolff, J. P. — Problèmes analytiques dans le domaine des Corps Gras. *Revue Fr. des Corps Gras*, 2, 1973.
4. Gianessi, P. — Preparazione Rapida di Esteri Metilici di Acidi Grassi per l'analisi Gas-Cromatografia. *Olearia, Rivista delle materie grasse*, 34: 46-48, 1965.
5. De Franceco — Preparation des esteres metillicos du beurre pour la chromatographie gazeuse. *Qualitas Plant. et Mater. Véget.*, XI: 299, 1964.
6. Prevot, A. et Barbat, C. — Modes opératoires d'estérification pour l'analyse des corps gras par chromatographie en phase gazeuse. *Corps Gras*, 12: 743-747, 1965.
7. Monteiro, B. — Relatório de estágio. École Supérieure d'Application des Corps Gras. Paris, 1968.
8. Tranchant, J. — Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Masson, Paris, 1964.
9. Mc Nair, H. M. e Bonelli, E. J. — Curso básico de cromatografia em fase gasosa. Varian aerograph, California.
10. Rubio, M. J. Z. — Aplicación de la cromatografía en fase gasosa al conocimiento de la manteca de cacao y grasas de los chocolates. *Anals de Bromatologia*, XXIII: 1969.
11. Bosch, L. C. — Algunos problemas sobre analisis cuantitativo en cromatografia gaseosa. Sevilla.
12. Woidich, H., Cuaner, H., Riedl, O. e Galinouse, E. — Über die zusan der kakao — butter. *Z. Leberwisttel*, 2: 91, 1964.
13. Doro, B. e Bemoli, S. — Ricerche gas — cromatographie sul burro di cacao. *Riv. Ital. Sost. Grasse*, 42: 108-113, 1965.
14. Purr, A. Luch, H. et Kulm, P. — Determination des graisses étrangères dans les produits à base de cacao. *Rev. Int. choc*, 9: 376, 1965.
15. Kaleskind, A., Andion, F. e Wolff J. P. — Étude des stérols par chromatographie en phase gazeuse, *Revue Française des Corps Gras*: 1965.

## SUBSÍDIO PARA A DETERMINAÇÃO DA NICOTINA EM ALGUMAS MARCAS DE CIGARROS NACIONAIS

*L. F. Rodrigues Alves<sup>1</sup>*

### ABSTRACT

*By means of a quick and precise method which makes use of U.V. spectrophotometry, the alkaloidal contents, expressed in nicotine, have been determined in most trade-marks of Portuguese cigarettes, as well as in some foreign ones easily available in the market.*

*This note summarizes the methods used and the results obtained.*

Têm sido feitos em quase todo o mundo numerosos estudos tendentes a demonstrar a actividade biológica do tabaco, quando consumido sob a forma de cigarros. Da maior parte da bibliografia sobre este assunto, ressaltam dois tipos de determinações: alcalóides (especialmente nicotina) e aquilo a que uns chamam «alcatrões» e outros «matéria particular». São, ao que parece, alguns dos constituintes destes dois grupos os responsáveis pelas inúmeras enfermidades atribuíveis directa ou indirectamente ao tabaco. É hoje um lugar comum paralelizar certas manifestações carcinogénicas ou co-carcinogénicas, ciliostáticas, cardiovasculares, etc., com o seu consumo.

A escassez de resultados analíticos publicados no nosso País sobre tão momentoso problema levou o Instituto Nacional de Saúde, no âmbito das suas atribuições, a encarar o seu estudo.

Dada a vastidão do tema, houve necessidade de procurar um esquema de trabalho, que se coadunasse com os nossos objectivos e se mostrasse de execução viável, a curto prazo, em alguns dos seus pontos.

O conjunto de análises, mais frequentemente aconselhado para um estudo de base sobre o tabaco, comporta normalmente os seguintes pontos:

I — *Determinações no tabaco* (Matéria-prima e elaborada)

- a) Alcalóides expressos em nicotina
- b) 3,4 — Benzopireno

II — *Determinações no fumo* (Cigarros)

- a) Alcalóides expressos em nicotina
- b) «Alcatrões»
- c) 3,4 — Benzopireno

III — *Estudo da eficiência dos vários tipos de filtros, no que diz respeito aos componentes indicados em II*

IV — *Estudo na natureza do papel que envolve os cigarros.*

Trata-se de um plano de trabalho bastante ambicioso e que exige aparelhagem diferenciada e técnica muito específica, particularmente no que se refere aos componentes do fumo.

<sup>1</sup> Assistente da Faculdade de Farmácia de Lisboa; Bolsista do Instituto Nacional de Saúde.



Nesta primeira fase só nos foi possível encerrar a determinação do teor em nicotina nos cigarros inteiros.

Por não conhecermos valores na bibliografia portuguesa, julgámos de interesse a publicação dos resultados que obtivemos para a maioria das marcas nacionais e algumas estrangeiras, correntes no mercado.

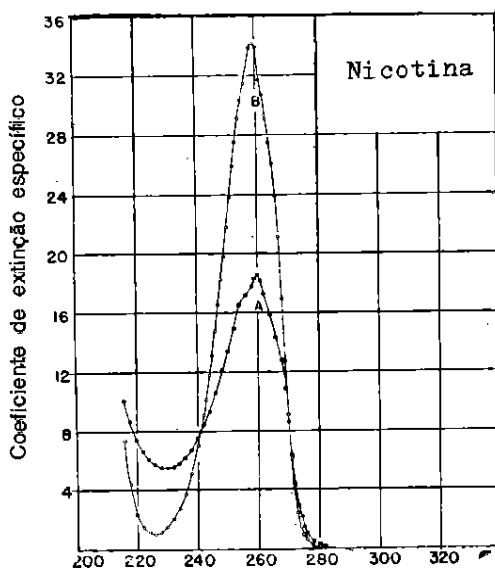
### Material e métodos

Foram analisadas várias amostras de cigarros, correspondentes a 34 marcas nacionais e 9 estrangeiras, correntes no mercado e acondicionadas nas embalagens de origem.

O método utilizado, descrito no «Methods of A. O. A. C.» (1), isola a nicotina por destilação em corrente de vapor e determina a sua concentração por espectrofotometria.

O espectro de absorção daquele alcalóide no U. V. é caracterizado por um máximo no comprimento de onda próximo dos 260 nm. A sua posição e intensidade são influenciadas pela natureza do solvente e particularmente afectadas por soluções diluídas de ácidos fortes.

O coeficiente de extinção específico para a solução aquosa é 18,6 a 260 nm. Para a solução aquosa acidificada é 34,3 a 259 nm. (Fig. 1).



Comprimento de onda, nm  
Fig. 1 — Espectro de absorção da nicotina no U. V. (2)

A — em água  
B — em água acidificada

Apesar da selectividade do processo utilizado, dois tipos de interferências, embora pouco significativas, podem influir nos resultados quando se pretende determinar os teores de nicotina em cigarros:

— alcalóides contendo na sua estrutura o grupo cromóforo piridínico, constituintes não totalmente identificados (produtos da degradação de alcalóides, pigmentos e lípidos) que absorvem na banda espectral utilizada; e

— a nornicotina, determinada como nicotina, uma vez que os seus espectros são indiferenciáveis nas condições da experiência (3).

A destilação por arrastamento de vapor elimina uma grande parte das interferências do primeiro tipo. As restantes, conjuntamente com a da nornicotina, (quando presente, sempre em pequena quantidade), são insignificantes, desde que o destilado seja recolhido em água acidificada e a absorvância a 259 nm seja corrigida pela fórmula:

$$D_{259} \text{ corrig.} = 1,059 [D_{259} - \frac{1}{2}(D_{236} + D_{282})]$$

em que  $D_{259}$ ,  $D_{236}$  e  $D_{282}$  são as densidades ópticas observadas, respectivamente a 259, 236 e 282 nm.

A aplicação desta equação só é válida quando a absorção devida às substâncias estranhas é linear, ou quase, entre 236 e 282 nm, o que sempre se verifica na prática.

Para cada determinação utilizaram-se quatro cigarros inteiros (tabaco, papel e filtro, quando exista), previamente colocados em local de humidade pouco variável ( $\pm 60\%$ ) e à temperatura ambiente, durante 48 horas.

Para cada amostra foram feitos habitualmente quatro ensaios, de uma maneira geral os necessários para encontrar pelo menos dois valores com desvios não superiores ao erro do método.

Para o isolamento da nicotina utilizou-se uma vulgar montagem de destilação em corrente de vapor, cuja eficiência foi verificada com soluções padrão.

As absorvâncias no U. V. foram determinadas num espectrofotómetro Unicam — SP. 500.

Outros métodos estão descritos na bibliografia consultada para o doseamento dos alcalóides do tabaco, sendo de referir, particularmente, os gravimétrico, espectrofotométrico e cromatográfico em fase gasosa.

Ensaaiaram-se os dois primeiros comparativamente, sendo dada preferência ao espectrofotométrico por os seus valores terem grande reprodutibilidade e a técnica operatória ser consideravelmente mais rápida.

### Resultados e sua apreciação

Os resultados encontrados para a nicotina, expressos em mg/cigarro inteiro, constam do quadro I. Nele figuram ainda a marca, a proveniência — nacional ou estrangeira —, o peso médio e o tipo.

No que diz respeito às marcas, as portuguesas, por indicações recebidas das fábricas Tabaqueira e Intar, são manufacturadas com três tipos de tabacos: Burley, Virginia e Oriental. As estrangeiras, para além destes, utilizam ainda o «Fire-cured».

O peso médio por cigarro, em gramas, foi calculado a partir do valor inscrito nas embalagens.

Quanto ao tipo, servimo-nos da nomenclatura abreviada geralmente usada, no que se refere a comprimento e diâmetro (r, R, L), existência de filtro (F) e presença de mentol (M).

No quadro, em nota de fim de página, encontram-se estas abreviaturas e os seus significados.

O quadro está ordenado segundo os teores crescentes de nicotina.

Faremos a seguir algumas considerações que julgamos de interesse.

O teor em alcalóides do tabaco varia com diversos factores, tais como: tipo, processos de cultivo, região e condições climáticas.

Para cada marca de cigarros o teor em nicotina depende da mistura de tabacos utilizados. Assim, se sobre a matéria-prima não se exercerem controlo rigoroso, entre dois lotes de tabaco da mesma marca poderão existir diferenças significativas (4).

Em estudo relativamente recente (5), demonstrou-se que, para além dos factores referidos, variações no modelo das embalagens das marcas, no tempo de armazenagem e nos processos de fabrico, entre outras, influenciam bastante o conteúdo alcalóidico dos cigarros.

Nas amostras analisadas, para os valores extremos do peso médio por cigarro (0,59 e 1,40 g), encontraram-se como teores limites de nicotina, 5,66 e 19,14 mg.

Para uma correcta apreciação das diferenças entre as várias marcas, quanto ao teor em nicotina, convém correlacionar os conteúdos daquele alcalóide com o tipo e o peso dos cigarros.

Assim, para os do tipo r (comprimento 65 mm e diâmetro 6 mm), com o mesmo peso (Provisórios, Definitivos e Lusos), a variação máxima no teor em nicotina é inferior a 1,5 mg/cigarro.

A marca Kentucky é também deste tipo, embora de peso (0,59 g) e conteúdo alcalóidico (5,66 mg) menores.

Quanto aos Regulares (70×9 mm), os de peso médio 0,9 g (Sporting e Português Suave), apresentam teores de nicotina da mesma ordem, o que já não acontece com os de peso médio — 1 g — em que as diferenças entre os valores extremos determinados são superiores a 4 mg (Antoninos — 13,06 e Paris — 17,11 mg de nicotina por cigarro). Com concentrações intermediárias encontram-se as marcas Gitanes, Três-Vintes e High-Life, respectivamente com teores de nicotina de 14,03, 15,38 e 15,80 mg/cigarro.

Os cigarros Regulares e Longos (80 a 100×9 mm) com filtro, representam a maioria — cerca de 3/4 — das marcas analisadas.

A variação do peso médio nos cigarros do tipo RF é idêntica à do tipo R, isto é, 0,90 e 1,00 g. Neste aspecto, os do tipo LF são mais diferenciados, apresentando valores entre 1,10 e 1,40 g, com pesos intermédios da ordem dos 1,20, 1,25 e 1,30 g.

No que diz respeito ao teor em nicotina, as 14 marcas do tipo RF encontram-se distribuídas, na maioria dos casos, com intervalos de cerca de 0,5 mg, e entre 9,45 e 13,89 mg/cigarros.

Quanto aos Longos com filtro, a variação do teor alcalóidico é a mais significativa, da ordem dos 10 mg para os valores limites (Nobel — 9,72 e L&M — 19,14 mg/cigarro). No entanto, cerca de 50% das marcas deste tipo mostraram teores entre os 12 e os 14 mg de nicotina/cigarro.

Destas considerações ressalta que, para uma avaliação comparativa do conteúdo de nicotina nas diferentes marcas, é indispensável ter em conta, entre outros factores, o tipo e o peso médio.

QUADRO I

| Marca           | Peso de um cigarro (em g) | Tipo * | Nicotina mg/cigarro | Observações |
|-----------------|---------------------------|--------|---------------------|-------------|
| Kentucky        | 0,59                      | r      | 5,66                | Nacional    |
| Negritas        | 0,90                      | RF     | 9,45                | »           |
| Tamariz         | 0,90                      | RF     | 9,65                | »           |
| Nobel           | 1,20                      | LF     | 9,72                | »           |
| Montserrat      | 1,00                      | RF     | 9,77                | »           |
| Provisórios     | 0,67                      | r      | 10,05               | »           |
| Definitivos     | 0,67                      | r      | 10,88               | »           |
| Porto           | 0,90                      | RF     | 10,90               | »           |
| Lusos           | 0,67                      | r      | 11,28               | »           |
| Ritz            | 0,90                      | RF     | 11,45               | »           |
| Mini-Kayak      | 1,00                      | RFM    | 11,63               | »           |
| Sporting        | 0,90                      | RF     | 11,68               | »           |
| Gitanes         | 1,00                      | RF     | 11,71               | Francês     |
| Antoninos       | 90,0                      | RF     | 11,75               | Nacional    |
| CT              | 1,00                      | RF     | 11,87               | »           |
| Kente           | 1,10                      | LF     | 11,98               | Americano   |
| Sintra          | 1,20                      | LF     | 12,19               | Nacional    |
| Sporting        | 0,90                      | R      | 13,05               | »           |
| Antoninos       | 1,00                      | R      | 13,06               | »           |
| Porto           | 1,10                      | LF     | 13,33               | »           |
| Sagres          | 0,90                      | RF     | 13,39               | »           |
| Português Suave | 0,90                      | R      | 13,42               | »           |
| Philip Morris   | 1,25                      | LF     | 13,63               | Americano   |
| Kart            | 0,90                      | RF     | 13,67               | Nacional    |
| SG VENTIL       | 1,00                      | RF     | 13,86               | »           |
| SG              | 1,00                      | RF     | 13,86               | »           |
| Surf            | 0,90                      | RF     | 13,89               | »           |
| Ritz            | 1,10                      | LF     | 13,94               | »           |
| Kayak           | 1,20                      | LFM    | 14,01               | »           |
| Gitanes         | 1,00                      | R      | 14,03               | Francês     |
| Marlboro        | 1,10                      | LF     | 14,05               | Americano   |
| CT              | 1,25                      | LF     | 14,83               | Nacional    |
| Três Vintes     | 1,00                      | R      | 15,38               | »           |
| Estoril         | 1,20                      | LF     | 15,66               | »           |
| High-Life       | 1,00                      | R      | 15,80               | »           |
| Sagres          | 1,10                      | LF     | 16,36               | »           |
| Paris           | 1,00                      | R      | 17,11               | »           |
| SG              | 1,25                      | LF     | 17,32               | »           |
| Kart            | 1,20                      | LF     | 18,22               | »           |
| Kool            | 1,20                      | LFM    | 18,28               | Americano   |
| Benson & Hedges | 1,30                      | LF     | 18,58               | Inglês      |
| Chesterfield    | 1,30                      | L      | 18,65               | Americano   |
| L & M           | 1,40                      | LF     | 19,14               | »           |

\* r — regular: comprimento 65 mm, diâmetro 6 mm; R — Regular: comprimento 70 mm, diâmetro 9 mm;  
F — filtro; L — longo: comprimento 80 a 100 mm, diâmetro 9 mm; M — mentol.

Alguns cigarros, especialmente americanos e ingleses, apresentam um peso médio anormalmente elevado, o que pode encontrar justificação em estudos (4), que pretendem demonstrar que é significativamente superior a retenção de nicotina e «alcatrões» quando um filtro é substituído por igual espessura de tabaco, e este, como é óbvio, não seja fumado.

## AGRADECIMENTO

Apresentamos à Sr.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Ernestina da Silva Graça o testemunho do nosso reconhecimento pela forma estimuladora como acompanhou a realização deste trabalho e sua revisão crítica final.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — Association of Official Agricultural Chemists — Official Methods of Analysis. George Banta Publishing Company, Menasha, Wis., 1970.
- 2 — Willits, C. O.; Swain, Margaret L.; Connelly, J. A. e Brice, B. A. — *Analytical Chemistry*, 22, 3; 430-432, 1950.
- 3 — Swain, M. L.; Eisener, A; Woodward, C.F. e Brice, B. A. — *J. Am. Chem. Soc.*, 71: 1341, 1949.
- 4 — Wolman, Walter — *JAMA*, 152, 10: 917-920, 1953.
- 5 — Moore, George E.; Bross, Irwin; Shamberger, Raymond e Bock, G. Fred. — *Cancer*, 20: 232-332, 1967.



# LEITES HUMANIZADOS

## CONSIDERAÇÕES SOBRE A DETERMINAÇÃO DA LACTALBUMINA

Eugénia C. C. Amaral<sup>1</sup>

### ABSTRACT

*The protein composition of some humanized milks is studied by evaluation of the lactalbumin content and the casein/lactalbumin relation.*

*The composition of the same samples of milk in energetic, mineral and vitamin nutrients is also studied.*

*Some comments are made on the humanization of the milk samples which have been analysed.*

### INTRODUÇÃO

A alimentação artificial infantil com carácter científico data apenas do século passado, época em que se iniciaram os estudos da química e da bacteriologia do leite e da patologia e metabolismo das crianças lactentes. Desde então, tem-se verificado uma evolução constante nas fórmulas alimentares de modo a proporcionar à criança uma nutrição cada vez mais perfeita. A investigação científica apoiada em estudos clínicos e o elevado nível da tecnologia actual, proporcionaram o aparecimento de fórmulas complexas, muito similares em composição ao leite materno e que se denominaram «leites humanizados». Estes leites provêm de leite de vaca em que a composição quantitativa dos seus nutrientes foi modificada de forma a torná-la semelhante à do leite humano.

Para uma melhor compreensão dos problemas surgidos na análise dos leites humaniza-

dos, parece-nos de interesse fazer algumas considerações sumárias no que respeita às principais diferenças entre o leite humano e o de vaca e à maternização deste.

O leite humano é o alimento específico da criança durante os primeiros meses de vida, dado que o equilíbrio quantitativo dos seus nutrientes se encontra em nível óptimo para serem assimilados pelo organismo do lactente. Desde que este não possa ser alimentado ao peito, o substituto do leite materno mais vulgarmente utilizado é o leite de vaca. Tal facto é possível porque os mesmos nutrientes estão presentes em todos os leites embora em diferentes proporções. Esta diferença quantitativa parece ser, aliás, uma adaptação às necessidades nutritivas de cada espécie mamífera nos primeiros meses de vida.

No leite de vaca constata-se que alguns dos seus nutrientes, principalmente as proteínas e os sais minerais, apresentam-se em nível

<sup>1</sup> Assistente do Laboratório de Química Sanitária, Instituto Nacional de Saúde — Lisboa.

mais elevado do que no humano. No que respeita à proteína, todos os leites possuem um sistema proteico complexo, cujos constituintes pertencem a dois tipos principais: a caseína e as proteínas do soro (albuminas e globulinas); mas o conteúdo total das proteínas do leite de vaca é cerca de três vezes superior à do leite humano, sendo a distribuição das fracções proteicas muito diferente: no leite de vaca, a relação caseína/lactalbumina é de 5:1, enquanto que no leite de mulher essa relação é sensivelmente de 1:1,5. Por outro lado, além da proteína do leite humano ser de mais fácil digestão para o lactente há que considerar, também, que é melhor equilibrada sob o ponto de vista da composição em ácidos aminados, o que torna o leite humano o alimento mais adequado à criança.

A percentagem de gordura nos dois leites é semelhante, mas a distribuição dos ácidos gordos é diferente. Mais de 60% da gordura do leite de vaca é constituída por ácidos gordos saturados, enquanto que no leite de mulher estes não atingem 50% da gordura total. O leite de vaca possui, porém, maior percentagem de ácidos gordos voláteis.

Os ácidos gordos «essenciais» (linoleico, linolénico e araquidónico) existentes na gordura do leite materno são, no seu conjunto, cerca de três vezes e meia superiores aos do leite de vaca, destacando-se a grande diferença na percentagem do ácido linoleico. Este facto pode dar ao leite de mulher um maior significado nutricional.

O leite de mulher contém uma quantidade de lactose superior à do leite de vaca. Este hidrato de carbono no leite é constituído por uma mistura equilibra de  $\alpha$  e de  $\beta$ -lactose. O efeito destes dois isómeros no organismo da criança foi objecto de variados estudos, destacando-se os que dizem respeito à acção sobre o desenvolvimento de uma flora acidófila intestinal de grande importância na digestão, no metabolismo e na desintoxicação. Nas décadas de 30 a 50 alguns autores consideraram a  $\beta$ -lactose como a responsável pelo desenvolvimento dos germes acidófilos, muita embora a maioria dos estudos efectuados indicassem que os dois isómeros tinham acção idêntica sobre a flora intestinal. A bibliografia recente não faz referência à acção diferenciada da  $\alpha$  e da  $\beta$ -lactose, mas apenas se reporta ao efeito benéfico da lactose sobre a flora acidófila do intestino grosso, formada pelo *Lactobacillus acidophilus* e *L. bifidus*.

A lactose ao nível do intestino é decomposta, constituindo não só uma fonte de energia para o *L. bifidus*, como também, ao dar origem ao ácido láctico, vai estimular o desenvolvimento do *L. acidophilus*. Afirma-se actualmente serem não só a lactose, mas também o «factor bifidus» existente no leite humano, os responsáveis pela manutenção da flora lactobacillus e pelo pH ácido das fezes. O «factor bifidus» foi identificado com uma cetose dissacárica (galactosido-frutose) que se designou por lactulose.

Quanto aos componentes minerais, os teores de cálcio e fósforo no leite de vaca são, respectivamente, cerca de quatro e seis vezes superiores aos do leite de mulher. Os outros componentes aparecem também em maior quantidade naquele leite, apesar de a diferença não ser tão marcada. Somente o ferro tem maior concentração no leite humano não obstante apresentar-se em muito pequena quantidade, o que não tem importância alimentar visto a criança, quando nasce, trazer uma reserva suficiente de ferro para os primeiros tempos de vida.

No aspecto vitamínico, considerando as vitaminas lipossolúveis, o leite humano contém mais vitamina A e menos vitaminas D e K. De notar que a vitamina E, embora em pequena percentagem, é dez vezes superior no leite de mulher. As vitaminas hidrossolúveis encontram-se em maior quantidade no leite de vaca, com excepção das vitaminas C e niacina.

O Quadro 1 põe em evidência as diferenças quantitativas na composição dos dois tipos de leite.

Sendo o leite humano o alimento mais adequado ao lactente e o leite de vaca o seu substituto corrente na alimentação artificial, tem sido tentada a humanização deste leite no sentido de aproximar, o mais possível, a sua composição da do leite materno. As modificações introduzidas podem ir desde uma simples alteração dos teores de proteína e de gordura a uma completa alteração das quantidades e tipos de proteína, gordura, sais minerais e vitaminas.

A primeira tentativa de humanização do leite de vaca foi a da sua diluição, tendo em vista uma melhor digestibilidade pela redução do teor em caseína, visto esta formar coágulos muito volumosos de difícil digestão para o lactente. Esta diluição irá, porém, provocar um défice calórico, que poderá ser compensado

com um suplemento de hidratos de carbono. O leite diluído fica, no entanto, desfalcado em elementos nutritivos da máxima importância, como vitaminas e gordura.

#### QUADRO 1

Composição por 100 ml

| Nutrientes        | Unidades | Leite humano | Leite de vaca |
|-------------------|----------|--------------|---------------|
| Água              | g        | 87,6         | 87,2          |
| Sólidos totais    | g        | 12,4         | 12,8          |
| Proteína total    | g        | 1,2          | 3,3           |
| Caseína           | g        | 0,4          | 2,8           |
| Proteínas de soro | g        | 0,6          | 0,6           |
| Gordura           | g        | 3,8          | 3,8           |
| Lactose           | g        | 7            | 4,8           |
| Calorias          |          | 71           | 69            |
| Cinza total       | g        | 0,21         | 0,71          |
| Cálcio            | mg       | 34           | 126           |
| Cloro             | mg       | 43           | 100           |
| Magnésio          | mg       | 4            | 13            |
| Fósforo           | mg       | 16           | 99            |
| Potássio          | mg       | 55           | 138           |
| Sódio             | mg       | 15           | 58            |
| Enxofre           | mg       | 14           | 30            |
| Ferro             | mg       | 0,2          | 0,1           |
| Vitaminas         |          |              |               |
| A                 | U.I.     | 180          | 125           |
| Carotenos         | U.I.     | 50           | 60            |
| D                 | U.I.     | 0,42         | 2,36          |
| E                 | mg       | 0,66         | 0,06          |
| K                 | µg       | 15           | 60            |
| B <sub>1</sub>    | mg       | 0,015        | 0,04          |
| B <sub>2</sub>    | mg       | 0,047        | 0,158         |
| Niacina           | mg       | 0,17         | 0,08          |
| C                 | mg       | 4            | 2             |
| Biotina           | µg       | 0,4          | 3,5           |
| Colina            | mg       | 9            | 13            |
| Ácido fólico      | µg       | 0,22         | 0,29          |
| Inositol          | mg       | 39           | 13            |
| Ácido pantoténico | mg       | 0,2          | 0,35          |
| B <sub>6</sub>    | µg       | 11           | 48            |
| B <sub>12</sub>   | µg       | 0,18         | 0,56          |

Um tipo de maternização já mais aperfeiçoado é obtido a partir do leite de vaca diluindo-o com água e adicionando-lhe creme e lactose. A diluição baixa o nível da caseína para valores da ordem de 1,5-2%; a adição de creme eleva o teor de gordura para cerca de 3,5% e a de lactose restabelece o teor inicial deste componente. Contudo, neste caso, a proteína é ainda a do leite de vaca, mantendo-se, portanto, a relação caseína/lactalbumina com o valor de 5:1.

Um processo de humanização mais completo consiste na divisão do leite em duas fracções, em que uma é descremada e desembra-

çada da caseína. O soro e o creme obtidos são adicionados à outra fracção. O leite mantém assim a mesma percentagem de todos os seus componentes, incluindo sais minerais e lactose.

Com base neste processo surgiram posteriormente técnicas de preparação que, embora mais complexas, permitiram uma mais perfeita humanização. Assim, o leite é previamente descremado, adicionado de soro de leite ou de queijo desmineralizado por electrólise ou pelo emprego de resinas permutadoras, o que permite obter uma relação caseína/lactalbumina e um teor em sais minerais idênticos aos do leite humano.

O teor de gordura é restabelecido pela adição de uma mistura de gordura animal e vegetal ou só por adição de gorduras vegetais. Os óleos de soja, coconote, trigo, milho e coco são os mais vulgarmente adicionados, mas qualquer outra gordura vegetal pode ser utilizada. A finalidade da adição de gorduras vegetais é a de humanizar a gordura no sentido de aproximar a sua composição em ácidos gordos da composição da gordura do leite materno.

Há preparações deste tipo adicionadas, até, de ácido linoleico a fim de que a concentração de ácidos gordos essenciais se aproxime do teor total deste ácido no leite humano. É que a eficiência calórica óptima para a criança parece ser atingida quando o ácido linoleico corresponde a cerca de 4% das calorias absorvidas, tal como sucede na alimentação ao peito.

Não obstante a possível importância dos ácidos gordos essenciais de cadeia longa e dos ácidos gordos saturados, o lactente digere melhor os ácidos gordos de cadeia curta e os insaturados.

O teor de lactose nestes leites humanizados é normalmente ajustado por adição deste glúcido. Há no entanto preparações maternizadas a que são adicionados outros hidratos de carbono como sacarose, maltose e maltodextrinas.

Estas fórmulas são, também, normalmente enriquecidas em vitaminas e ferro orgânico.

A necessidade de apreciar fórmulas de leites humanizados existentes no mercado, quer a pedido de entidades oficiais ou particulares, quer no âmbito da competência do I. N. S. A., levou o Laboratório de Bromatologia a fazer o estudo de algumas dessas fórmulas. Nas aná-



lises efectuadas foram consideradas as composições da proteína em lactalbumina e caseína, da gordura em ácidos gordos, dos hidratos de carbono e dos sais minerais, o que abrange os diferentes tipos de humanização já apontados.

Nos leites em que a proteína é humanizada, é indispensável, para a sua apreciação, avaliar a relação caseína/lactalbumina, o que exige a determinação destas fracções.

O método clássico corrente não se revelou, porém, satisfatório quando aplicado à determinação das fracções proteicas neste tipo de leites, sendo por isso ensaiado um outro método adaptado a esta finalidade pelos laboratórios suíços da Nestlé. Nesta nota referim-nos a este último método e aos resultados obtidos pela sua aplicação à determinação da lactalbumina em leites humano e humanizados.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas sete amostras de leite em pó humanizado e dez amostras de leite de mulher. As amostras de leite humanizado, correspondendo a várias marcas comerciais, foram adquiridas no mercado em embalagens intactas. Nos respectivos rótulos figuravam indicações relativas à sua qualidade de «humanizados» ou «maternizados». As amostras de leite de mulher — constituída cada uma pela mistura média de leite de duas e três mães — foram amavelmente cedidas pela Maternidade Dr. Alfredo da Costa, sendo a análise normalmente iniciada no dia seguinte ao da colheita e as amostras mantidas no frigorífico nesse intervalo.

Em todas as amostras foram determinados os teores da proteína total e das respectivas fracções proteicas: caseína e lactalbumina.

O método correntemente utilizado nos laboratórios e indicado na bibliografia para o doseamento da caseína e lactalbumina fundamenta-se na sua separação por acidificação. A caseína é calculada multiplicando pelo factor 6,38 o teor de azoto do coaço, determinado pelo método de Kjeldahl. A lactalbumina é obtida do conteúdo de azoto da fracção coagulável do soro, determinada também pelo método de Kjeldahl e multiplicado por 6,38.

A aplicação deste método clássico a leites em que a proteína foi humanizada não conduziu, como já foi referido, a resultados conclu-

centes, o que também foi verificado nos laboratórios suíços da firma Nestlé, no «contrôle» dos seus produtos.

Por esta razão foi ensaiado naqueles laboratórios, o método de Koning e col., *Milchwissenschaft* 26, 1 (1971), modificado e adaptado à proteína humanizada.

Este método foi-nos amavelmente cedido pelos representantes daquela firma em Lisboa e por nós aplicado às amostras analisadas.

O método, que descrevemos sumariamente, baseia-se na diferença de conteúdo dos ácidos aminados cisteína+cistina existentes na caseína e nas proteínas do soro.

A proteína é separada do soro por precipitação com ácido tricloroacético e a seguir hidrolisada com ácido clorídrico 6N, a 110°C durante 24 horas, em atmosfera de azoto. No hidrolisado a cistina é reduzida a cisteína e o conteúdo total de cisteína vai depois combinar-se com o reagente de ninidrina modificado, originando um composto corado susceptível de avaliação espectrofotométrica no comprimento de onda de 560 nm. O teor de cisteína é então calculado através de uma curva padrão e o seu valor é depois corrigido para gramas de cisteína por 100 gramas de proteína, utilizando para este cálculo a proteína contida no sedimento. O teor de proteína do sedimento é calculado pela diferença entre os teores de proteína total do leite e do soro, determinadas ambas pelo método de Kjeldahl.

A percentagem de lactalbumina é dada pela fórmula:

$$\% \text{ Proteínas do soro} = \frac{\text{conteúdo de cisteína corrigido} - 0,26}{3,06 - 0,26} \times 100$$

Aceitam-se como valores de percentagens médias experimentais, para o conjunto daqueles dois aminoácidos na proteína do soro e na caseína, respectivamente 3,06 e 0,26, isto é:

$$\begin{aligned} \text{cisteína+cistina contida na} \\ \text{proteína do soro} &= 3,06\% \\ \text{cisteína+cistina contida na} \\ \text{caseína} &= 0,26\% \end{aligned}$$

Por se tratar de um método recente, ainda não citado na bibliografia corrente, para ajudarmos da sua sensibilidade e precisão aplicámo-lo ao leite humano, visto o teor deste em caseína e em lactalbumina ser bem conhecido.

Para uma melhor apreciação da composição das fórmulas dos leites maternizados em estudo, a sua análise foi completada com outras determinações, como água, gordura total e sua composição em ácidos gordos, hidratos de carbono, cinzas, cálcio, fósforo, ferro, e vitaminas A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, e C determinadas pelos métodos correntes. A composição da gordura foi obtida por cromatografia em fase gasosa. Na Tabela da Composição dos Alimentos Portugueses vem indicado um resumo bem explícito dos métodos analíticos utilizados.

## RESULTADOS E SUA APRECIÇÃO

O método ensaiado para a determinação do teor da lactalbumina revelou-se sensível e preciso quando aplicado a leites humano e humanizados. Tem, porém, o inconveniente de ser um método de técnica delicada e dispendiosa, dado o elevado custo de alguns dos reagentes.

Faremos em seguida referência aos resultados obtidos nas amostras de leites humano e humanizados.

### 1) — Leite humano

Nas amostras analisadas os valores da proteína total oscilaram entre 1,2 e 1,9 g por 100 ml, os da lactalbumina entre 0,7 e 1,1 g por 100 ml e os da caseína entre 0,5 e 0,7 por 100 ml, obtendo-se como valores médios, expressos em g por 100 ml:

|                |         |
|----------------|---------|
| proteína total | = 1,4 g |
| caseína        | = 0,6 g |
| lactalbumina   | = 0,9 g |

o que corresponde a uma relação caseína/lactalbumina de 1:1,5. Estes valores estão de acordo com os citados na bibliografia.

### 2) — Leites humanizados

No Quadro 2 figuram os resultados referentes aos teores da proteína total e das fracções proteicas dos leites maternizados, expressos em gramas por 100 gramas do produto. Figuram também os valores da relação caseína/lactalbumina nas diferentes amostras.

Os resultados obtidos sugerem-nos as seguintes considerações.

Dos leites humanizados apenas as marcas SMA-S26, NAN e NATIVA, apresentando teores

semelhantes de proteína total, revelam, pelo valor da relação caseína/lactalbumina idêntico ao do leite materno (1:1,5), que a técnica de preparação conduziu à maternização completa da proteína. Nestes leites a proteína tem uma constituição análoga à do leite humano, o que está de acordo com as indicações que figuram nos rótulos das respectivas embalagens.

## QUADRO 2

### Leites humanizados

Composição por 100 gramas do produto

| Marca comercial | Proteína total g | Caseína g | Lactalbumina g | Relação cas.: lact. |
|-----------------|------------------|-----------|----------------|---------------------|
| SMA — S 26      | 12,3             | 4,8       | 7,0            | 1:1,5               |
| Nan             | 12,4             | 4,6       | 7,3            | 1:1,6               |
| Nativa          | 13,5             | 5,9       | 7,6            | 1:1,3               |
| Materna         | 11,6             | 6,6       | 5,0            | 1,3:1               |
| Aptamil         | 12,9             | 9,2       | 3,7            | 2,5:1               |
| Mamex           | 13,7             | 11,5      | 2,2            | 5:1                 |
| Maternolacto    | 22,3             | 18,4      | 3,9            | 5:1                 |

O MATERNA e o APTAMIL, fórmulas também com proteína total baixa, apresentam já teores de caseína superiores aos da lactalbumina. No MATERNA a relação entre estas duas fracções é de 1,3:1, enquanto que no APTAMIL é de 2,5:1. Isto significa que parte da caseína destes leites foi substituída por lactalbumina sendo, porém, essa substituição, nos dois leites, feita em proporções diferentes. A maternização proteica destas fórmulas deu-se, portanto, no sentido de uma diminuição da relação caseína/lactalbumina não se atingindo, no entanto, a completa humanização da proteína.

O leite MATERNA é designado no rótulo da respectiva embalagem, como «leite especial para recém-nascidos» com um teor de proteína total de 11%, o que está de acordo com o resultado por nós obtido, não se fazendo, porém, qualquer referência às percentagens de caseína e lactalbumina.

Quanto ao APTAMIL, designado como «alimento lácteo preparado, destinado a bebés desde o nascimento até ao fim da lactância», tem indicado no rótulo que o teor de proteína total é de 12,5% e que a «caseína do leite de

vaca foi parcialmente substituída pela lactalbumina de digestão mais fácil». Estas indicações estão de acordo com os valores analíticos obtidos.

No MAMEX, a proteína, com um teor de 13,7%, apresenta uma relação caseína/lactalbumina de 5:1 característica da proteína do leite de vaca. O baixo conteúdo em proteína total significa que o leite foi sujeito a uma diluição que teve em vista baixar o seu teor total. Houve, pois, uma maternização no que diz respeito à quantidade mas não à qualidade da proteína, tipo de humanização a que já nos referimos na introdução deste trabalho. No rótulo da embalagem o produto é designado como «similar ao leite materno» e na composição analítica menciona-se apenas um teor de proteínas lácteas de 13,8%.

O MATERNOLACTO contém uma percentagem de proteína total elevada, em que a relação caseína/lactalbumina é de 5:1. A proteína deste leite, quer em quantidade quer em qualidade, mantém as características da do leite de vaca. No rótulo da embalagem deste produto também não se faz qualquer referência à maternização da proteína.

Como já atrás referimos, para uma melhor apreciação dos produtos em causa, além do estudo da proteína foi também determinada a sua composição em nutrientes energéticos, minerais e vitamínicos.

Dado que em trabalhos portugueses do nosso conhecimento não figuram análises tão pormenorizadas de produtos deste tipo, parece-nos ter interesse incluir nesta nota os resultados analíticos obtidos.

Do Quadro 3 constam os valores da composição centesimal, valor calórico, elementos minerais (cálcio, fósforo e ferro) e vitaminas (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e C) referidos a 100 gramas do produto em pó; a composição da gordura em ácidos gordos figura no Quadro 4.

Sobre estes resultados faremos algumas considerações.

A matéria gorda do SMA — S26 mostra, pela sua composição em ácidos gordos, ser constituída, predominantemente, por gordura vegetal, apenas com alguns vestígios da gordura láctea. Isto está de acordo com o rótulo da embalagem em que se declara que o «leite é desnatado e adicionado de óleos de soja, coco e trigo».

O MAMEX apresenta também uma gordura praticamente só de origem vegetal o que condiz com a designação «leite de vaca sem gorduras, adicionado de gorduras vegetais ajustadas às características físico-químicas da gordura do leite materno» mencionada na embalagem.

A gordura existente no NAN e no NATIVA é muito idêntica nos seus ácidos gordos, mostrando-se ambas constituídas por uma mistura de gorduras láctea e vegetal, o que está de acordo com o declarado nos respectivos rótulos. Na embalagem do NAN vem especificado, até, que 5,2% da matéria gorda é formada por «gordura vegetal rica em ácidos gordos não saturados».

O MATERNOLACTO apresenta também uma mistura de gordura láctea e vegetal, destacando-se na sua composição o elevado teor em ácido oleico o que leva a supor ter sido o leite adicionado de azeite. Na embalagem menciona-se a adição de um óleo vegetal.

No APTAMIL a matéria gorda é formada por mistura de gorduras láctea e vegetal contendo, porém, um teor de gordura láctea inferior à dos três últimos leites considerados. No respectivo rótulo declara-se que a «gordura do leite consiste em gorduras lácteas e vegetais com elevado conteúdo em ácidos gordos não saturados», o que está de acordo com o resultado obtido.

O MATERNA é o único dos leites estudados em que a gordura, pelos seus ácidos gordos, mostra ser só do tipo lácteo. No rótulo da embalagem também não figura qualquer referência à adição de gorduras vegetais.

Podemos concluir que, com excepção do MATERNA, os leites analisados apresentam a gordura humanizada por adição de gorduras vegetais. Esta adição, aumentando a percentagem de ácidos gordos insaturados, torna a relação ácidos gordos saturados/ácidos gordos insaturados inferior à unidade, tal como sucede no leite materno.

Quanto aos hidratos de carbono, a lactose é o único glúcido presente em cinco destes leites. O MATERNA e o APTAMIL têm, além de lactose, di e poli-holosídeos, como sacarose e malto-dextrinas. O conteúdo total dos hidratos de carbono nestas duas marcas é, porém, em valor numérico, idêntico ao dos outros leites.

Do ponto de vista do conteúdo em sais minerais apenas o MATERNOLACTO apresenta teores da ordem dos do leite de vaca. Em todas

as outras marcas o teor mineral foi rebaixado, por técnicas de fabrico adequadas, com o fim de evitar uma sobrecarga renal e, assim, poupar os rins dos lactentes.

Alguns destes leites apresentam-se também enriquecidos em ferro orgânico e nas vitaminas A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e C.

Como conclusão do estudo feito verifica-se que todas as marcas dos leites humanizados que analisamos, além de apresentarem caracteres organolépticos normais, tinham as suas composições de acordo com as mencionadas nos rótulos das embalagens.

## AGRADECIMENTO

Queremos expressar os nossos sinceros agradecimentos à Sr.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Ernestina da Silva Graça por todo o estímulo e revisão crítica do presente trabalho.

Estamos também muito gratos à Sr. Dr.<sup>a</sup> Raquel Carvalho de Almeida pela cooperação dos sectores que dirige e à Sr.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Beatriz Charters Monteiro, que teve a seu cargo a cromatografia em fase gasosa.

Agradecemos igualmente a amável colaboração dos Srs. Drs. L. F. Rodrigues Alves e J. M. Hipólito de Aguiar.

### QUADRO 3

#### Leites humanizados

Composição por 100 gramas do produto

| Marca Comercial | Água<br>g | Proteína<br>total<br>g | Caseína<br>g | Lactalbumina<br>g | Gordura<br>g | Lactose<br>g | Di e Polis-<br>sacarídeos<br>g | Valor<br>energético<br>cal. | Minerals            |              |               |             | Vitaminas |                      |                      |         |
|-----------------|-----------|------------------------|--------------|-------------------|--------------|--------------|--------------------------------|-----------------------------|---------------------|--------------|---------------|-------------|-----------|----------------------|----------------------|---------|
|                 |           |                        |              |                   |              |              |                                |                             | Cinza<br>total<br>g | Cálcio<br>mg | Fósforo<br>mg | Ferro<br>mg | A<br>U.I. | B <sub>1</sub><br>mg | B <sub>2</sub><br>mg | C<br>mg |
| SMA — S26       | 0,9       | 12,3                   | 4,8          | 7,0               | 27,5         | 57,7         | n.a.                           | 523                         | 2,1                 | 300          | 250           | 6,3         | 2200      | 0,93                 | 1,40                 | 50      |
| Nan             | 2,1       | 12,4                   | 4,6          | 7,3               | 26,0         | 56,8         | n.a.                           | 510                         | 2,7                 | 410          | 350           | 6,8         | 1500      | 0,51                 | 1,00                 | 24      |
| Nativa          | 2,8       | 13,5                   | 5,9          | 7,6               | 28,0         | 53,6         | n.a.                           | 520                         | 2,7                 | 490          | 412           | 4,6         | 1400      | 0,56                 | 2,00                 | 31      |
| Materna         | 1,7       | 11,6                   | 6,6          | 5,0               | 23,0         | 52,5         | <sup>a</sup> 6,8               | 491                         | 4,4                 | 510          | 440           | —           | 1550      | 0,23                 | 1,30                 | 22      |
| Aptamil         | 3,5       | 12,9                   | 9,2          | 3,7               | 23,0         | 31,8         | <sup>b</sup> 26,4              | 491                         | 2,3                 | 500          | 430           | 0,9         | 1500      | 0,49                 | 0,63                 | 50      |
| Mamex           | 2,4       | 13,7                   | 11,5         | 2,2               | 25,3         | 55,3         | n.a.                           | 504                         | 3,3                 | 528          | 388           | 4,0         | 1500      | 1,11                 | 1,93                 | vest.   |
| Maternolacto    | 2,8       | 22,3                   | 18,4         | 3,9               | 19,0         | 50,3         | n.a.                           | 456                         | 5,6                 | 726          | 617           | 0,7         | vest.     | 0,28                 | 1,48                 | vest.   |

<sup>a</sup> 2,7% de sacarose e 4,1% de malto-dextrinas.

<sup>b</sup> 14,4% de sacarose e 12,0% de malto-dextrinas.

# QUADRO 4

## Leites humanizados

Gramas por 100 gramas da gordura

Composição da gordura em ácidos gordos determinada por Cromatografia em fase gasosa

| Ácidos gordos                                                              | Marca comercial |       |        |         |         |       |               |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------|--------|---------|---------|-------|---------------|
|                                                                            | SMA-S26         | Nan   | Nativa | Materna | Apatmil | Mamex | Materno-lacto |
| C <sub>6</sub> —n—Hexanoico ( <i>caproico</i> )                            | ?               | 0,4   | 0,2    | 0,6     | 0,1     | vest. | 0,2           |
| C <sub>8</sub> —n—Octanoico ( <i>caprilico</i> )                           | 0,5             | 0,5   | 0,5    | 0,8     | 0,2     | 0,5   | 0,2           |
| C <sub>10</sub> —n—Decanoico ( <i>cáprico</i> )                            | 0,8             | 1,3   | 1,2    | 2,2     | 0,5     | 0,6   | 0,7           |
| C <sub>10:1</sub> +C <sub>11</sub> —Decenoico+Endecanoico                  |                 | 0,2   | 0,1    | 0,3     | vest.   |       | 0,1           |
| C <sub>12</sub> —n—Dodecanoico ( <i>laurico</i> )                          | 7,2             | 2,0   | 7,0    | 2,9     | 3,3     | 5,1   | 1,1           |
| C <sub>13</sub> —n—Tridecanoico                                            |                 |       | vest.  |         |         |       |               |
| C <sub>13:1</sub> —Tridecenoico                                            |                 |       | vest.  |         |         |       |               |
| C <sub>14</sub> —n—Tetradecanoico ( <i>mirístico</i> )                     | 7,0             | 7,3   | 7,9    | 10,2    | 3,6     | 3,1   | 4,3           |
| C <sub>14:1</sub> —Tetradecenoico                                          | ?               | 1,0   | 0,7    | 1,1     | ?       |       | 0,7           |
| C <sub>15</sub> —n—Pentadecanoico                                          | ?               | 1,1   | 0,8    | 1,5     | ?       |       | 0,8           |
| C <sub>15:1</sub> —Pentadecenoico                                          |                 |       | vest.  |         |         |       |               |
| C <sub>15:1</sub> +C <sub>16r</sub> —Pentadecenoico+<br>+iso-Hexadecanoico |                 | vest. |        | 0,2     |         |       | vest.         |
| C <sub>16</sub> —n—Hexadecanoico ( <i>palmitico</i> )                      | 14,7            | 23,7  | 21,4   | 30,4    | 30,9    | 31,0  | 17,9          |
| C <sub>16:1</sub> —9—Hexadecenoico ( <i>palmitoleico</i> )                 | 1,3             | 1,6   | 1,1    | 1,7     | 0,4     | 0,3   | 1,3           |
| C <sub>17</sub> —n—Heptadecanoico                                          | 0,6             | ?     | 0,5    | 1,2     | vest.   | vest. | ?             |
| C <sub>17:1</sub> —Heptadecenoico                                          | 0,4             |       | vest.  | 0,5     | vest.   |       |               |
| C <sub>17:1</sub> +C <sub>18r</sub> —Heptadecenoico+<br>+iso-Octadecanoico |                 | vest. |        |         |         |       | 0,4           |

| Ácidos gordos                                                                                     | Marca comercial |       |        |         |         |       |               |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------|--------|---------|---------|-------|---------------|
|                                                                                                   | Sma-S26         | Nan   | Nativa | Materna | Aptamil | Mamex | Mater-nolacto |
| $C_{18}$ —n—Octadecanoico ( <i>esteàrico</i> )                                                    | 9,1             | 10,0  | 6,5    | 11,2    | 6,0     | 5,3   | 7,1           |
| $C_{18:1}$ —9—Octadecenoico ( <i>oleico</i> )                                                     | 30,6            | 35,0  | 35,0   | 29,3    | 37,9    | 36,4  | 57,9          |
| $C_{18:2}$ —9,12—Octadecadienoico ( <i>linoleico</i> )                                            | 25,2            | 13,7  | 13,8   | 2,5     | 16,0    | 17,5  | 5,6           |
| $C_{18:3}$ —9,12,15—Octadecatrienoico ( <i>linolénico</i> )                                       |                 |       |        | 3,4     |         | vest. |               |
| $C_{20}$ —n—Icosanoico ( <i>araquídico</i> )                                                      |                 |       | 0,8    |         |         | vest. |               |
| $C_{18:3}$ +/ou $C_{20}(?)$ +/ou $C_{20:1}(?)$ —<br>—Linolénico +/ou Araquídico<br>+/ou Gadoleico | 2,7             | 2,3   | 1,4    |         | 1,0     |       | 1,6           |
| $C_{22}$ —n—Docosanoico ( <i>Behénico</i> )                                                       |                 |       | 1,1    |         |         |       |               |
| Saturados                                                                                         | 39,9            | 46,3  | 47,9   | 61,0    | 44,6    | 45,6  | 32,3          |
| Insaturados                                                                                       | 57,5            | 51,3  | 50,9   | 38,5    | 54,3    | 54,2  | 65,5          |
| <u>Saturados</u>                                                                                  | 0,7             | 0,9   | 0,9    | 1,6     | 0,8     | 0,8   | 0,5           |
| Insaturados                                                                                       |                 |       |        |         |         |       |               |
| Poli-insaturados                                                                                  | ±27,9           | ±16,0 | ±14,0  | 5,9     | ±17,0   | 17,5  | ±7,2          |

## BIBLIOGRAFIA

- BENDER, A. E. — Dietetic Foods. Leonard Hill Books, Londres, 1967.
- AITKEN, F. C. e HYTTEN F. E. — Infant Feeding: Comparison of Breast and Artificial Feeding. *Nutrition Absts. Revs.*, 30: 341, 1960.
- BURTON, B. T. — Nutricion Humana. Pub. Cient. 146, O. P. S. — O. M. S., Washington, 1966.
- WILLIAMS, H. H. e ITHACA, N. Y. — Differences Between Cow's and Human Milk. *J. Am. Med. Assoc.*, 175: 104, 1961.
- WOODRUFF, C. W., M. D., NASHVILLE, TENN — Protein Requirements of Full-Term Infants. *J. Am. Med. Assoc.*, 175: 114, 1961.
- DOROTHY L. DUNCAN — The Physiological Effects of Lactose. *Nutrition Absts. Revs.*, 25: 309, 1955.
- ADAM, D. J. D., HANSEN, A. E. e WIESE, H. F. — Essential Fatty Acids in Infant Nutrition (II. Effect of Linoleic Acid on Caloric Intake). *J. Nutrition*, 66: 555, 1958.
- BISERTE, G., BRETON, A., e FONTAINE, G. — Les Protides du Lait. *Le Lait*, XXXVII-361-362: 9, 1957.
- VALDEHITA, M. T., CARBALLIDO, A., e GAMBOA, M. S. — Contribucion al Estudio Bromatologico de Alimentos Dieteticos Infantiles Preparados. *Anal. Bromatol. XXIII-1*: 61, 1971.
- GONÇALVES FERREIRA, F. A. e SILVA GRAÇA, M. E. Tabela da Composição dos Alimentos Portugueses. Instituto Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge, Lisboa, 1963.
- DUTRA DE OLIVEIRA, J. E. — Proteínas Animais e Vegetais na Alimentação Infantil. *Arquivos Brasileiros de Nutrição*, 24: 73, 1968.

## ABREVIATURAS E SINAIS EMPREGADOS NOS QUADROS

|       |                                             |
|-------|---------------------------------------------|
| Cal.  | — Caloria                                   |
| Vest. | — Vestígios                                 |
| n. a. | — não acusa                                 |
| ±     | — Quantidade aproximada                     |
| ?     | — Não foi possível calcular a quantidade    |
| —     | — Indica que não se efectuou a determinação |
| g     | — Grama                                     |
| mg    | — Miligrama                                 |
| µg    | — Micrograma, milimiligrama, gama           |
| ml    | — Mililitro                                 |
| U. I. | — Unidade internacional                     |





# INQUÉRITO À PREVALÊNCIA DAS COAGULOPATIAS NO NORTE DE PORTUGAL<sup>1</sup>

(Nota prévia)

J. M. de Pina Cabral<sup>2</sup>  
Pedro Vanzeller<sup>3</sup>  
Licínio Poças<sup>4</sup>  
Fernando Rente<sup>5</sup>  
M. Conceição Coelho<sup>6</sup>  
Aloísio M. Coelho<sup>7</sup>

## ABSTRACT

*A survey is being carried out at the present moment by the National Institute of Health, in co-operation with the Department of Physiology of the Faculty of Medicine of Oporto (Portugal), to determine the prevalence of coagulopathies in the North of Portugal. The results obtained with the first 50 patients observed are shown, including classification of the disease and the clinical, orthopedic and psychological abnormalities found out. The usefulness of the foundation in Portugal of an Hemophilia Society, through which the multiple therapeutic and prophylactic measures indicated in this kind of patients would be taken, is briefly discussed.*

Com o fim de conseguir elementos para uma avaliação da importância das coagulopatias como problema de saúde pública no nosso meio, decidi a Direcção-Geral de Saúde, em 1969, empreender um inquérito à prevalência destas perturbações no Norte do País, o qual foi levado a cabo pela Delegação no Porto do então Instituto Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge (actual Instituto Nacional de Saúde), que, para o efeito, solicitou a colaboração especializada do Serviço de Fisiologia da Faculdade de Medicina do Porto.

Estabeleceu-se que, numa primeira fase, o inquérito incidiria exclusivamente sobre os casos de deficiência congénita dos factores plasmáticos da coagulação sanguínea, e que

nele só seriam abrangidos os distritos do Porto, Braga, Aveiro e Viana do Castelo.

Expondo as razões determinantes e as finalidades do Inquérito, foi enviada uma circular a todos os médicos e autoridades sanitárias dos quatro distritos mencionados, bem como um impresso onde se lhes solicitava a informação de nomes e moradas de doentes com a referida

(1) Trabalho da Delegação do Instituto Nacional de Saúde no Porto e do Serviço de Fisiologia da Faculdade de Medicina do Porto (Director: Prof. Bragança Tender).

(2) Serviço de Fisiologia.

(3) Serviço de Terapêutica Médica.

(4) Serviço de Propedêutica Médica.

(5) Serviço de Psiquiatria.

(6) Serviço de Terapêutica Médica.

(7) Instituto Nacional de Saúde.

patologia. Receberam-se 38 respostas, das quais 16 de médicos que informaram não possuírem esse tipo de patologia entre os seus doentes, mas, mediante as respostas positivas e a consulta de alguns ficheiros hospitalares, foi possível localizar, até agora, 65 casos de doença hemorrágica, com muita probabilidade de causa plasmática. A grande maioria desses doentes já foi contactada e muitos deles participaram já do esquema geral do estudo, que compreendeu as seguintes etapas:

— *Observação clínica*, através da qual se procurou determinar as manifestações clínicas actuais e progressas da doença, com elaboração, o mais completa possível, de uma árvore genealógica, a qual permitiu localizar casos esboçados ou suspeitos entre os familiares, cujo estudo se procurou efectuar ulteriormente.

— *Estudo laboratorial*, abrangendo provas de coagulabilidade geral (tromboelastograma e tempo da tromboplastina parcial), determinação dos tempos de sangria pelos métodos de Ivy e de Duke, contagem de plaquetas e estudo da adesividade plaquetária pelo método de Hellem II. Além do tempo de Quick, efectuou-se, ainda, o doseamento dos factores I, II, V, VII, VIII, IX, X e, em alguns casos, XI e XII.

— *Estudo ortopédico*. Em todos os doentes foi colhida uma anamnese pormenorizada quanto a manifestações músculo-esqueléticas e articulares. Mediu-se a limitação de mobilidade articular concomitantemente com a intensidade dolorosa, determinaram-se os perímetros articulares e medianos dos membros, e avaliou-se o grau de atrofia muscular. Fez-se o estudo radiológico das articulações atingidas, de modo a detectarem-se manifestações sugestivas de artropatias hemofílicas.

— *Estudo psicológico*, constando, além dum exame psiquiátrico, da aplicação do «Mandele-ley personality inventory test» e do «Teste das matrizes progressivas», de RAVEN.

Os primeiros 50 doentes observados podem ser agrupados de acordo com as seguintes frequências de diagnósticos:

|                                           |            |
|-------------------------------------------|------------|
| Hemofilia A» (Deficiência em factor VIII) | — 32 casos |
| Hemofilia «B» (Deficiência em factor IX)  | — 10 casos |
| Doença de von Willebrand                  | — 6 casos  |

Deficiência em factor II  
(Protrombina) — 1 caso

Deficiência em factor VII  
(Proconvertina) — 1 caso

O exame clínico de 33 doentes revelou problemas articulares em 36% dos casos, epis-taxis em 39%, hemorragias digestivas em 21%, hematurias em 39%, gengivorragias ou hemorragias após extracções dentárias em 45% e hemorragias cutâneas em 88%.

De 50 doentes observados do ponto de vista ortopédico, 22 não apresentavam qualquer manifestação articular da doença, nem fizeram referência a passado patológico articular. Dos 28 doentes restantes, em que se referenciou envolvimento articular durante a evolução da coagulopatia, 47% apresentavam normalidade do aparelho locomotor na altura da observação, enquanto que 53% manifestaram sequelas de crises articulares, quer sob a forma de deformidades das articulações, quer como atro-fias musculares ou encurtamento de membros, ou ainda como limitação dos movimentos das articulações.

As crises articulares surgiram antes dos 2 anos de idade em 3 doentes, entre os 2 e os 7 anos em 18, entre os 7 e os 11 anos em 3, e, nos restantes 4, entre os 11 e os 16 anos de idade. A duração das crises articulares agudas, que obrigaram o doente a repouso absoluto da articulação, variou entre 4 e 10 dias, mas em 7 doentes prolongou-se além de 1 mês, atingindo, por vezes, 4 meses. Em 2 doentes, houve necessidade de se proceder ao esvaziamento cirúrgico do sangue intra-articular.

O pior prognóstico, quanto ao tempo de duração das crises articulares, verificou-se ao nível das coxo-femorais e das tibio-társicas. As articulações mais atingidas foram, por ordem decrescente de frequência, os joelhos (71% dos casos), as tibio-társicas (50%), os cotovelos (28,5%) e as coxo-femorais (7%); não se encontrou entre os casos observados envolvimento da coluna vertebral, das sacro-ilíacas, nem das articulações periféricas dos pés e das mãos.

Em 30 doentes observados sob o ponto de vista psicológico, e cujas idades variavam entre os 9 e os 40 anos, verificaram-se anomalias psíquicas, de carácter reactivo em relação à sua doença principal, em 7 crianças e em 12 adultos.

Tratava-se, geralmente, de neuroses ansiosas (13 casos) ou depressivas (6 casos); não se observaram situações psicóticas. Cerca de 65% dos casos de neuroses ficaram compensados após tratamento do surto actual da doença hemorrágica.



Uma vez levado a cabo o mais completamente possível o inventário dos casos de coagulopatias nos 4 referidos distritos, esperamos poder efectuar uma série de estudos que reputamos de grande interesse nos campos hematológico, clínico, de saúde pública e social.

Assim, dado que na etiopatogenia das coagulopatias se tem referido ultimamente a possibilidade da existência de moléculas anormais de vários factores da coagulação, procuraremos reclassificar os nossos doentes na base dum critério imunológico. Com a colaboração do «Centre National de Transfusion Sanguine» de Paris (Prof. J. P. Soulier), já conseguimos estudar imunologicamente 2 dos nossos doentes, deficientes um em factor II e outro em factor VII.

Procuraremos, também, verificar qual a incidência nos doentes portugueses de anticorpos específicos contra os factores da coagulação, que normalmente aparecem em consequência da repetição das transfusões sanguíneas. A comparação da nossa estatística nesse sector, obtida numa população só tratada por sistema em situações graves, com as estatísticas recentemente obtidas em países onde, sobretudo no caso da hemofilia «A», se vem adoptando a terapêutica precoce e muitas vezes, até, profiláctica com concentrados de factor VIII, constituirá uma contribuição para um melhor conhecimento das vantagens e inconvenientes desse tratamento intensivo.

A detecção de um caso de deficiência em factor II, considerado como a coagulopatia menos frequentemente observada, já permitiu a efectivação dum trabalho hematológico que constitui uma achega para o estudo da velocidade de catabolização da protrombina.

Estamos cientes que um melhor conhecimento da incidência no nosso meio de todos os problemas que as coagulopatias levantam

nos mais variados campos, chamará a atenção para a urgência de, a exemplo do que há bastantes anos já se fez noutros países, se fundar em Portugal uma Associação de Hemofílicos, cuja finalidade é, exactamente, a prevenção e a tentativa de solução dos referidos problemas. Normalmente, são membros destas Associações os hemofílicos, seus representantes legais, e outras pessoas interessadas pela problemática deste tipo de doentes, desde o aspecto científico até ao aspecto social.

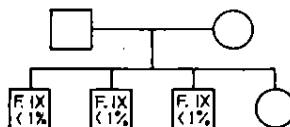
Verifica-se que através duma mentalização adequada do doente e dos seus familiares, que não tem sido posta em prática sistematicamente no nosso meio, e dum esquema terapêutico que já está sendo ensaiado actualmente no estrangeiro ao nível de «home care», se poderá diminuir significativamente o número de acidentes hemorrágicos, nomeadamente as hemartroses, cujas sequelas deixam tão frequentemente um certo grau de incapacidade. Esta incapacidade poderá ainda ser atenuada se, através da Associação de Hemofílicos, se providenciar na aplicação de técnicas cirúrgicas adequadas e, sobretudo, se a recuperação pela fisioterapia, actualmente medida de excepção entre os nossos doentes, passar a ser considerada uma atitude sistemática.

Urge influenciar o doente e o seu meio ambiente no sentido de não se continuarem a verificar anomalias, como a escolha de profissões não adequadas e de desportos contra-indicados. Entre os exemplos verificados, alguns doentes escolheram como profissão a de motorista, outros encontram-se actualmente integrados no exército, e um outro, com frequentes hemartroses tíbio-társicas, pratica o desporto da pesca submarina.

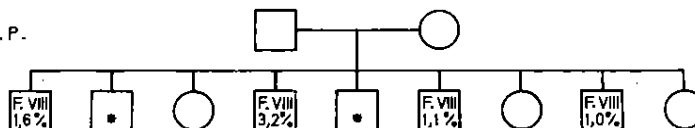
No sentido de diminuir acentuadamente a incidência da hemofilia no nosso País, impõe-se tomar rigorosas medidas de aconselhamento genético. Entre as famílias já estudadas (Figura 1), conta-se um jovem casal, actualmente com 4 filhos, dos quais 3 são hemofílicos «B» e o 4.º é uma rapariga, provavelmente futura transmissora do gene patológico. Outro casal já teve 9 filhos, dos quais 4 são hemofílicos «A» e 3 raparigas. Outro casal tem actualmente 14 filhos, entre os quais se contam 4 hemofílicos «B» e 6 raparigas.

Orientados pelas árvores genealógicas estabelecidas, conseguimos já detectar entre os familiares dos doentes alguns portadores de formas leves de hemofilia, que se comportavam

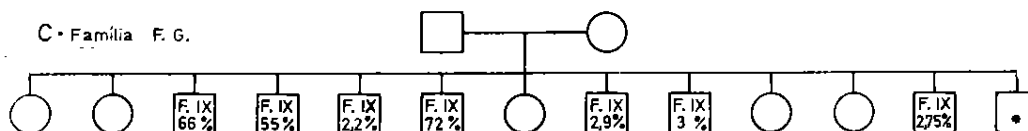
A • Família S.R.



B • Família C.P.



C • Família F.G.



\* Rapazes não estudados

aparentemente como normais. Este conhecimento reveste-se de alto interesse clínico, nomeadamente no caso de os referidos indivíduos virem a necessitar de futuras intervenções cirúrgicas.

■

Cremos que a análise dos dados até agora obtidos, cujo breve resumo acabamos de expor, nos permite concluir pela utilidade do pros-

seguimento do Inquérito à Prevalência das Coagulopatias no Norte de Portugal.

Nessa ordem de ideias, a publicação desta nota prévia tem ainda como finalidade solicitar novamente a colaboração dos médicos exercendo clínica nos 4 distritos atrás referidos, no sentido de nos comunicarem qualquer novo caso de coagulopatia de que, entretanto, tenham tomado conhecimento.

## MICROBIOLOGIA DO SUCO JEJUNAL NA CIRROSE HEPÁTICA \*

(Nota Prévia sobre a Pesquisa de Anaeróbios)

Guida Portela-Gomes<sup>1</sup>  
Ricardina Dantas<sup>2</sup>  
Adriana Figueiredo<sup>3</sup>  
Ilda Ribeiro Pires<sup>4</sup>  
J. Pinto Correia<sup>5</sup>

### ABSTRACT

*The aim of this paper is to present our early results obtained by means of different techniques which are specially appropriate for studying the anaerobic flora of the juice in the jejunum. They refer to four patients, two males and two females, under treatment for cirrhosis of the liver confirmed in the pathological department of Santa Maria Hospital.*

Em 1960, DAWSON e ISSELBACHER sugeriram, pela primeira vez, que a esteatorreia podia ser devida a desconjugação bacteriana dos sais biliares. DRASAR, HILL e SHINER, em 1966, mostraram que, «in vitro», apenas as bactérias anaeróbias eram capazes desta desconjugação.

Normalmente o duodeno, jejuno e íleon proximal têm uma microflora Gram positiva, constituída por *Streptococcus*, *Lactobacillus* aeróbios, *Staphylococcus* e Fungos, em concentrações inferiores a  $10^3$  por ml de suco. As bactérias Gram negativas e os anaeróbios, abundantes no cólon, começam a aparecer apenas no íleon distal.

Desde o século passado que se sabe haver alterações da absorção na cirrose hepática. Porém, a microbiologia do intestino delgado nos cirróticos só foi estudada, pela primeira vez, por MARTINI et al., em 1957 (Quadro I).

Estes autores encontraram concentrações bacterianas aumentadas até  $10^6$ , no jejuno, em 75% de 12 doentes com cirrose hepática, isolando bacilos Gram negativos aeróbios (*Escherichia coli*, *Proteus* e *Pseudomonas*) e bacilos anaeróbios (*Lactobacillus* e *Bacteroides*). Em 1969, DELLIPANI isolou bacilos Gram negativos aeróbios e *Lactobacillus* anaeróbios em

---

(\*) Trabalho apresentado na reunião da Sociedade Portuguesa da Gastrenterologia, realizada em Coimbra em 2 de Dezembro de 1972.

(1) Interna da Internato de Especialidade do Hospital de Santa Maria.

(2) Assistente de 1.ª do Instituto Nacional de Saúde.

(3) Investigadora do Instituto Nacional de Saúde.

(4) Assistente de 2.ª do Instituto Nacional de Saúde.

(5) Professor Extraordinário da Faculdade de Medicina de Lisboa.

# QUADRO I

## Microbiologia intestinal em doentes com cirrose hepática

(Revisão da literatura)

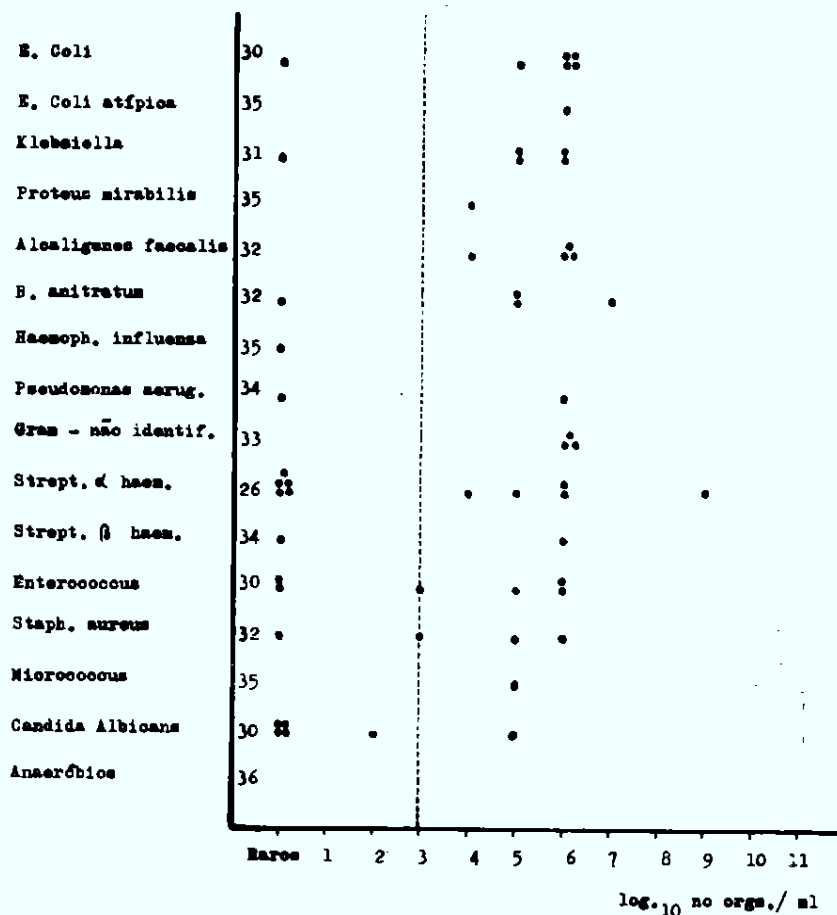
|                    | N.º de casos | Casos c/<br>aler. | Conteúdo bacteriano do jejuno                                                                                                          | Concent. máx<br>obs./ml |
|--------------------|--------------|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| MARTINI<br>1957    | 12           | 75%               | E. coli 75%<br>Proteus, Pseudomonas 25%<br>Strept. α hemol, Staph, albus 50%<br>Strept. faecalis 75%<br>Lactobacillus, Bacteroides 15% | 10 <sup>6</sup>         |
| MARIN<br>1969      | 20           | —                 | Bactérias Gram +                                                                                                                       | <10 <sup>3</sup>        |
| DELLIPIANI<br>1969 | 12           | 58%               | E. coli 58+<br>Strept. 25%<br>Alkalescens 8%<br>Citrobacter 8%<br>Lactobacillus 8%                                                     | 10 <sup>6</sup>         |
| GORBACH<br>1970    | 14           | 85%               | Klebsiella 78%<br>Proteus 7%<br>Bacteroides 28%                                                                                        | 10 <sup>4</sup>         |
| LAL<br>1972        | 24           | 50%               | E. coli 50%<br>Klebsiella 30%<br>Proteus 8%<br>Fusiformis 12,5%<br>Bacteroides 12,5%                                                   | 10 <sup>7</sup>         |

concentrações máximas de  $10^6$  por ml, em 7 de 12 casos. Pelo contrário, MARIN et al, em 1969, obtiveram valores inferiores a  $10^3$  de germes Gram positivos, num grupo de 20 cirróticos. GORBACH et al em 1970 encontraram uma média de  $10^4$  colónias por ml de bactérias Gram negativas aeróbias e *Bacteroides* em 85% de 14 casos. LAL et al, em 1972, também encontraram concentrações de  $10^4$  de bactérias Gram negativas aeróbias, bem como de *Fusiformis* e outros *Bacteroides*, mas apenas em metade de 24 casos.

Além destes cinco autores Pinto Correia e col. publicaram em 1970 um estudo da microbiologia intestinal em 36 doentes cirróticos. O conteúdo intestinal era estéril em 11 casos

e em 7 o crescimento bacteriano não era significativo. Nos restantes 18 doentes (50% dos casos), isolaram-se microrganismos em número superior a  $10^3$  por ml (Fig. 1): várias estirpes de bacilos Gram negativos em concentrações superiores a  $10^3$ , em 14 doentes (38,8%); cocos Gram positivos (*Streptococcus* e *Staphylococcus*) em concentrações significativas, em 18 casos. Porém, em nenhum dos 36 casos se isolaram anaeróbios, apesar de se terem realizado sempre culturas em anaerobiose.

O objectivo desta nota prévia é a apresentação dos nossos primeiros resultados obtidos





com técnicas diferentes, especialmente apropriadas para o estudo da flora anaeróbia no suco jejunal. Referem-se a 4 doentes, 2 do sexo masculino e 2 do sexo feminino, internados no Serviço de Patologia Médica do Hospital de Santa Maria, com o diagnóstico de cirrose hepática, confirmado por biópsia.

## MÉTODOS

A colheita do suco entérico foi feita por aspiração manual após intubação peroral com uma sonda de Miller-Abbott previamente esterilizada, com a extremidade distal localizada, sob controlo radiológico, no jejuno proximal, a cerca de 20 cm do ângulo de Treitz nos casos 1, 2 e 3 e ao nível do mesmo ângulo no caso 4.

Após a colheita, as amostras foram colocadas em pequenos frascos de vidro esterilizados, completamente cheios, bem vedados e mantidos em gelo até ao início do exame laboratorial. As sementeiras foram feitas num período de tempo não superior a uma hora após a colheita.

Utilizaram-se diluições de  $10^{-1}$  a  $10^{-9}$  em caldo nutritivo, para estudos quantitativos. Para as culturas de anaeróbios o diluente e os meios líquidos foram previamente privados de ar e o tempo de manipulação reduzido ao mínimo. Do suco não diluído e de cada diluição, fizeram-se inoculações de 1 ml em meios líquidos e 0,1 ml em meios sólidos. Todas as manipulações se realizaram em câmara asséptica.

As incubações em aerobiose e anaerobiose efectuaram-se à temperatura de 37° C durante o tempo óptimo de desenvolvimento dos germes em estudo. Os meios apropriados à cultura de *Lactobacillus* incubaram-se em microaerofilia a 30° C. Para as culturas em anaerobiose usou-se o sistema Gaspak BBL.

Empregaram-se meios de cultura não selectivos e vários meios selectivos (Fig. 2). Para a flora aeróbia usou-se como meio não selectivo o de Gelose-Sangue e, como meios selectivos, os meios de MacConkey para *Enterobacteriaceae*, o de Slanetz para *Enterococos* e o de Chapman para *Staphylococcus*.

Para a flora anaeróbia e microaerófila empregaram-se meios líquidos e sólidos. Usaram-

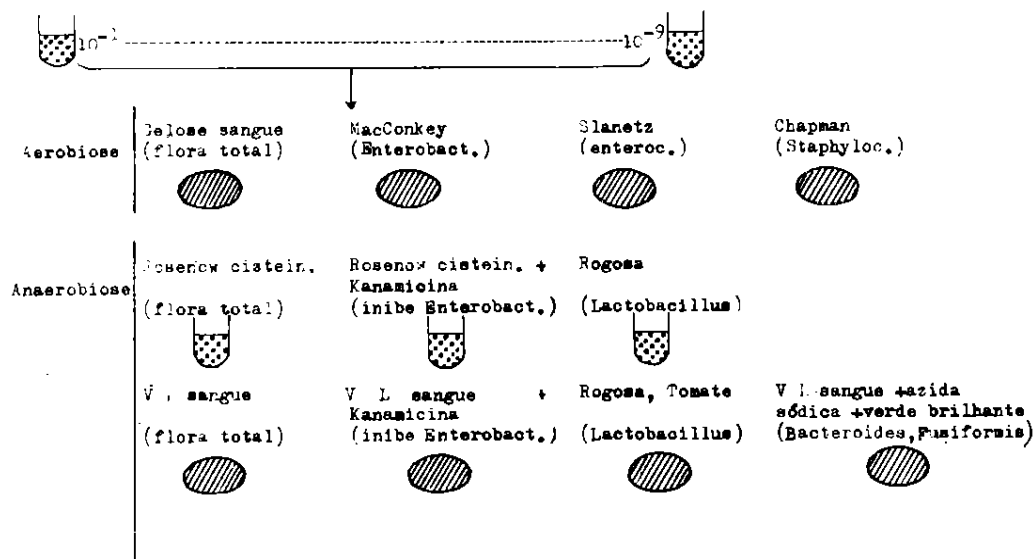
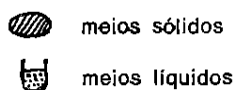


Fig. 2

Meios de cultura



-se como meios não selectivos o de Rosenow cisteinado e o de VL Sangue. Como meios selectivos usaram-se os seguintes: meio de Rosenow cisteinado+Kanamicina e meio de VL Sangue+Kanamicina para os anaeróbios obrigatórios e facultativos com inibição de *Enterobacteriaceae*; meio de VL Sangue+solução de verde brilhante e azida sódica para *Bacteroides* e *Fusiformis*; meios de Rogosa e de Tomate para *Lactobacillus*.

## REUSLTADOS

No Quadro II e Fig. 3 apresentam-se os resultados referentes ao conteúdo bacteriano do jejuno dos casos estudados.

Todas as amostras contêm bacilos Gram negativos (*Enterobacteriaceae*, *Alcaligenes* ou *Haemophilus*), sendo esta flora mais abundante e variada no caso 1. Há também nos casos 2, 3 e 4, bactérias Gram positivas em concentrações superiores a  $10^3$  — *Nocardia* e *Micrococcus* no caso 2 e *Streptococcus* nos casos 2, 3 e 4. Encontram-se leveduras em concentrações aumentadas no caso 3.

Em todos os casos se isolaram vários géneros de anaeróbios: *Streptococcus*, que atingiram as concentrações mais elevadas ( $10^6$ ), *Corynebacterium* ( $10^5$ ) e *Fusiformis* ( $10^4$ ); *Ramibacterium*, *Bitidibacterium* e *Clos-*

*tridium* em concentrações de  $10^3$ ; os valores mais baixos encontrados foram os de *Veillonella* e *Lactobacillus* ( $10^2$ ).

Em nenhum dos casos se encontrou evidência laboratorial de esteatorreia. Os casos 1, 3 e 4 tinham uma diminuição da excreção urinária da D-Xilose (respectivamente valores de 3.3 gr., 3.5 gr. e 1.2 gr.). A prova com Trioleína apresentou resultado anormal apenas no caso 1 (21%). Em todos os casos se observaram alterações morfológicas da mucosa jejunal, congestão, edema e aumento de infiltração celular do córion por plasmocitos.

Com a apresentação destes primeiros dados, pretendemos mostrar, em complemento dos estudos publicados em 1970, que, utilizando técnicas laboratoriais diferentes foi possível isolar, em doentes com cirrose hepática, além de bacilos Gram negativos aeróbios, microrganismos anaeróbios em concentrações sobreponíveis às referidas na literatura. No entanto, esperamos obter níveis mais elevados quando dispusermos da câmara apropriada para que toda a manipulação decorra em completa anaerobiose.

QUADRO II

Tipos de microrganismos isolados e respectivo teor por ml de suco

| Microbiologia do suco jejunal          | Casos             |                   |                   |                   |
|----------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                                        | 1                 | 2                 | 3                 | 4                 |
| <b>FLORA AERÓBIA</b>                   |                   |                   |                   |                   |
| Escherichia coli                       | $2.2 \times 10^4$ |                   |                   |                   |
| Klebsiella aerogenes                   | $1.1 \times 10^4$ |                   |                   | $2 \times 10^3$   |
| Klebsiella rhinoscleromatis            | $2 \times 10^3$   |                   |                   |                   |
| Enterobacter aerogenes                 | $1.5 \times 10^4$ |                   |                   |                   |
| Enterobacter cloacae                   | $5.9 \times 10^4$ |                   |                   |                   |
| Alcaligenes faecalis                   |                   | $1.7 \times 10^5$ | $7.2 \times 10^3$ | $6 \times 10^4$   |
| Haemophilus parainfluenzae             |                   |                   | $10^3$            |                   |
| Streptococcus do grupo D (Enterococos) | $4.2 \times 10^3$ |                   | $1.7 \times 10^4$ |                   |
| Streptococcus $\alpha$ hemolítico      | $9 \times 10^3$   | $4.6 \times 10^4$ | $2.5 \times 10^4$ | $3.2 \times 10^4$ |
| Staphylococcus coag. negat.            | $6.1 \times 10^2$ |                   |                   |                   |
| Micrococcus spp.                       | $2 \times 10^3$   | $1.5 \times 10^5$ | $2 \times 10^3$   | $2 \times 10^3$   |
| Nocardia spp.                          |                   | $3.7 \times 10^4$ |                   |                   |
| Leveduras                              | $3 \times 10^3$   |                   | $2 \times 10^4$   |                   |
| <b>FLORA ANAERÓBIA E MICROAERÓFILA</b> |                   |                   |                   |                   |
| Fusiformis spp.                        | $10^3$            | $10^4$            |                   | $10^2$            |
| Veillonella spp.                       |                   |                   | $10^3$            | $10^3$            |
| Streptococcus spp.                     | $10^5$            | $10^4$            | $10^5$            | $10^3$            |
| Clostridium bifermentans               |                   |                   | $10^3$            | $10^3$            |
| Clostridium sporogenes                 |                   |                   |                   | $10^3$            |
| Corynebacterium spp.                   | $10^5$            | $10^4$            | $10^4$            | $10^4$            |
| Ramibacterium spp.                     |                   | $10^3$            |                   | $10^3$            |
| Bifidobacterium spp.                   |                   | $10^3$            |                   |                   |
| Lactobacillus spp.                     | $10^3$            |                   |                   | $10^2$            |

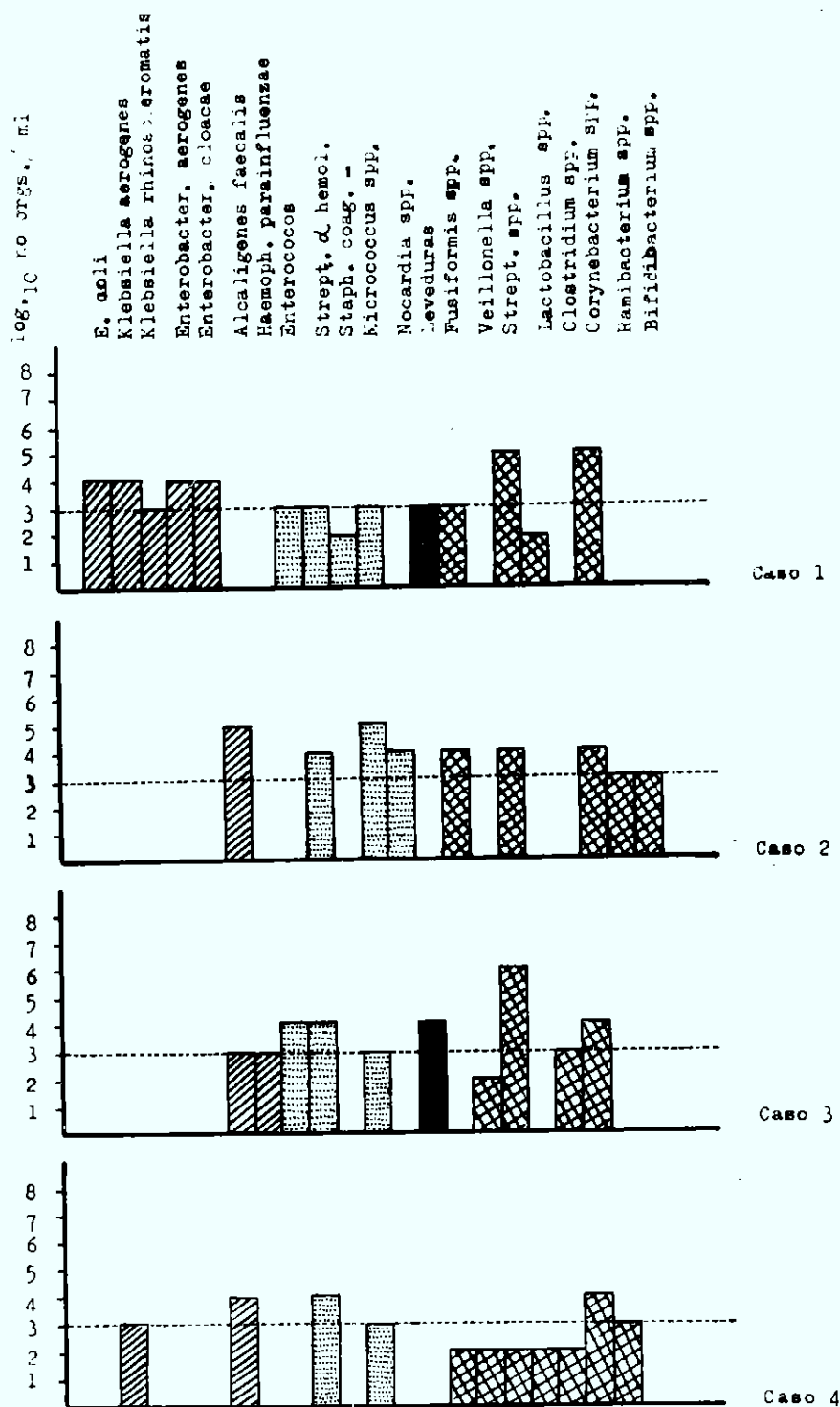
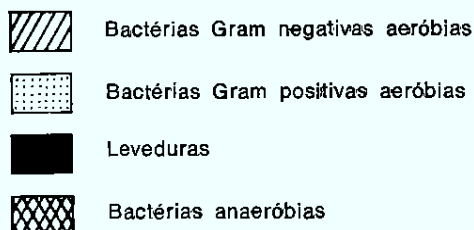


Fig. 3 Tipos de microrganismos isolados e respectivo teor por ml de suco



A linha horizontal tracejada indica o valor superior normal ( $10^3$ ) para a flora aeróbia Gram positiva.

## BIBLIOGRAFIA

- BEERENS, H., TAHON-CASTEL, M. — Infections humaines à bactéries anaérobies non toxigènes. Presses Académiques Européennes, Bruxelles, 1965.
- BUTTIAUX, R., BEERENS, H., TACQUET, A. — Manuel de techniques bactériologiques. Ed. Flammarion, Paris, 1969.
- DAWSON, A. M., ISSELBACHER, K. J. — Studies on lipid metabolism in the small intestine with observations on the role of bile salts. *J. Clin. Invest.*, 39 : 730-740, 1960.
- DELLIPIANI, A. W. — Observations on the bacteriology of the gastro intestinal tract in man. Malabsorption. Ed. Girdwood R. H., Smith A. N. 194-216, (Pfizer Monographs). University of Edinburgh Press, Edinburgh, 1969.
- DRASAR, B. S., HILL, M. J., SHINER, M. — The deconjugation of bile salts by human intestinal bacteria. *Lancet*, 1 (7449) : 1237-1238, 1966.
- GORBACH, S. L., LAL, D., LEVITAN, R. — Intestinal microflora in Laennec's cirrhosis. *J. Clin. Invest.*, 49: 36 a, 1970.
- LAL, D., GORBACH, S. L., LEVITAN, R. — Intestinal microflora in patients with alcoholic cirrhosis: urea-splitting bacteria and neomycin resistance. *Gastroenterology*, 62, (2) : 275-279, 1972.
- MARIN, G. A., CLARK, M. L., SENIOR, J. R. — Studies of malabsorption occurring in patients with Laennec's cirrhosis. *Gastroenterology*, 56: 727-736, 1969.
- MARTINI, G. A., PHEAR, E. A., RUEBNER, B., SHERLOCK, S. — The bacterial content of the small intestine in normal and cirrhotic subjects: relation to methionine toxicity. *Clin. Sci.*, 16 : 35-51, 1957.
- PINTO CORREIA J., GARNEL, M., TORRES PEREIRA, A., MONTEIRO, E., AREIAS, M. E. — Microbiologia do intestino delgado nos cirróticos e sua importância na mal-absorção. *Arq. de Gastroenterologia*, 7 (1) : 7-16, 1970.

## PATOLOGIA RESPIRATÓRIA PROVOCADA POR FIBRAS SINTÉTICAS <sup>1</sup>

Aspectos anátomo-clínicos e possibilidades de diagnóstico  
duma nova doença profissional

*Prof. Cortez Pimentel \**

### ABSTRACT

*The clinical and pathological findings in seven workers in synthetic fibres textile industry with bronco-pulmonary manifestations are described. Their analysis make it possible to individualize five types of reaction to the inhalation of synthetic fibres: «asthma-like syndromes», «extrinsic allergic alveolitis», «chronic bronchitis» with bronchiectasis, spontaneous pneumothorax and «endogenous lipid pneumonia». The diagnosis of these pulmonary diseases can be made by a history of exposure to synthetic fibres dust and the histologic demonstration of this material within septal lesions. Histochemical techniques were developed based on reagents and methods of test used in the textile chemical analysis. The disease was produced experimentally in animals. Attention is drawn to the need to protect workers in the synthetic fibres textile industry.*

As fibras sintéticas, introduzidas no mercado mundial após a última guerra, revolucionaram o sector industrial, muito em particular o têxtil, que se viu forçado a promover um maior condicionamento da aplicação das suas matérias-primas convencionais e a recorrer, muitas vezes, ao fabrico de artigos mistos, em cuja manufactura passaram a participar fibras naturais e fibras artificiais ou sintéticas (1, 2, 3). A estrutura da indústria têxtil, mesmo em países economicamente mais desenvolvidos, é muito complexa e incluiu, por um lado, a síntese química duma grande variedade de polímeros sintéticos que servem de matéria-prima e, por outro lado, múltiplas operações e transformações, necessárias à obtenção dos artigos finais de consumo, em geral, representados

por fios e por tecidos (4). Este facto permite compreender a importância económica deste ramo da indústria e a razão porque é que algumas empresas se especializaram, apenas, em determinadas operações ou fabricos e outras se decidiram por uma integração progressiva que se estende desde a tarefa da refinação de petróleos à produção de fios. No que respeita à actividade têxtil portuguesa, é do conhecimento geral que ocupa, dentro das

<sup>1</sup> Trabalho realizado no I. A. N. T. (Serviço de Anatomia Patológica do Centro Laboratorial do Lumiar) e no Instituto de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina de Lisboa.

\* Professor Extraordinário da Faculdade de Medicina de Lisboa; Chefe do Serviço Central de Anatomia Patológica do Sanatório D. Carlos I — Lisboa.

indústrias transformadoras, uma posição predominante, quer pelo valor global da sua produção, quer pelo número de operários que nela se ocupam, quer, ainda, pela exportação de fios e de tecidos (4). Não sendo o país um produtor importante de fibras naturais e, utilizando-se, cada vez mais, a mistura de fibras naturais com fibras artificiais ou sintéticas, é de crer que, num futuro próximo, a indústria têxtil passe a contar com uma importante produção nacional de matérias-primas sintéticas, já há alguns anos iniciada com o aparecimento das primeiras instalações de fabrico (4).

Podem-se agrupar as fibras produzidas por síntese química num número limitado de categorias, de acordo com a sua natureza, estrutura química e propriedades têxteis. Fabricam-se, actualmente, na indústria, fibras de nylon, poliéster, poliuretano, poliolefina, poliacrílonitrilo («fibras acrílicas») e de outros polímeros de tipo vinílico, sendo a maior produção correspondente às de nylon (5).

Tem-se admitido que os processos, em grande parte mecanizados, que estas indústrias requerem, não só melhoraram as condições de trabalho dos operários mas também reduziram, de modo apreciável, o perigo das lesões respiratórias devidas à poluição, em virtude de promoverem uma baixa concentração de partículas de poeira em suspensão no ambiente fabril (6). Toda a atenção do sector médico que se interessa pelos problemas de segurança dos operários da indústria têxtil continua, no entanto, quase exclusivamente, polarizada no sentido da bissinose (7) e são muito escassos os estudos que se têm feito no capítulo das fibras sintéticas. Tiller e Schilling (8) referiram, (em 1958) que não existiam alterações semelhantes às da bissinose nos operários expostos ao nylon. Simonin (9), em 1961, mencionou que na indústria deste polímero podiam manifestar-se, por um lado, irritações das mucosas, asma brônquica e quemaduras, provocadas pela acção do ácido ftálico, utilizado no seu fabrico e, por outro lado, dermatoses por sensibilização, motivadas por contactos repetidos e prolongados com nylon. Chwat e Mondish (1963) (10) mencionaram a ocorrência de rinites congestivas, erupções cutâneas e perturbações digestivas em operários que manipulavam «Orlon». Sano (11), em 1967, referiu os achados de algumas autópsias, efectuadas em casos de «pneumoconioses» devida a substâncias orgâ-

nicas e chamou a atenção para o facto de a inalação de nylon em pó poder provocar «nódulos fibróticos» no pulmão. Finalmente, Abee e Ishikawa (12) descreveram, também, em 1967, algumas experiências feitas em animais, recorrendo à instalação intratraqueal de diferentes tipos de poeiras, incluindo a de alguns produtos sintéticos. Verificaram estes autores que as suspensões de nylon podiam provocar «focos pulmonares de tipo alveolar».

Tivemos a oportunidade de examinar, em 1968, uma biópsia que fôra feita numa operária da indústria têxtil que trabalhava com fibras de lã e dum sintético acrílico («Orlon») e que apresentavam um «síndrome asmático» irremovível. As lesões interessavam os septos interalveolares e tinham relações muito estreitas com um «material estranho», de aspecto fibrillar, que suspeitámos que fossem de lã ou de «Orlon». Tentámos esclarecer este achado, comparando, microscopicamente, algumas amostras dos dois tipos de fibras que a doente manipulava com as inclusões encontradas no pulmão. A ausência de birrefringência na luz polarizada e a negatividade da «coloração do ácido performatico-azul alciano para a queratina» no material estranho, existente nas lesões, permitiram excluir a hipótese de se tratar de fibras de lã; no que se refere à possibilidade de identificação do material sintético, acrílico, representado pelo «Orlon», verificámos não existirem meios histoquímicos adequados para o fazer (Pearse, 1968) (13).

O presente trabalho é uma tentativa de esclarecimento deste caso e dum problema muito mais lato que ele levantou e tem por finalidade chamar a atenção para vários tipos anátomo-clínicos de lesões bronco-pulmonares que podem manifestar-se em operários que trabalham com fibras sintéticas e cujo conhecimento é necessário para se poderem adoptar medidas de prevenção apropriadas. Estas situações cuja causa se ignorava ou atribuía a outras doenças como a tuberculose, podem ser diagnosticadas, segundo julgamos, por identificação dos próprios materiais sintéticos nas lesões, recorrendo a métodos histofísicos e histoquímicos que se idealizaram e aplicaram, fundamentados em conhecimentos que se adquiriram na química têxtil. As lesões pulmonares responsáveis pelos quadros descritos foram reproduzidas experimentalmente.

## MATERIAL E MÉTODOS

1. Estudo clínico, radiológico, laboratorial e anátomo-patológico de 7 casos que foram escolhidos, tendo em consideração os seguintes factos:

- terem ocorrido em operários da indústria têxtil que manipularam fibras sintéticas ou em operários que confeccionaram artigos de vestuário com tecidos daquelas fibras.
- tratar-se de manifestações clínicas do sector pneumológico diferentes umas das outras.
- impossibilidade de se estabelecer uma etiologia definida e, muito em especial, ausência de quaisquer elementos que permitissem atribuir ao processo uma natureza tuberculosa.
- ser possível identificar-se nas lesões pulmonares, por intermédio de qualquer meio de observação da microscopia óptica actual, um «material estranho» que pudesse corresponder a fibras têxteis.

2. Conhecimento pormenorizado da actividade profissional do doente, averiguando-se os diferentes tipos de fibras com que contactara, o tempo de exposição, o aparecimento dos primeiros sintomas e a evolução das lesões depois de se ter feito a sua identificação.

3. Exame de amostras dos diferentes tipos de fibras têxteis com que os doentes trabalharam e da poeira em suspensão no seu ambiente de trabalho.

Estes exemplares foram analisados em «preparações a fresco» e em cortes da sua inclusão em parafina. Teve-se uma atenção especial na escolha do veículo de montagem em virtude de se tratar de materiais, em geral, incolores e transparentes. Usou-se, por esse motivo, de acordo com as normas utilizadas em química têxtil (5), os meios de índice de refração mais adequados: parafina líquida (todos os tipos de fibras) glycerine jelly (fibras de algodão). Procedeu-se, por inexistência de métodos apropriados, a uma adaptação das técnicas mais correntes de identificação das fibras têxteis (5, 14, 15) à histofísica e histoquímica, com o fim de se tornar possível a caracterização das finas par-

tículas dos materiais sintéticos que constituíam as poeiras, recolhidas nos locais onde os doentes trabalhavam.

O quadro I sintetiza as reacções de solubilidade e de coloração mais importantes que se utilizam, no momento actual, nos laboratórios de química têxtil (5, 14) e que, segundo cremos, se podem usar, com igual eficiência, em química tecidual. Os seus resultados foram apreciados à lupa e ao microscópio óptico e registaram-se, fotograficamente, em película a preto e branco e a cores, a fim de serem mais pormenorizadamente analisados. A execução de algumas reacções cuja realização requereu um determinado nível térmico, foram efectuadas, de acordo com regras preconizadas nos tratados de química têxtil (5), fazendo actuar, sobre os materiais a caracterizar, os reagentes previamente submetidos à temperatura exigida. Nestes exames foram utilizados os microscópios convencional, de polarização, de contraste de fase e interdeferencial.

4. Exame de fragmentos de pele e de músculo de cobaias em que se fizeram implantações de todas as variedades de fibras têxteis que se pretenderam caracterizar. As inclusões dos materiais foram feitas por meio duma simples sutura e por injeção duma suspensão da poeira da fibra em azeite neutro. Os tecidos foram removidos para exame microscópico ao fim de 3 semanas e de 2, 6, 2, 24 e 48 meses. Pretendeu-se com a obtenção desta série de exemplares não só dispor-se dum mais vasto material para os ensaios de adaptação dos métodos de diagnóstico das fibras têxteis à histoquímica mas também poder verificar-se, sem se sacrificar demasiado tecido pulmonar dos doentes, se a permanência das fibras sintéticas nos tecidos não afectaria, de maneira significativa, o seu comportamento fisicoquímico.

5. Estudo histológico do pulmão dos doentes, feito a partir de biópsias (brônquica, pulmonar, transbrônquica e transparietal e pulmonar cirúrgica) e de peças de ressecção e de autópsia. Os exames foram realizados em cortes de parafina que se coraram pela hematoxilina-eosina, PAS e por técnicas especiais para a reticulina, colagénio, tecido elástico, fungos, bacilos ácido-resistentes e cálcio. Nas peças de ressecção e de autópsia fez-se a pesquisa de B. K. nas lesões, recorrendo ao exame bacteriológico (directo, cultural e inoculação na cobaia). Utilizaram-se, em todos os casos, as mesmas técnicas de



QUADRO 1

Métodos de identificação histoquímica e histofísica das fibras têxteis, sugeridos neste trabalho

| Provas de solubilidade e coloração;<br>birrefringência | Fibras têxteis |             |                             |                               |                                                      |  |
|--------------------------------------------------------|----------------|-------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------------------------------|--|
|                                                        | Naturais       |             | Sintéticas                  |                               |                                                      |  |
|                                                        | Lã             | Algodão     | Nylon                       | Poliéster                     | Acrílica                                             |  |
| Ácido acético glacial                                  | Insol.         | Insol.      | Sol. (ebulição do reagente) | Insol.                        | Insol.                                               |  |
| Ácido clorídrico 4.2 Normal                            | Insol.         | Sol.        | Sol.                        | Insol.                        | Insol.                                               |  |
| Ácido fórmico concentrado                              | Insol.         | Insol.      | Sol.                        | Insol.                        | Insol.                                               |  |
| Ácido sulfúrico a 70%                                  | Insol.         | Sol.        | Sol.                        | Insol.                        | Insol.                                               |  |
| Dimetil-formamida                                      | Insol.         | Insol.      | Insol.                      | Sol. (ebulição do reagente)   | Sol. (ebulição do reagente)                          |  |
| Formol a 80%                                           | Insol.         | Insol.      | Sol.                        | Sol. (ebulição do reagente)   | Insol.                                               |  |
| m-cresol                                               | Insol.         | Insol.      | Sol.                        | Insol.                        | Insol.                                               |  |
| Ácido fosfórico a 90%                                  | Sol.           | Sol.        | Insol.                      | Insol. (215°-1 <sup>m</sup> ) | Insol.                                               |  |
| Hipoclorito de sódio                                   | Insol.         | Sol.        | Insol.                      | Insol.                        | Insol.                                               |  |
| o-clorofenol                                           | Insol.         | Sol.        | Insol.                      | Sol.                          | Insol.                                               |  |
| Solução de cupramônio                                  | Insol.         | Sol.        | Insol.                      | Insol.                        | Sol (90°)                                            |  |
| Nitrometano                                            | Insol.         | Insol.      | Insol.                      | Insol.                        |                                                      |  |
| Ácido perfórmico azul alciano                          | Col. (azul)    | Col. (azul) |                             |                               | Col. (amarela, verde ou avermelhada c/tipo de fibra) |  |
| Soluto de lugol                                        |                |             |                             |                               | Col. (alaranjada)                                    |  |
| Coloração de Meldrum (90°-5 <sup>m</sup> )             |                |             |                             |                               |                                                      |  |
| Coloração de «Sevron Orange»                           |                |             |                             |                               |                                                      |  |
| Coloração de zinco iodado                              | —              | —           | Col. (amarelo escuro)       | —                             | +                                                    |  |
| R. do acetato de cobre benzidina                       | +              | +           | +                           | +                             | —                                                    |  |
| Birrefringência                                        |                |             |                             |                               |                                                      |  |

tológico foi elaborado em 22 animais sacrificados no termo da experiência e em 6 que identificação histoquímica das fibras têxteis que se ensaiaram e que já se referiram a propósito do exame das poeiras em suspensão no ambiente de trabalho dos doentes. Na execução destes métodos, teve-se em consideração não só o problema da escolha dos meios de montagem das preparações, de acordo com os seus índices de retracção e da elevação prévia da temperatura dos reagentes mas também se procurou conferir uma maior exactidão possível aos resultados das provas de solubilidade, apreciando-se num microscópio de polarização ou de contraste de fase, conforme se tratava de fibras com birrefringência (nylon, poliéster, lã e algodão) ou desprovidas desta propriedade (acrílicas). Averiguou-se, também, por meio do estudo de fragmentos de pele e de músculo de cobaia em que se fizeram, previamente, implantações de vários tipos de fibras, conforme já foi descrito, que a permanência do material no organismo, não parecia afectar, de maneira significativa, os resultados das suas reacções de identificação. Os métodos histoquímicos foram executados em cortes de tecido fresco ou incluído em parafina e os seus resultados registaram-se fotograficamente.

6. Estudo histológico de 5 biópsias da mucosa nasal, feitas ao nível do corneto médio, em igual número de operários que trabalhavam com fibras de nylon (4 casos) e acrílicas. Estes operários referiam crises esternutórias, obstrução nasal e rinorreia (4 casos) e queixas de «sinusite crónica» (1 caso). Nenhuma destas observações foi feita nos doentes correspondentes aos 7 casos que atrás se referiram.

7. Estudo das alterações do pulmão em 28 cobaias, 18 expostas à poeira de nylon e 10 à de fibras acrílicas («Orlon»). Os animais foram colocados em gaiolas mal ventiladas e submetidos à inalação de pó de nylon, produzido durante o fabrico de tecidos deste material e de «poeira» de «Orlon», obtida por trituração eléctrica de meadas de fio deste acrílico. Estes materiais foram administrados por meio de pulverizadores manuais, na dose diária de 6 gramas, repartida em fracções de 2 gramas cada uma, criando-se desta maneira uma atmosfera com elevada concentração de partículas em suspensão. Utilizaram-se 3 testemunhas, em cada uma das duas séries de experiência e executaram-se radiografias no

início e no fim das experiências. Estas últimas tiveram a duração de 325 dias. O estudo histomorrerem, sem sinais aparentes de doença, 48, 88, 127, 192, 210 e 230 dias depois do seu início. O exame microscópico baseou-se nos métodos de rotina, atrás mencionados, e nas técnicas histoquímicas para pesquisa de fibras sintéticas, utilizadas no estudo das lesões pulmonares dos operários que manipularam fibras de nylon e acrílicas.

## RESULTADOS

### 1. Casos e observações complementares

#### CASO I

M. P. G., do sexo feminino, de 27 anos trabalha desde há 6 anos numa fábrica de fiação. Um ano depois de ter iniciado esta actividade começou a ter crises esternutórias, obstrução nasal e rinorreia. Alguns meses mais tarde, passou a ter, também, crises asmáticas que, inicialmente, eram espaçadas mas que, se tornaram muito repetidas e intensas. Nos intervalos tinha tosse irritativa, pieira e uma discreta dispneia. Fez um tratamento de dessensibilização mas houve um agravamento.

A auscultação revelou a presença de sinais brônquicos dispersos. Nunca foi identificado B. K. na expectoração e o exame radiológico do torax mostrou uma discreta acentuação do retículo pulmonar. Os resultados do hemograma, proteinograma e da velocidade de sedimentação encontravam-se dentro dos valores normais. As provas funcionais respiratórias evidenciaram um síndrome ventilatório de tipo obstrutivo. Foi feita uma biópsia brônquica que revelou uma hiperplasia caliciforme do epitélio, acompanhada de espessamento da membrana basal e duma apreciável infiltração de granulócitos eosinófilos ao nível das camadas mucosa e submucosa. Efectuou-se uma biópsia pulmonar transbrônquica que pôs em evidência um espessamento difuso dos septos interalveolares (fig. 1), correspondente, em parte, a uma neoformação de fibras reticulares e colagénicas, em parte, a proliferações celulares, de aspecto granulomatoso, constituídas por células histiocitárias e por fibroblastos (fig. 2). Um exame pormenorizado das lesões septais permitiu observar que tanto nas lesões granulomatosas como

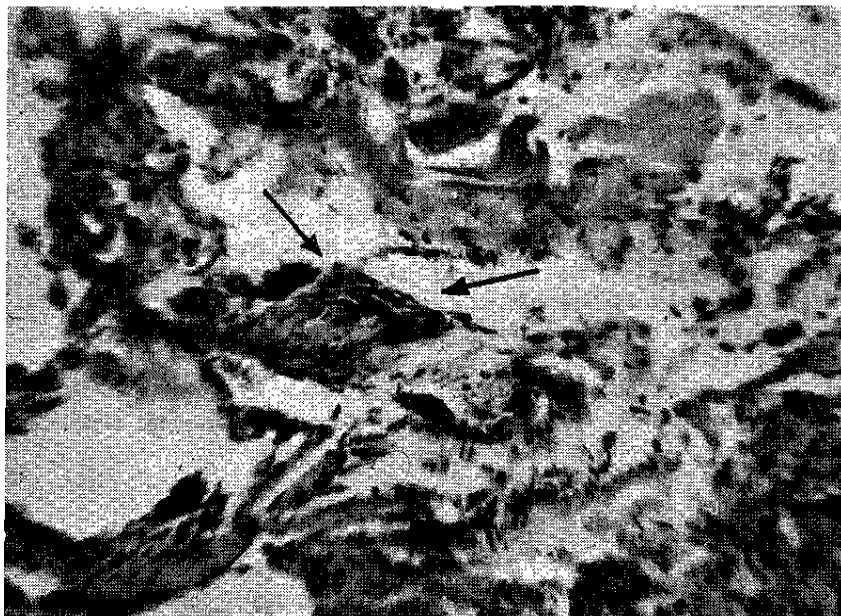


Fig. 1 — Caso 1. Lesões dos septos interalveolares, relacionadas com a inalação de fibras acrílicas («Orlon»). Extensa fibrose e granulomas (setas). H. e E.  $\times 35$

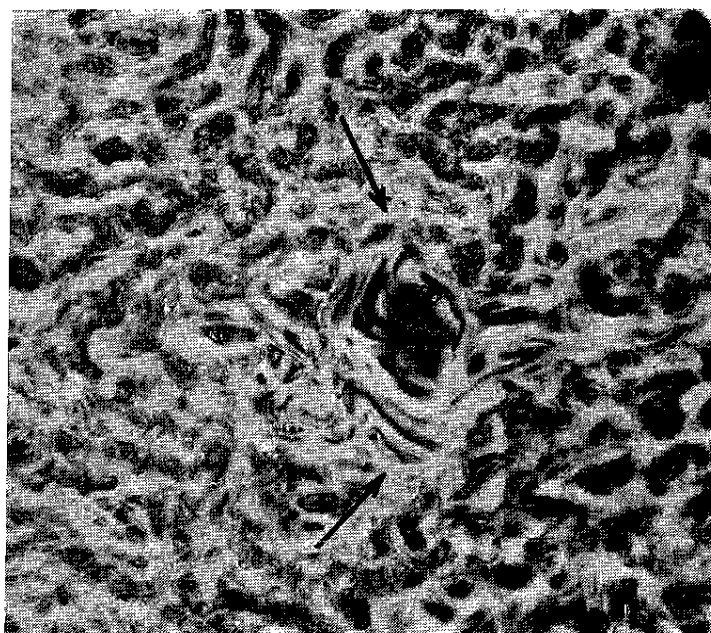


Fig. 2 — Caso 1. Pormenor dum granuloma dos septos interalveolares (contraste de fase). As setas assinalam «fibras de Orlon».  $\times 500$

nas zonas de esclerose havia pequenas fendas, de disposição irregular, umas vezes, vazias, outras vezes, contendo pequenas inclusões de aspecto fibrillar que se reconheciam perfeitamente em contraste de fase (fig. 2) e interdeferencial mas que não mostravam birrefringência na luz polarizada.

#### **Observações complementares:**

##### *a. Dados sobre a actividade profissional da doente*

Trabalhava numa fábrica de fiação, manipulando lã e fibras acrílicas («Orlon») (fig. 3) para onde entrara há cerca de 6 anos. A sintomatologia pulmonar iniciou-se 2 anos após o seu ingresso na fábrica.

##### *b. Exame de amostras das fibras têxteis com que trabalhava*

Analisaram-se vários exemplares de lã e de «Orlon», fornecidos pelo doente, confirmando-se a sua natureza química. As fibras de lã foram identificadas tendo em vista as seguintes características físico-químicas: birrefringência, insolubilidade (ácido acético glacial, ácido clorídrico 4.2 Normal, ácido fórmico concentrado, ácido sulfúrico a 70%), solubilidade no hipoclorito de sódio e coloração azul no método do ácido per fórmico-azul alciano para a queratina. A identificação das fibras de «Orlon» fez-se recorrendo à ausência de birrefringência (fig. 4), à insolubilidade (ácido acético glacial, ácido clorídrico 4.2 Normal, ácido fórmico concentrado, ácido sulfúrico a 70%, fenol a 80%, solução de cupramónio e m-cresol), à solubilidade na dimetil-formamida e nitrometano, à positividade da reacção do acetato de cobre-benzidina e à coloração verde escura com o corante de Meldrum.

##### *c. Exame da poeira recolhida no seu ambiente de trabalho*

O estudo efectuado neste sentido mostrou que as amostras da poeira eram constituídas por pequenas fibras e finas partículas com as

características físico-químicas da lã e do «Orlon», atrás referidas.

##### *d. Exame do tecido pulmonar*

A ausência de birrefringência e a positividade de todas as reacções características das fibras acrílicas permitiram concluir que o material existente nas lesões, tanto do pulmão como da mucosa brônquica, devia corresponder a este polímero.

##### *e. Evolução*

A doente não regressou à sua actividade depois de ter estado internada. Foi examinada cerca de um ano mais tarde, referindo não ter tido acessos asmáticos desde há 10 meses mas queixando-se de tosse irritativa, escassa expectoração mucosa e de dispneia para esforços de mediana intensidade que tem aumentado progressivamente de intensidade. O exame radiológico mostrou uma marcada acentuação do retículo pulmonar. O exame de função respiratória revelou uma insuficiência ventilatória de tipo restritivo com marcado componente obstrutivo e redução discreta na transferência alvéolo-capilar de CO.

#### **CASO II**

M. G. R., do sexo feminino, de 27 anos, operária fabril.

Desde há 11 anos trabalha numa fábrica de lanifícios. Há cerca de 3 anos, começou a sentir-se cansada, especialmente quando regressava a casa e a ter rouquidão e obstrução nasal persistente. Entretanto, a astenia foi-se acentuando e passou a acompanhar-se de tosse, expectoração mucosa, emagrecimento e mal-estar geral. Nunca teve febre. Foi tratada, em regime ambulatorio, durante cerca de um ano, com isoniazida e estreptomicina, não notando uma melhoria das suas queixas. Foi aconselhada, recentemente, a fazer uma biópsia pulmonar para esclarecimento da sua doença.

O exame do torax revelou roncos e sibilos disseminados. Nunca foi identificado B. K. na expectoração (exame directo, cultura e inoculação na cobaia) e o exame radiológico do tórax mostrou a existência de lesões di-

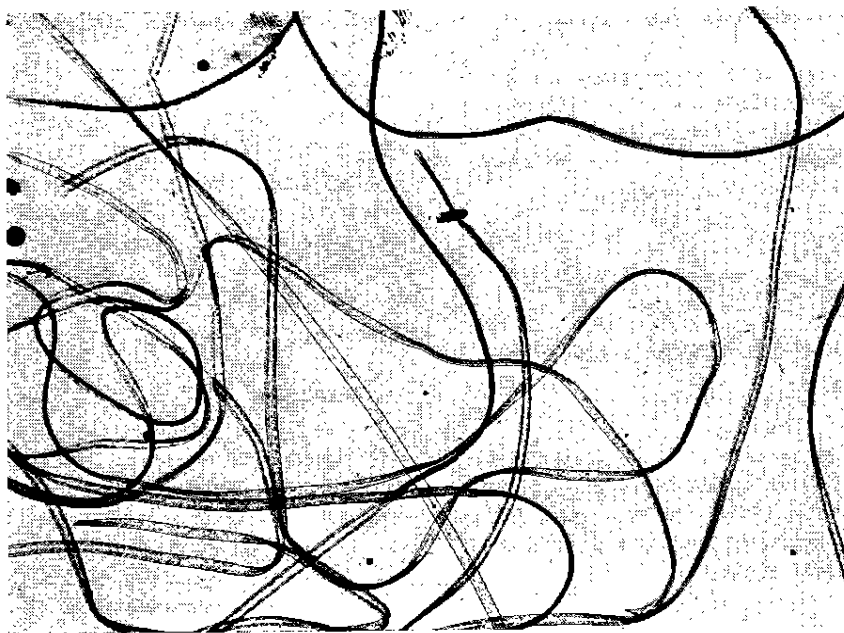


Fig. 3 — Caso I. Fibras acrílicas («Orlon»),  $\times 60$



Fig. 4 — Caso I. As fibras representadas na fig. 3, vistas em luz polarizada. Ausência de birrefringência



fusas, bilaterais, de tipo retículo-nodular (fig. 5). Os valores do hemograma e da velocidade de sedimentação encontravam-se dentro dos limites normais. O proteinograma revelou uma



Fig. 5 — Caso II. Radiografia do tórax.  
Lesões retículo nodulares bilaterais

discreta hipergamaglobulinemia. O exame broncoscópico não mostrou alterações e as provas de função respiratória evidenciaram uma insuficiência ventilatória de tipo restritivo com

hipoxemia e hipocápnia. Foi feita uma biópsia pulmonar que mostrou a presença de lesões focais, localizadas ao nível dos septos interalveolares os quais se mostravam espessados por edema, neoformação de fibras reticulares e, raras, colagêneas e, especialmente, por uma infiltração celular, constituída por histiócitos e fibroblastos. O exame com luz polarizada permitiu observar que, ao nível destas lesões, existiam inclusões birrefringentes, em parte, com o aspecto duma poeira fina, em parte formadas por fibras alongadas e perfeitamente individualizadas, em regra, dispostas em pequenos feixes (fig. 6). Estas inclusões distinguem-se, inclusivamente, com luz não polarizada, sob a forma de pequenos feixes de fibras, incolores ou de tonalidade ligeiramente branca amarelada (fig. 7).

#### Observações complementares:

##### a. Dados sobre a actividade profissional da doente

Trabalha numa fábrica de fiação, desde há 11 anos, manipulando algodão e fibras sintéticas de poliéster («Terylene»). A sua sintomatologia iniciou-se, insidiosamente, cerca de 3 anos mais tarde.

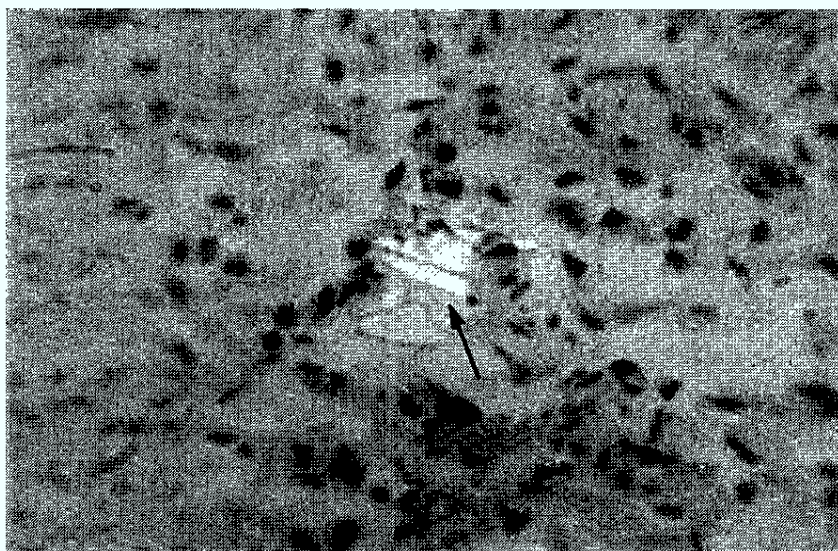


Fig. 6 — Caso II. Lesões dos septos interalveolares (luz polarizada). Feixes de fibras birrefringentes, correspondentes a um poliéster («Terylene»).  
H. e E.  $\times 380$

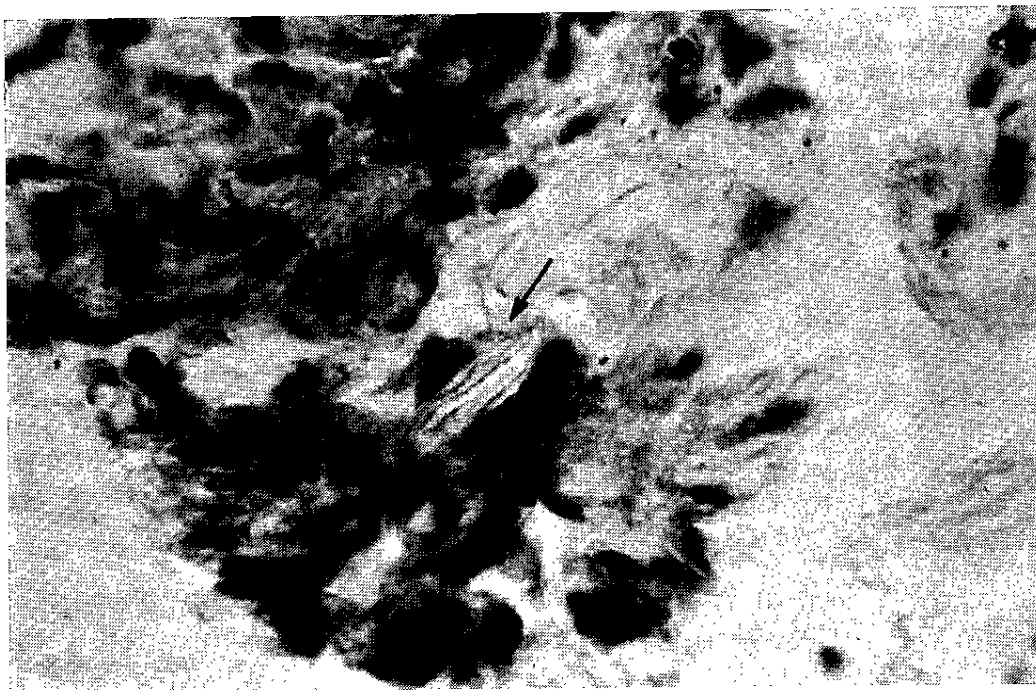


Fig. 7 — Caso II. Pormenor duma zona das lesões dos septos interalveolares. Edema. proliferação de células histiocitárias e fibroblastos e um pequeno aglomerado de fibras de «Terylene» (seta). H. e E.  $\times 600$



Fig. 8 — Caso II. Fibras de poliéster («Terylene»). Luz polarizada. Elevada birrefringência.  $\times 250$

*b. Exame de amostras das fibras têxteis com que trabalhara*

Analisaram-se exemplares dos dois materiais atrás referidos, confirmando-se as indicações que nos tinham sido fornecidas sobre a sua natureza química. As fibras de algodão foram identificadas pelas seguintes provas: birrefringência, insolubilidade (ácido acético glacial, dimetil-formamida), solubilidade (solução de cupramónio) e reacções positivas para a celulose (soluto de Lugol e solução de cloreto de zinco iodado). A caracterização das fibras de poliéster fez-se, atendendo aos seguintes dados: marcada birrefringência (fig. 8), solubilidade (dimetil-formamida, fenol a 80% e 0-clorofenol) e insolubilidade (m-cresol e ácido fosfórico a 90%).

*c. Exame da poeira recolhida no seu ambiente de trabalho*

Este estudo permitiu verificar que o produto examinado era constituído por pequenos fragmentos de fibras de algodão e de poliéster que se caracterizaram por meio das reacções atrás descritas.

*d. Exame do tecido pulmonar*

O exame histoquímico das «inclusões» existentes nas lesões mostrou que se tratava exclusivamente de fibras de poliéster.

*e. Evolução*

A doente foi aconselhada a mudar de actividade profissional com o que concordou. Decorrido cerca de 1 ano depois de ter feito a biópsia pulmonar, foi examinada, tendo referido uma melhoria acentuada das suas queixas que se limitavam a episódios de tosse irritativa e de obstrução nasal quando se «constipava». O exame radiológico do torax mostrou uma redução muito apreciável das lesões pulmonares. Não houve oportunidade de repetir o exame da função respiratória.

**CASO III**

P. P. S., do sexo feminino, de 54 anos. doméstica.

Foi internada em Dezembro de 1965 pelo Serviço de Urgência do Hospital de Santa Maria. Referiu que tinha dispneia de esforço

desde há 8 anos e que esta se acentuara progressivamente, tornando-se constante. Há 1 ano teve um agravamento brusco que a obrigou a acamar e a ser tratada num outro hospital. Há 8 dias voltou a ter um episódio semelhante, sendo internada.

O exame do torax mostrou a existência de fervores subcrepitantes em ambas as bases pulmonares; a auscultação cardíaca não revelou ruídos adventícios. Tinha hepatomegália (dois dedos abaixo do rebordo costal) edemas maleolares e cianose. A pesquisa de B. K. na expectoração foi negativa e o exame radiológico do torax mostrou um alargamento apreciável da sombra cardíaca, feito especialmente à custa do ventrículo direito, sinais de estase pulmonar, lesões reticulares, de tipo «fibrótico» sobretudo nas partes mais periféricas de ambos os campos pulmonares e aspectos de «favo» (fig. 9). Os resultados do hemograma e da velocidade de sedimentação encontravam-se dentro dos limites normais. O exame electrocardiográfico revelou sinais de «cor pulmonale crónico» e as provas de função respiratória permitiram evidenciar uma insuficiência respiratória de tipo restritivo.

A doente faleceu cerca de 3 semanas depois de ter sido internada, sendo requisitada a autópsia com o diagnóstico de «insuficiência respiratória grave por fibrose pulmonar». Foi feito o seguinte diagnóstico anátomo-patológico: Fibrose pulmonar difusa, bilateral, com «pulmões em favo». Lesões graves de ateros-

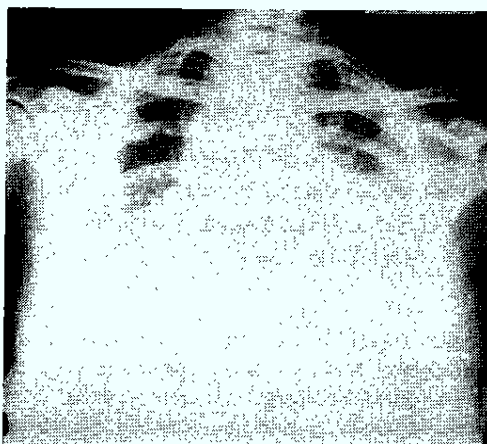


Fig. 9 — Caso III. Radiografia do tórax. Alargamento da sombra cardíaca, sinais de estase pulmonar e lesões intersticiais de tipo «fibrótico»



clerose dos ramos das artérias pulmonares. Hipertrofia da parede do ventrículo direito e dilatação desta cavidade e da aurícula direita. O exame microscópico dos pulmões confirmou a presença duma fibrose difusa, umas vezes, com conservação da estrutura alveolar, outras vezes, com obliteração total dos alvéolos e formação de extensas toalias cicatriciais. Esta fibrose era, também, proeminentemente em torno dos brônquios, em redor dos vasos pulmonares de pequeno calibre e sob a pleura onde formava uma larga faixa de esclerose (fig. 10), correspondente a uma área de maior



Fig. 10 — Caso III. Aspecto geral das lesões do pulmão. Marcada fibrose intersticial, predominantemente subpleural e aspectos de «favo». H. e E.  $\times 25$

densidade de lesões, apreciada no exame radiológico. Nas zonas menos atingidas, os septos interalveolares apresentavam-se, em geral, espessados por neoformação de fibras reticulares e por proliferação de células histiocitárias e fibroblastos. Os alvéolos estavam, em muitas zonas, reduzidos a fendas e o epitélio apresentava-se, por vezes, tumefacto, revestindo aspectos pseudo-glandulares. Conco-

mitantemente com as lesões descritas, viam-se, com frequência, aspectos de enfisema e de «pulmão em favo» (fig. 10).

### Observações complementares:

#### a. Dados sobre a actividade profissional da doente

Averiguou-se, através da família, que a doente trabalhara até há cerca de 5 anos numa fábrica de lanifícios para onde entrara por volta dos 25 anos. Deixou esta actividade por se «cansar facilmente» e por motivos de ordem familiar. A fábrica em que a doente trabalhou utiliza desde há 12 anos fibras de lã, algodão e materiais sintéticos (poliéster e acrílicos) e possui secções de fiação e de tecelagem. A doente, segundo nos informaram, ainda trabalhou nestes dois ramos; embora ela referisse que a sua sintomatologia havia começado há cerca de 8 anos, averiguou-se, no entanto, pelos seus familiares, que já anteriormente se queixava, frequentemente, de episódios de tosse, expectoração e astenia.

#### b. Exame do tecido pulmonar

O exame do pulmão, efectuado com luz polarizada, permitiu verificar que tanto nas infiltrações de células histiocitárias e fibroblastos dos septos interalveolares ainda conservados como nas próprias zonas de esclerose, existiam abundantes inclusões de grande birrefringência, constituídas, na sua maior parte, por fibras compridas e delgadas, frequentemente dispostas em feixes (fig. 11). Procedeu-se, em seguida, à sua caracterização, tendo em vista a informação de que a doente devia ter manipulado lã, algodão, poliésteres e acrílicos. A birrefringência do material permitiu excluir a hipótese de se tratar de fibras naturais. A negatividade das reacções de coloração da lã (ácido periórmico-azul alciano) e do Lugol (algodão) pôs de parte a possibilidade de serem fibras naturais. Confirmou-se, por fim, a presença dum poliéster, recorrendo aos seus métodos de identificação que atrás enumerámos.



Fig. 11 — *Caso III. Pormenor duma zona de fibrose (luz polarizada). Abundantes inclusões birrefringentes, correspondentes a fibras acrílicas (setas)*  
× 550

#### CASO IV

M. M. A., do sexo feminino, de 31 anos, doméstica. Há 4 anos começou a trabalhar numa fábrica de manufactura de vestuários de fibras sintéticas. Engravidou cerca de 8 meses após ter iniciado este trabalho e desde então começou a notar dispneia para esforços de mediana intensidade. Não regressou à fábrica após o parto por se cansar com muita facilidade, mesmo após pequenos esforços. Há 2 meses, a dispneia agravou-se progressivamente e tornou-se constante.

O exame do torax mostrou a existência de ferveores subcrepitantes, disseminados em ambos os hemitorax. Nunca foi isolado B. K. na expectoração e o exame radiológico do torax mostrou uma acentuação do retículo pulmonar (fig. 12). Os resultados do hemograma, do proteinograma e da velocidade de sedimentação encontravam-se dentro dos valores normais. O exame da função respiratória mostrou um síndrome ventilatório de tipo restritivo com diminuição das possibilidades ventilatórias, normoxemia com hipocapnia discreta e transferência alveolo-capilar de CO significativamente diminuída. Foi feita uma biópsia pulmonar transbrônquica que permitiu verificar que as lesões pulmonares eram

focais e correspondiam a grandes espessamentos dos septos interalveolares que obliteravam total ou parcialmente a estrutura alveolar. Estes espessamentos eram devidos a uma proliferação de células histiocitárias e de fibroblastos e a uma neoformação de fibras reticulares e, frequentemente, também, de colagêneas, por vezes, acompanhada de hialinização. No seio destas lesões observaram-se inclusões dum material fibrilhar, de afinidade



Fig. 12 — *Caso IV. Radiografia do tórax. Acentuação do retículo pulmonar*

hematoxilínófila, constituído por filamentos muito delgados e alongados, dispostos irregularmente (fig. 13) ou esboçando pequenos

feixes. Este material não apresentava birrefringência na luz polarizada mas individualizava-se bem em contraste de fase (fig. 14).

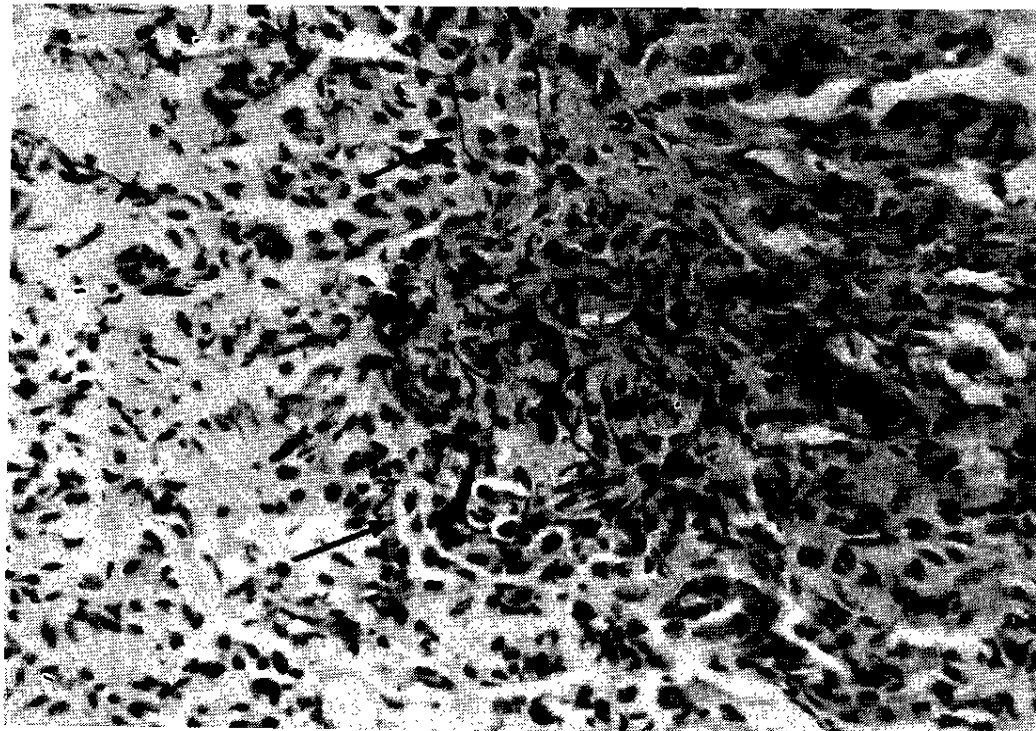


Fig. 13 — Caso IV. Grande espessamento dos septos interalveolares com obliteração da estrutura alveolar. Abundantes inclusões dum material fibrilhar, correspondente a fibras acrílicas. H. e E.  $\times 125$

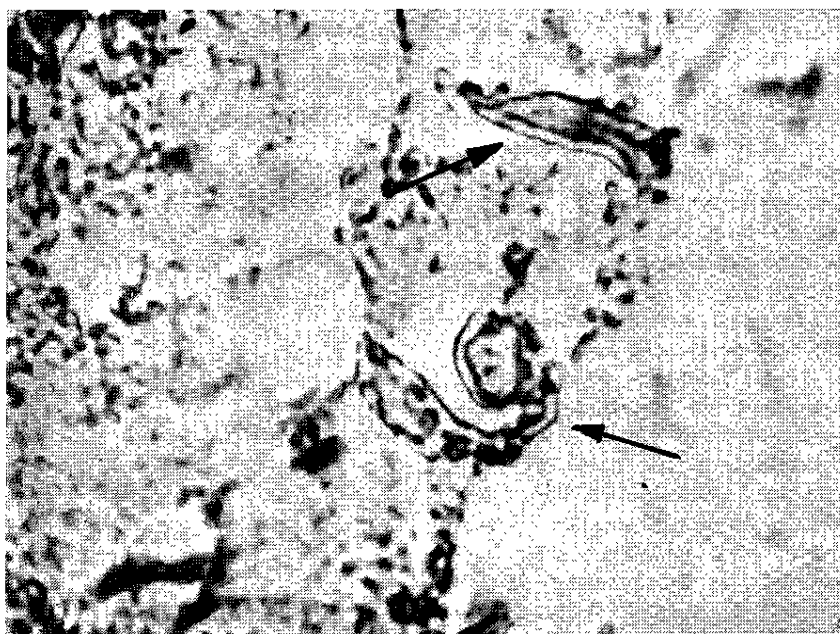


Fig. 14 — Outro pormenor das lesões (contraste de fase). As setas assinalam inclusões de fibras acrílicas.  $\times 450$

### **Observações complementares:**

#### **a. Dados sobre a actividade profissional da doente**

Trabalhou durante cerca de 17 meses numa fábrica onde confeccionava camisolas e casacos de malha com material acrílico («Crylor»). Os seus primeiros sintomas manifestaram-se cerca de 8 meses após ter iniciado esta sua actividade profissional. A confecção daquelas peças de vestuário libertava, segundo a doente, uma poeira muito fina que, a partir de certa altura, lhe começou a provocar «opressão torácica» e dispneia.

#### **b. Exame de amostras das fibras sintéticas com que trabalhara**

Confirmou-se a natureza acrílica deste material (fig. 15) por intermédio das seguintes provas: ausência de birrefringência, insolubilidade (ácido acético glacial, ácido clorídrico 4.2 Normal, ácido fórmico concentrado, ácido sulfúrico a 70%, fenol a 80%, solução de cupramónio e m-cresol), solubilidade (dimetil-formamida em ebulição e nitro-metano a 90%), reacção do acetato de cobre-benzidina positiva e coloração rósea com o corante de Meldrum e «Sevron Orange».

#### **c. Exame da poeira recolhida no seu ambiente de trabalho**

Este estudo mostrou que a poeira acumulado no meio fabril em que o doente exercia a sua actividade era constituída por pequenos fragmentos resultantes da dissociação e fragmentação do material acrílico atrás referido. Obtiveram-se resultados positivos em todas as provas realizadas com a finalidade de caracterizar aquele material sintético.

#### **d. Exame do tecido pulmonar**

Verificou-se que as inclusões existentes nas lesões tinham as características físico-químicas das fibras acrílicas, excepto nalgumas zonas em que os seus filamentos apresentavam fraca corabilidade, aspecto ondulado e calibre irregular (fig. 16). Admitiu-se que estes aspectos, particularmente evidentes, nas zonas em que as lesões apresentavam apre-

ciável colagenização, correspondessem a modificações químicas do material inalado, alguns dos quais se revelavam pela presença de finos depósitos de sais de cálcio, constituídos ao longo das fibras.

#### **e. Evolução**

A doente foi examinada cerca de 3 meses depois de ter tido alta. Referiu uma dispneia permanente cuja intensidade vinha aumentando progressivamente. O exame radiológico mostrou um agravamento apreciável das lesões que, na sua maior parte, eram de tipo «fibrótico».

### **CASO V**

M. A. C. do sexo masculino, de 53 anos, operário fabril.

Queixou-se desde Março de 1960 de tosse persistente, expectoração pouco abundante, crises estertóricas e rinorreia. Estes sintomas manifestavam-se, quase exclusivamente, durante o trabalho e atenuavam-se ou mesmo desapareciam quando se afastava do ambiente empoeirado da fábrica onde exercia a sua actividade. Fez tratamento com vários antibióticos mas a sintomatologia nunca desapareceu totalmente. Em Outubro de 1964 teve um «síndrome gripal» e voltou a ter tosse intensa e persistente que passou a acompanhar-se de dispneia de esforço, expectoração muco-purulenta e, por vezes, hemoptoica. Desde Março de 1965 tem tido pequenas hemoptises pelo que lhe foi aconselhado internamento. As pesquisas de B. K. na expectoração foram sempre negativas. O exame radiológico do tórax mostrou uma marcada acentuação das imagens bronco-vasculares do lobo inferior direito e uma tumefacção e densificação hilar (fig. 17). A broncoscopia não revelou alterações. Um exame broncográfico permitiu identificar bronquectasias difusas e saculares no lobo inferior direito. Os resultados do hemograma e da velocidade de sedimentação estavam dentro dos valores normais. Os exames da função ventilatória revelaram, também, dados considerados dentro da normalidade. Foi proposto para ressecção do lobo inferior do pulmão direito, o que foi feito no Serviço de Cirurgia Torácica do Centro Sanatorial do Lumiar. O exame macroscópico do lobo removido confirmou a presença de bronquectasias

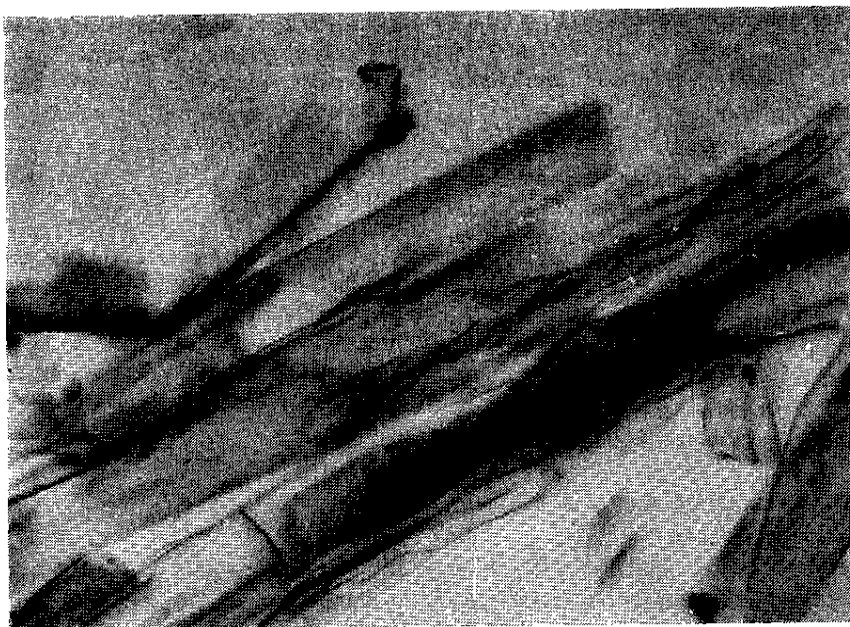


Fig. 15 — Caso IV. Fibras acrílicas («Crylor»)  $\times 250$

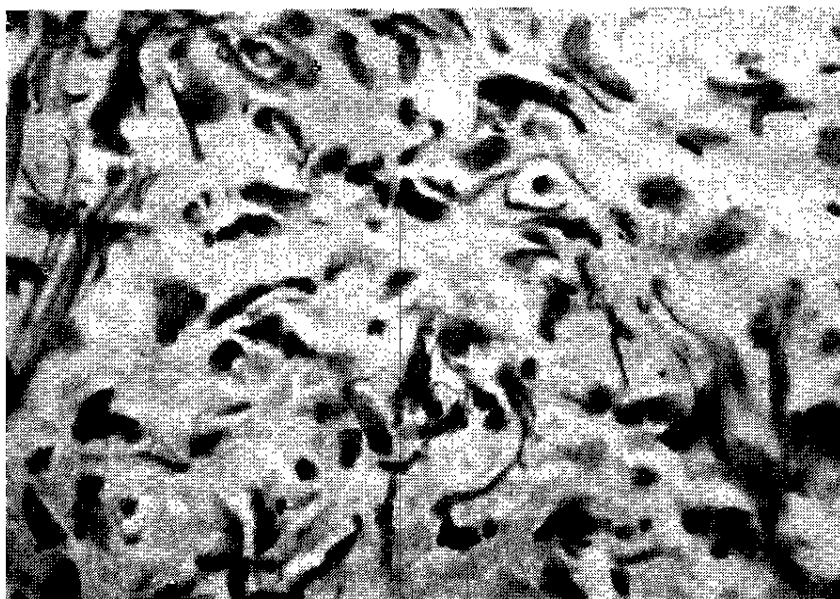


Fig. 16 — Caso IV. Pormenor duma zona da lesão pulmonar com marcada fibrose. As fibras incluídas nas lesões coram mal e têm trajecto ondulado (modificação da composição química?). H. e E.  $\times 450$



e mostrou a existência duma extensa fibrose intersticial, particularmente acentuada em torno dos brônquios. O exame histológico mostrou que a parede dos brônquios ectasiados estava

muito infiltrada por linfócitos, plasmócitos e granulócitos neutrófilos e que a fibrose que os envolvia era constituída, na sua maior parte, pela conglomeração de nódulos de aspecto

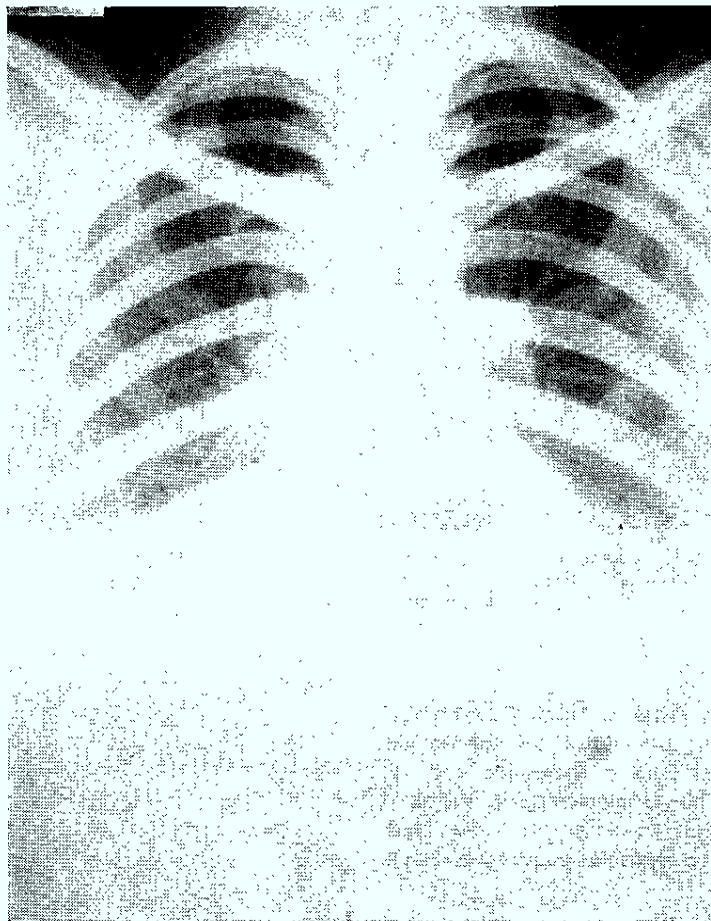


**Fig. 17 — Caso V. Radiografia do tórax. Marcada acentuação das imagens bronco-vasculares ao nível do lobo inferior direito e tumefacção e densificação hilar**

cicatricial (fig. 18), alguns dos quais continham, ainda, quantidades apreciáveis de células de tipo histiocitário e fibroblástico, reunidas em conjuntos de aspecto granulomatoso. No interior destas lesões observaram-se, por meio da luz polarizada, numerosas inclusões birrefringentes, solitárias ou dispostas em pequenos feixes, formados em parte por fibras delgadas e alongadas (fig. 19), em parte, por partículas muito finas e de morfologia variada. Os gânglios do hilo pulmonar apresentavam lesões de «histiocitose sinusal», reconhecendo-se, por intermédio da luz pola-

rizada, abundantes partículas birrefringentes, semelhantes às atrás descritas, no interior das células histiocitárias, existentes no interior dos seios.

#### **Observações complementares:**

a. *Dados sobre a actividade profissional do doente*

Trabalha, desde há cerca de 10 anos, como encarregado duma fábrica que se destina à fabricação de tecidos nylon («rafia») e à con-

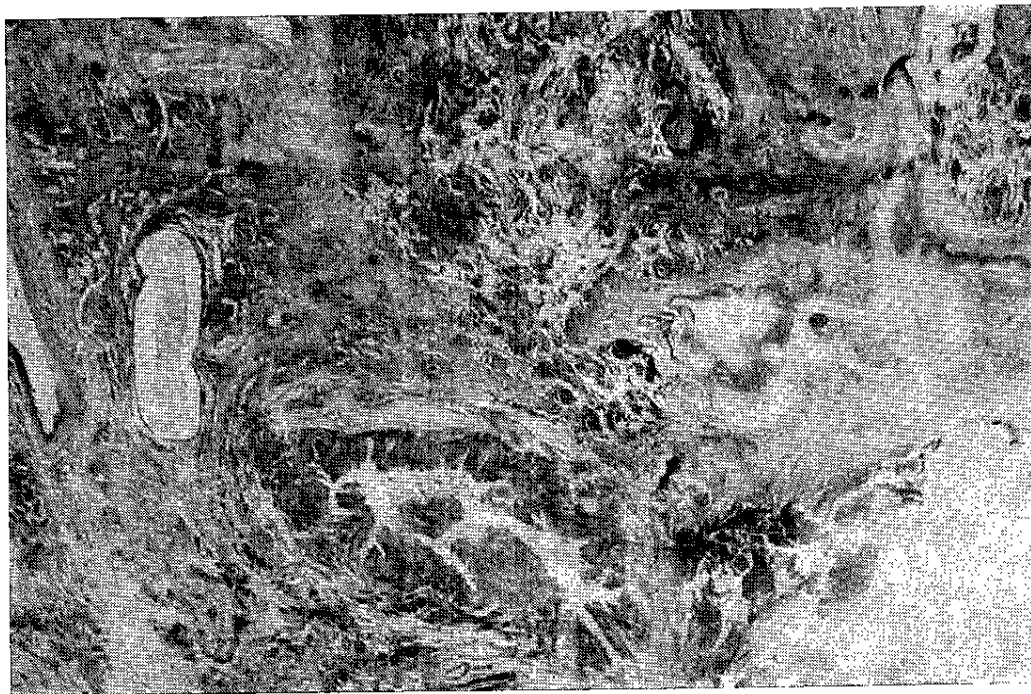


Fig. 18 — Caso V. *Aspecto microscópico geral das lesões pulmonares. Bronquectasias. Fibrose intersticial, interessando sobretudo o tecido conjuntivo peribronco-vascular e os septos interalveolares vizinhos. H. e E. ×35*

fecção de sacos deste material. Estas actividades produzem, segundo a informação do doente, uma poeira muito abundante que impregna densamente o ambiente de trabalho. As suas primeiras queixas manifestaram-se cerca de 4 anos após o seu ingresso na fábrica.

*b. Exame de amostras de fibras e de tecidos com que contactara*

Confirmou-se em todos estes materiais a presença de fibras de nylon, recorrendo à sua birrefringência, solubilidade (ácido clorídrico 4.2 Normal, ácido fórmico concentrado, m-cresol, solução de cupramónio, ácido acético glacial) e insolubilidade na dimetil-formamida.

*c. Exame da poeira recolhida no seu ambiente de trabalho*

As análises realizadas mostraram que a poeira era constituída por fibras e por finas partículas birrefringentes cujas propriedades

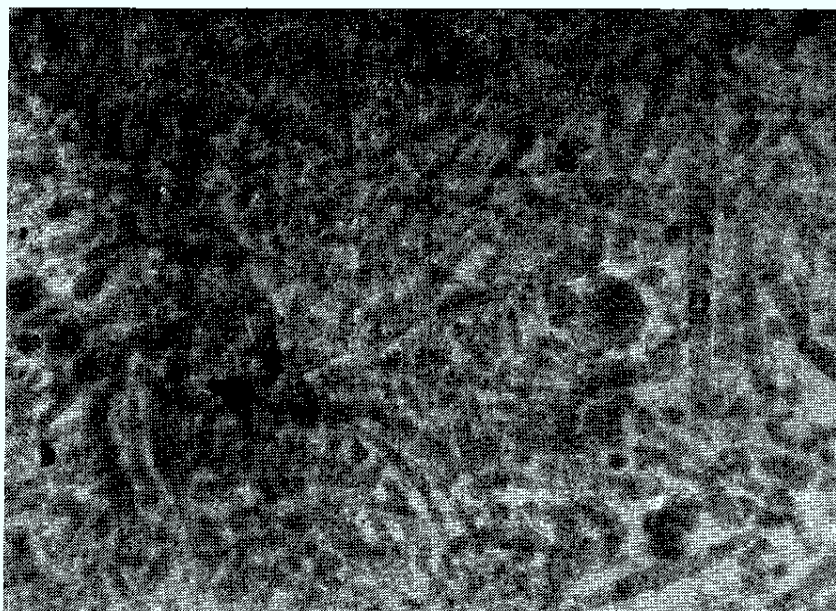


Fig. 19 — Caso V. *Pormenor duma lesão granulomatosa (luz polarizada). Várias inclusões de fibras de nylon. H. e E. ×550*

histofísicas e histoquímicas eram idênticas às do nylon (fig. 20a e b). Foram particularmente esclarecedoras as provas de solubilidade no ácido clorídrico 4.2 Normal, no ácido sulfúrico a 70% e no m-cresol e a de insolubilidade na dimetil-formamida.

#### d. Exame do tecido pulmonar

A análise do pulmão permitiu verificar que as inclusões de material birrefringente, existentes nas lesões correspondiam a poeira de nylon (fig. 21a e b).



5 Fig. 20a — Caso V. Poeira de nylon, examinada entre lâmina e lamela e usando como veículo a parafina líquida.  $\times 35$



Fig. 20b — Caso V. Outro aspecto da poeira de nylon em luz polarizada.  $\times 35$





Fig. 21a — Caso V. Aspecto duma zona das lesões pulmonares. Várias inclusões birrefringentes de fibras de nylon (luz polarizada). H. e E.  $\times 15$

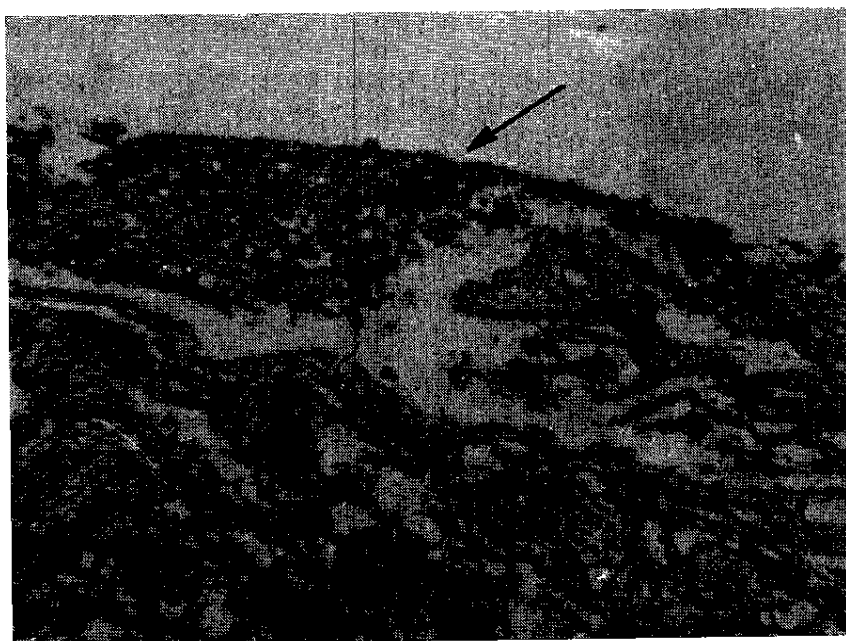


Fig. 21b — Caso V. A mesma zona das lesões representadas na fig. 21a, depois de se ter feito actuar m-cresol. Total dissolução das inclusões de nylon

### e. Evolução

O doente — que tem continuado a exercer a mesma actividade — melhorou das suas queixas, não voltando a ter expectoração hemoptoica. Queixa-se, no entanto, desde há cerca de 1 ano, de dispneia de intensidade progressivamente crescente. O exame radiológico mostrou discretas lesões retículo-nodulares bilaterais e os exames funcionais revelaram uma insuficiência ventilatória restritiva.

### CASO VI

R. S. S., do sexo masculino, de 27 anos, operário fabril.

Em 21-5-1971 teve um pneumotorax espontâneo à direita, tendo sido internado no Hospital de Santa Maria; foi feita drenagem, verificando-se expansão completa do pulmão. Teve alta em 28-7-1971. Em 7-8-1971 teve novo pneumotorax e voltou a ser internado no

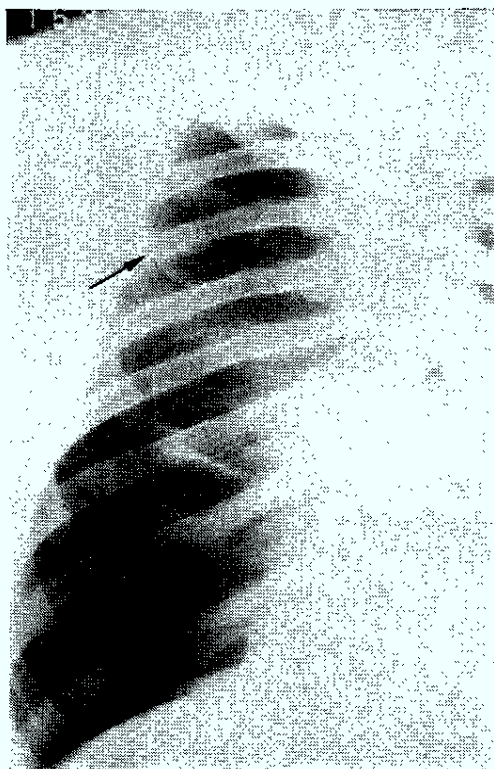


Fig. 22 — Caso VI. Radiografia do tórax. Pneumotorax. Imagem bolhosa no lobo superior do pulmão direito

mesmo hospital. Consta dos registos deste internamento, uma referência a episódios de tosse e expectoração com a duração de cerca de um ano, vários exames laboratoriais de rotina dentro dos valores normais e uma radiografia do tórax que mostrava o pneumotorax e uma «bolha de enfisema» no vértice do pulmão direito (fig. 22). Foi feita, nessa altura, uma toracotomia lateral direita que mostrou que a lesão bolhosa, observada radiologicamente, correspondia a um «cacho de bolhas de enfisema», com o volume duma tangerina e que não existiam lesões noutras zonas do pulmão. Decidiu-se fazer uma ressecção atípica, em cunha, da área enfisematosa. O exame histológico do tecido removido mostrou que tanto a pleura visceral como os septos interalveolares vizinhos, espessados e esclerosados, e as paredes das próprias bolhas de enfisema continham, na sua espessura, abundantes inclusões dum material fibrilar, constituído por delgados e curtos filamentos que nas colorações de rotina tinham uma cor branca amarelada e que no microscópio de polarização apresentavam uma forte birrefringência (fig. 23).

### Observações complementares:

#### a. Dados sobre a actividade profissional do doente

Trabalha desde os 21 anos como tecelão mecânico, manipulando lã cardada e poliésteres, isoladamente ou em «mistos».

#### b. Exame de mostras das fibras têxteis com que trabalhara

Analisaram-se amostras de lã cardada, lã cardada+poliéster e poliéster, confirmando-se a natureza química destes materiais. As fibras de lã foram identificadas pelas seguintes provas e reacções: birrefringência (fig. 24), insolubilidade (ácido acético glacial, ácido clorídrico 4.2 normal, ácido fórmico concentrado, ácido sulfúrico a 70%, dimetil-formamida), solubilidade (hipoclorito de sódio à temperatura ambiente) e coloração azul no método do ácido perfórmico azul alciano para a queratina. A caracterização das fibras de poliéster fez-se, tendo em atenção, especialmente, a sua solubilidade à temperatura de ebulição na dimetil-formamida e no fenol a 80% e à

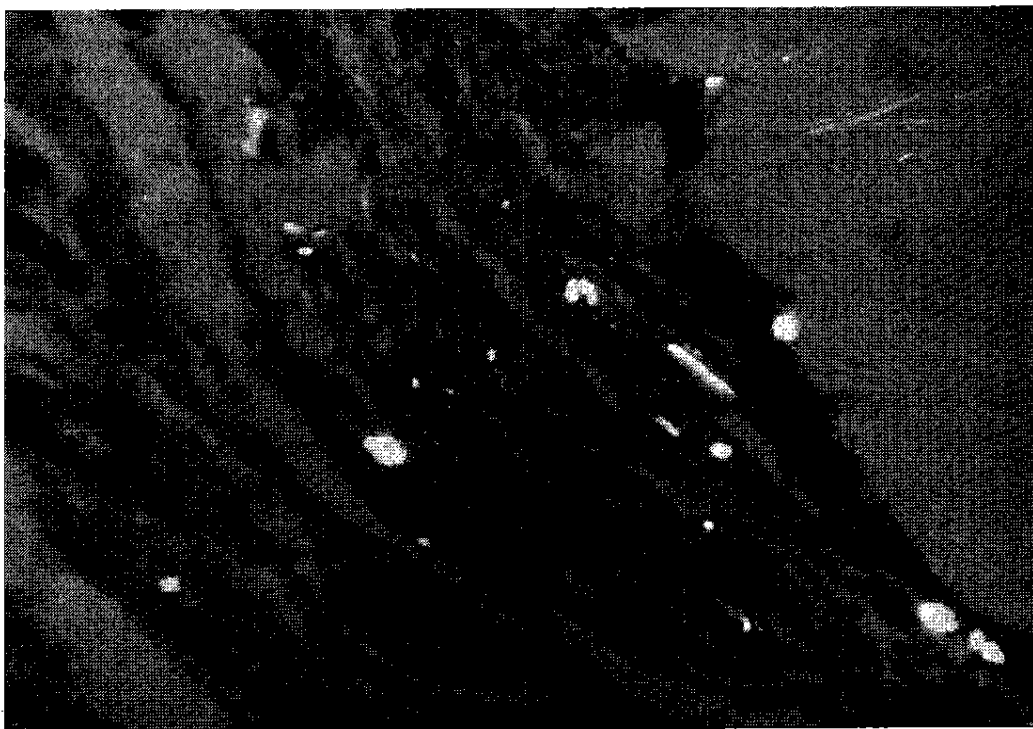


Fig. 23 — Caso VI. Aspecto das lesões pulmonares. Abundantes inclusões de fibras de poliéster (luz polarizada). H. e E.  $\times 75$



Fig. 24 — Caso VI. Fibras de poliéster. Marcada birrefringência na luz polarizada.  $\times 125$

temperatura ambiente no 0-clorefenol e a sua insolubilidade no m-cresol (a 75%) e no ácido fosfórico a 90% (a 215°).

*c. Exame da poeira recolhida no seu ambiente de trabalho*

O seu estudo mostrou tratar-se de finas partículas de lã e poliéster.

*d. Exame do tecido pulmonar*

A elevada birrefringência do material incluído nos cortes das lesões, muito semelhante à das amostras de fibras de poliéster, previamente examinadas, permitiu admitir que se devia tratar deste produto sintético. Confirmou-se esta suposição, excluindo a hipótese de serem fibras de lã por meio da coloração do ácido periórmico-azul alciano e efectuando, com resultados positivos, as provas que caracterizam, histoquimicamente, os poliésteres.

*e. Evolução*

O doente, embora tenha continuado a exercer a sua actividade profissional na mesma fábrica, foi-lhe, no entanto, facultada a possibilidade de a desempenhar em condições de ter o menor contacto possível com o material sintético que se identificara nas suas lesões pulmonares. Não refere queixas desde Agosto de 1971, data em que foi operado.

**CASO VII**

J. S. C., do sexo masculino, de 46 anos, operário têxtil.

Há cerca de 3 meses começou a sentir pontadas no hemitorax direito, tosse, expectoração muco-purulenta e, por vezes, hemoptoica. Fez uma radiografia do tórax que revelou uma imagem «tumoral» no hilo direito e foi enviado para o Serviço de Cirurgia Torácica do Centro Sanatorial do Lumiar para ressecção pulmonar. Refere hábitos tabágicos muito acentuados (30 p/dia).

Os exames radiológicos do tórax, feitos neste Centro (17-IV-69) mostraram uma condensação heterogênea hilar e parahilar, de limites mal definidos no pulmão direito (fig. 25). Este aspecto foi confirmado por tomografia (5-V-69). As pesquisas de B.K. na expectoração foram sempre negativas, o mesmo acontecendo com o exame broncoscópico e com a «pesquisa de células neoplá-

sicas» no conteúdo brônquico. Os resultados do hemograma e da velocidade de sedimentação encontravam-se dentro dos valores normais. Os exames funcionais mostraram um síndrome ventilatório de tipo restritivo com diminuição acentuada das possibilidades ventilatórias.

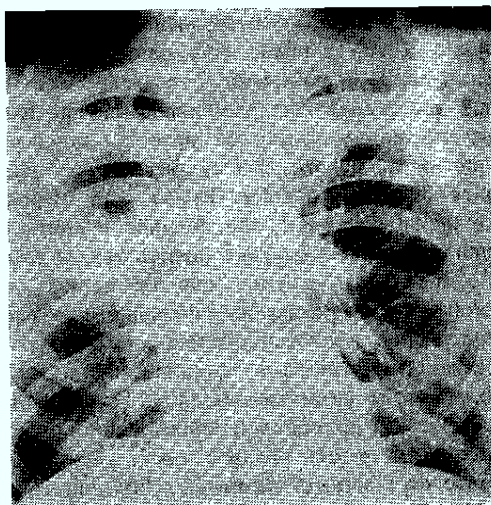


Fig. 25 — Caso VII. Radiografia do tórax. Condensação pulmonar heterogênea, hilar e parahilar direita (17-IV-69)

Entretanto, enquanto se aguardavam os exames laboratoriais necessários à realização da intervenção, verificou-se uma apreciável redução da imagem radiológica. A fig. 26, cor-

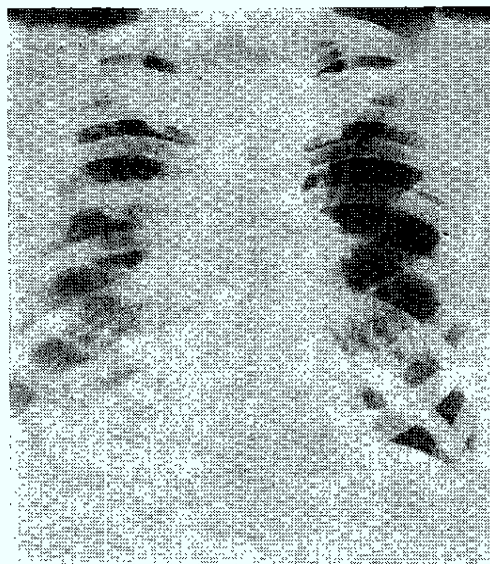


Fig. 26 — Caso VII. Radiografia do tórax. Redução apreciável da imagem de condensação, representada na fig. 25 (30-VII-69)



respondente a uma radiografia feita em 30-VII-69, documenta este facto. Não tinha sido feita qualquer terapêutica susceptível de o explicar. Foi, por esta razão, posta de parte a execução da ressecção pulmonar e o doente mantido sob vigilância. Uma radiografia feita em 4-X-69 não revelou, praticamente, alterações (fig. 27). O doente foi informado da impossibilidade de se esclarecer devidamente a sua situação sem uma exploração cirúrgica e, como tivesse concordado com a sua efectivação, esta foi realizada em Novembro de 1969. Não se observou qualquer «tumor» no pulmão nem se encontraram gânglios hilares tumefactos. Fez-se uma biópsia de tecido pulmonar junto do «hilo inferior» e coheram-se dois gânglios interlobares. O exame histológico mostrou que os septos interalveolares estavam irregularmente espessados, devido a edema, discreta infiltração por células histiocitárias e fibroblastos e a neoformação de fibras reticulares. Observaram-se, além disso, infiltrados linfo-histiocitários peribronquicos e um pequeno espessamento fibroso da pleura. O exame com luz polarizada mostrou a existência de abundantes inclusões, umas vezes, constituídas por filamentos delgados e alongados (fig. 28), outras vezes, por partículas de forma irregular, rectangular ou acicular. Estas inclusões apresentavam estreitas relações com as lesões dos septos atrás referidas. O exame dos gânglios revelou uma hiperplasia linfo-reticular difusa, com

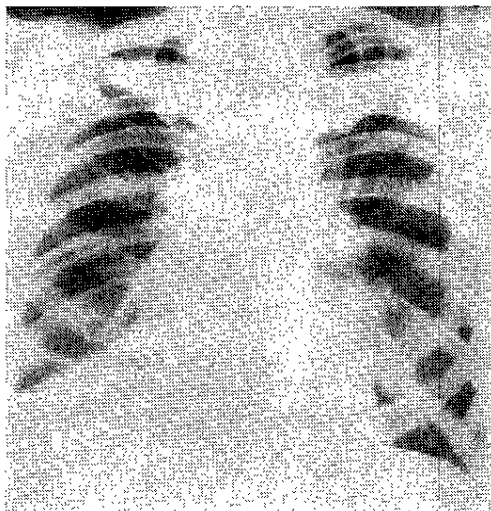


Fig. 27 — Caso VII. Radiografia do tórax. Desaparecimento, quase total, das lesões radiológicas (4-X-69)

abundante material, semelhante ao observado no pulmão mas constituído por partículas e filamentos muito mais finos.

#### Observações complementares:

##### a. Dados sobre a actividade profissional do doente

É operário têxtil (tecelão) desde há 22 anos, tendo já trabalhado com lã, algodão e nylon. Há vários anos que não contacta com lã. Nos últimos 8 anos tem manipulado algodão e nylon em «máquinas de acabamento».

##### b. Exame de amostras das fibras têxteis com que trabalhara

Estudaram-se amostras de algodão e de nylon (fig. 29 e 30) com que o doente contactara nos últimos anos. As provas utilizadas na identificação do nylon (fig. 29) foram as de solubilidade no ácido clorídrico 4.2 Normal, no ácido fórmico concentrado, na solução de cupramónio e no ácido acético glacial e as de insolubilidade na dimetil-formamida. As fibras de algodão foram caracterizadas, atendendo à insolubilidade no ácido acético glacial, na dimetil-formamida, à solubilidade na solução de cupramónio e à positividade das reacções para a celulose (solução de Lugol e de cloreto de zinco iodado).

##### c. Exame da poeira recolhida no seu ambiente de trabalho

Confirmou-se, por meio das reacções atrás indicadas, que as amostras deste material eram formadas, na sua totalidade, por partículas de fibras de algodão e de nylon.

##### d. Exame do tecido pulmonar

Todo o material estranho que existia nas lesões e se identificou por birrefringência, apresentou as reacções de solubilidade habituais do nylon. Comprovou-se a ausência de fibras de algodão e de lã — com que o doente trabalhara há já alguns anos — pela negatividade da reacção do Lugol para a celulose e da coloração do ácido perfórmico-azul alciano para a queratina.

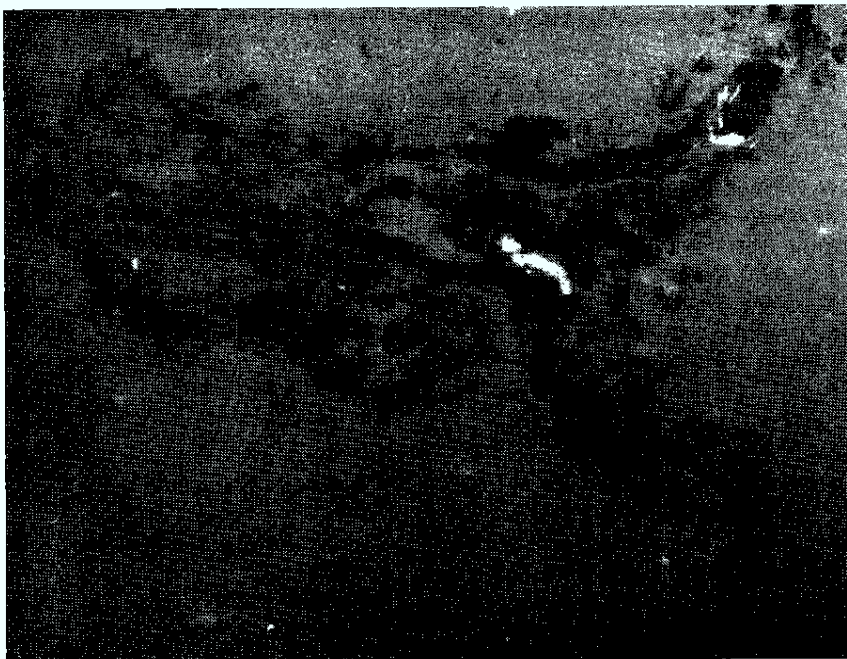


Fig. 28 — Caso VII. Aspecto geral das lesões pulmonares. Inclusões birrefringentes, correspondentes a fibras de nylon (luz polarizada). H. e E.  $\times 35$

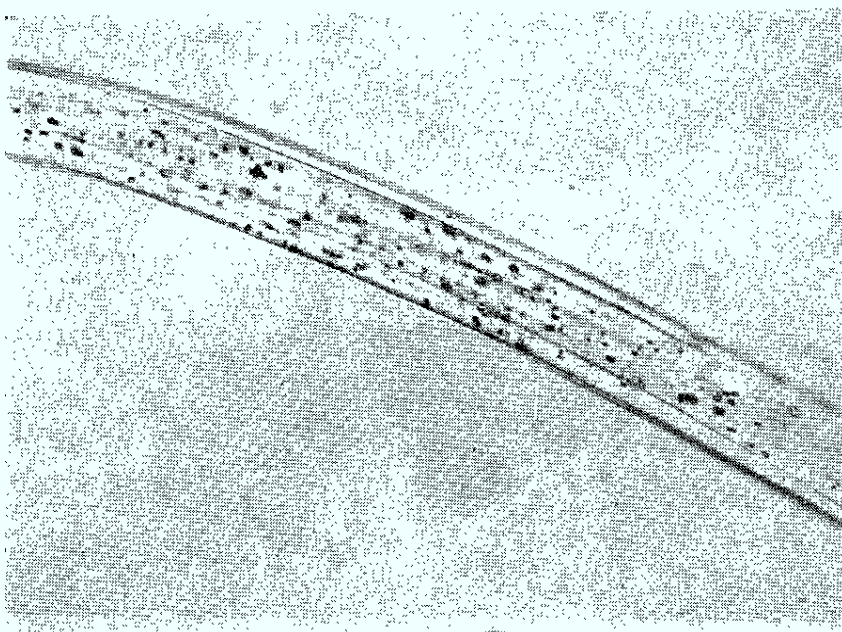


Fig. 29 — Caso VII. Fibras de Nylon.  $\times 300$

### e. Evolução

Este doente continuou a exercer a mesma actividade profissional, embora o fizesse, segundo nos informou, com maior «protecção». Queixa-se, actualmente, de episódios de tosse, expectoração mucosa e discreta dispneia. Um exame radiológico do tórax, realizado cerca de um ano depois de ter feito a biópsia pulmonar, mostrou uma acentuação do retículo pulmonar. As provas funcionais forneceram resultados semelhantes aos dos exames realizados na altura do internamento.

### 2. Exame de biópsias da mucosa nasal

Estudaram-se as alterações da mucosa nasal em 5 casos. Em 3 deles, correspondentes a operários que trabalhavam com fibras de nylon ou de poliéster e que referiam crises esternutórias, obstrução nasal e rinorreia, observou-se um quadro de «rinite alérgica» ou «rinite congestiva», caracterizado por infiltração da mucosa por granulócitos eosinófilos, edema, espessamento da membrana basal do epitélio e, num dos casos, também por pequenos granulomas histiocitários, relacionados com poeira de nylon ou de poliéster. Nos dois casos restantes, em que as biópsias tinham

sido feitas num operário que manipulava fibras acrílicas e num outro que trabalhava com fibras de nylon e que se queixavam, respectivamente, de episódios de «sinusite crónica» e de crises esternutórias, rinorreia e obstrução nasal, identificaram-se processos granulomatosos, constituídos por células de tipo histiocitário e fibroblástico (fig. 31), muito semelhantes às que se encontraram nas lesões pulmonares dos doentes cujos casos relatámos. Todas estas lesões de carácter granulomatoso apresentavam no seu interior pequenas inclusões, constituídas por partículas de fibras sintéticas cuja identificação foi feita com os métodos histoquímicos já referidos.

### 3. Estudos experimentais

Observaram-se lesões dos pulmões em 14 cobaias que inalaram poeira de nylon e em 10 que estiveram expostas à de «Orlon». Todos estes animais pertenceram ao lote de cobaias sacrificadas no fim do período de tempo previsto para termo das experiências, excepto um que morreu, sem sinais de doença, 210 dias depois delas se terem iniciado. As lesões tiveram apenas expressão radiológica num caso; revelaram-se, no entanto, sempre, macroscopicamente, sob a forma de pequenos

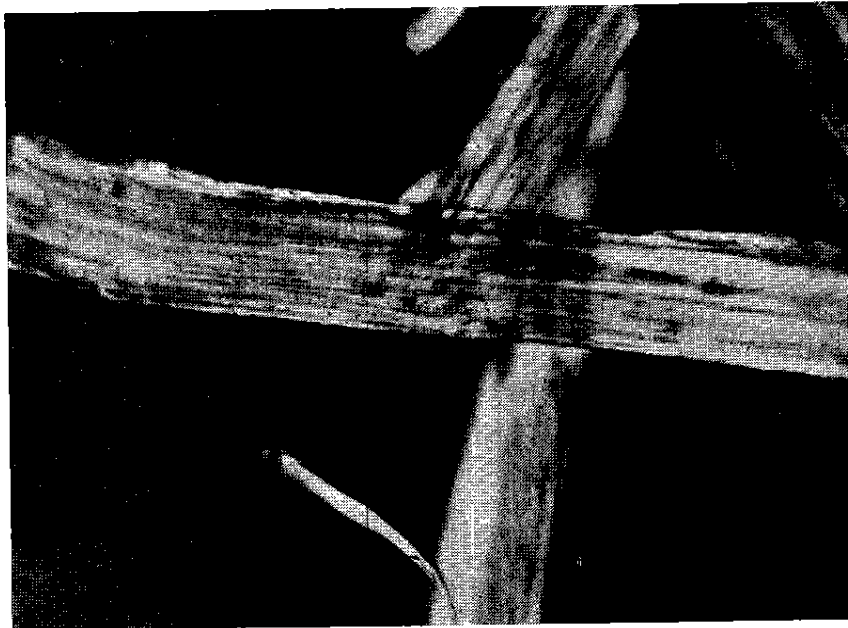


Fig. 30 — Aspecto das fibras de nylon, representadas na fig. 29, em luz polarizada. Birrefringência.  $\times 300$

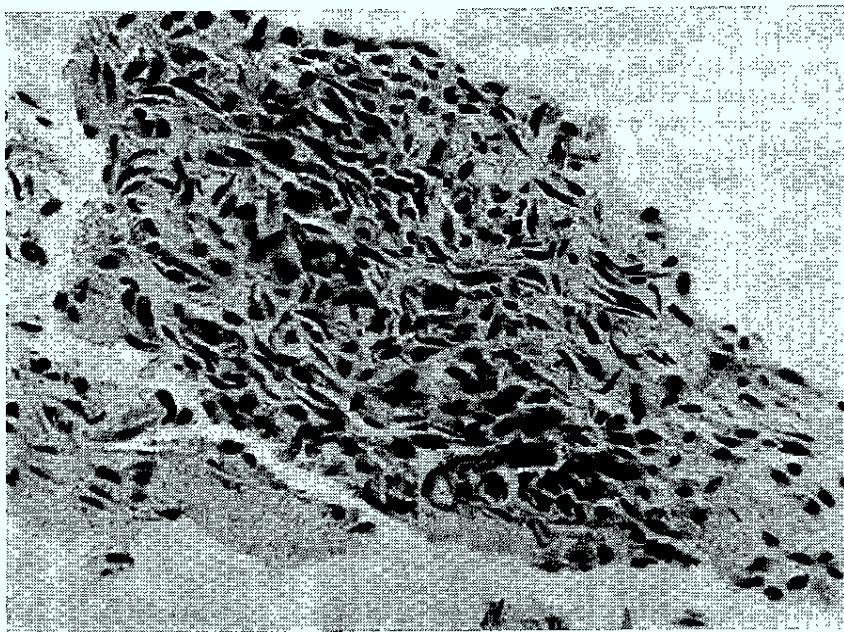


Fig. 31 — *Biópsia nasal (operário que trabalhava com fibras acrílicas). Extensa lesão granulomatosa. As fendas correspondem, em parte, a fibras acrílicas. H. e E.  $\times 300$*

focos subpleurais, de cor vermelha amarelada, limitados por pequenas áreas de enfisema. O exame microscópico confirmou o aspecto nodular das lesões, a configuração arredondada ou ovalar dos seus cortes (fig. 32 e 35) e a tendência à conglomeração, com formação de extensos focos, no interior dos quais podem, no entanto, persistir pequenos grupos de alvéolos de aspecto enfisematoso. As lesões localizaram-se nos septos interalveolares e consistiram na formação de edema, neoformação de fibras reticulares e, especialmente, proliferações celulares, de aspecto granulomatoso, constituídas por células histiocitárias e alguns fibroblastos. Não se verificaram diferenças apreciáveis entre as lesões provocadas pelas poeiras de nylon e pelas de «Orlon». Identificaram-se, em todos os casos, partículas do material inalado no seu interior, sendo as de nylon, facilmente, reconhecidas pela sua birrefringência (fig. 35) e as de «Orlon», visíveis, nas próprias técnicas de coloração de rotina, pela sua afinidade hematoxilínófila (fig. 33). Todas as reacções histoquímicas que permitem identificar estes dois tipos de materiais sintéticos foram aplicadas, com resultados positivos, nas lesões pulmonares dos 28 animais que se estudaram.

## DISCUSSÃO

Os dados coligidos neste estudo permitem admitir, segundo cremos, que tanto os operários da indústria têxtil que manipulam fibras sintéticas como, ainda, aqueles que as utilizam na confecção de peças de vestuário podem sofrer de várias perturbações do aparelho respiratório, estreitamente relacionadas com inalação das suas «poeiras», as quais se manifestam, clinicamente, quer sob a forma dum «síndrome asmatiforme», quer duma doença do interstício pulmonar, semelhante às alveolites alérgicas extrínsecas». (Pulmão do fazendeiro, Pepys e col., 1954 (16); Doença dos criadores de aves, Nash e col. 1967 (17); Pulmão do peleiro, C. Pimentel, 1970 (18), quer dum quadro de «bronquite crônica» com bronquectasias, quer dum pneumotorax espontâneo idiopático, quer, ainda, dum processo de condensação pulmonar, radiologicamente indistinguível dum carcinoma brônquico.

O caso I representa um «síndrome asmatiforme» verificado numa operária que trabalhava com fibras acrílicas numa fábrica de fiação. Os sintomas referidos pela doente foram os habituais da asma brônquica e o substrato morfológico mais representativo do síndrome era uma infiltração celular da parede



brônquica com abundantes granulocitos eosinófilos e inclusões intracelulares de fibras acrílicas. cremos que este quadro anátomo-clínico possa ser a expressão duma reacção brônquica imediata à inalação do material sintético. Fundamentamos esta suposição no conhecimento de que doenças semelhantes à que

estudamos como «Pulmão dos descascadores de sicómos» (Towey e col., 1932) (19), doença dos criadores de aves (M. Carrego, 1969) (20) e suberose (C. Pimentel e R. Ávila, 1972) (21) podem apresentar, também, manifestações de asma brônquica e no facto de já termos tido a oportunidade de identificar,



Fig. 32 — Pulmão de cobaia que foi submetida à inalação de poeira de fibras acrílicas por uma proliferação de células histiocitárias e de fibroblastos e por edema. H. e E.  $\times 45$  («Orlon») durante 324 dias. Lesões nodulares dos septos interalveolares, constituídas

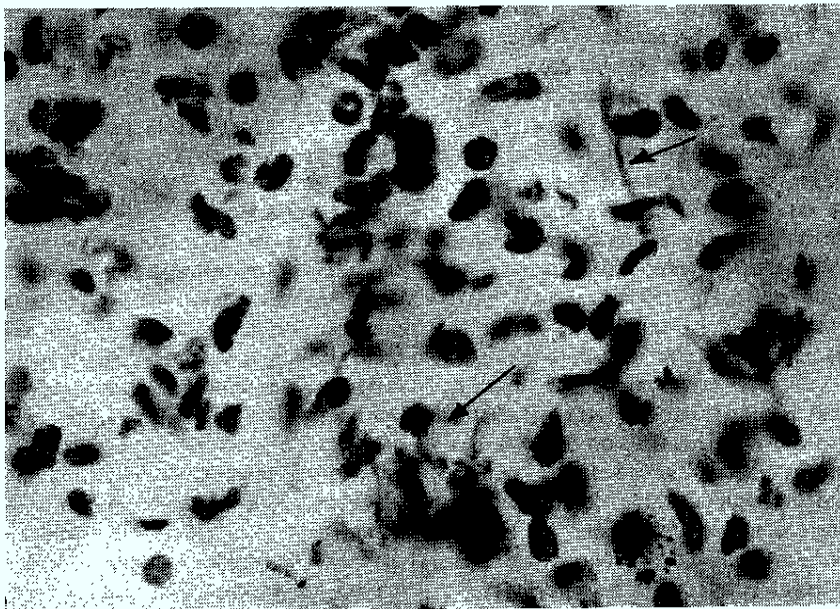


Fig. 33 — Pormenor das lesões representadas na fig. anterior. Notar a presença de edema e duma proliferação de células histiocitárias, no seio das quais se vêem inclusões fibrilares, correspondentes a fibras de «Orlon» (setas). H. e E.  $\times 570$

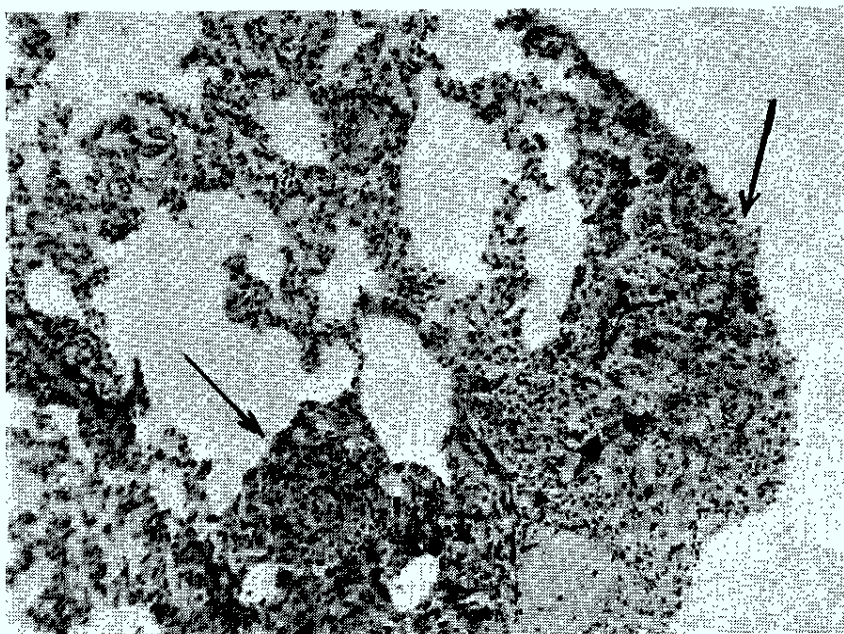


Fig. 34 — Lesões granulomatosas do pulmão, observadas numa cobaia que esteve exposta durante 324 dias à poeira de nylon. H. e E.  $\times 40$

um outro «agente agressor» — a poeira de cortiça — na mucosa brônquica de operários corticeiros que apresentaram «síndromes asmatoformes» similares ao aqui referido (C. Pimentel e R. Ávila, 1972) (21). Deve-se, no entanto, ter presente que outros factores etiológicos podem ser responsáveis pela eclosão de quadros de asma brônquica em operários da indústria de fibras sintéticas como sucede, por exemplo, com o ácido ftálico, utilizado na fabricação do nylon (Simonin, 1961) (9).

Os casos II, III e IV constituem exemplos bastante demonstrativos de «alveolite alérgica extrínseca». O caso I documenta um estadio inicial deste processo cujas lesões radiológicas, regressaram, parcialmente, como é habitual nestas situações, pouco tempo depois de o doente ter sido afastado do meio fabril em que exercia a sua actividade. As lesões morfológicas deste estadio de doença têm uma distribuição focal e caracterizam-se por edema, infiltração de células histiocitárias e fibroblastos, neoformação de fibras reticulares, colagenização muito discreta e presença constante

de inclusões do material sintético inalado (fig. 6 e 7). O caso III é um exemplo típico duma forma crónica da doença num estadio terminal, caracterizada, clinicamente, por uma insuficiência respiratória progressiva e, sob o ponto de vista anátomo-patológico, por uma fibrose intersticial difusa com inclusões de fibras sintéticas, acompanhada de lesões de enfisema e de «pulmão em favo» (fig. 10 e 11). Esta forma crónica da doença foi precedida, como muitas vezes sucede (21, 25), por um estadio agudo, de curso insidioso que se manifestou por episódios de tosse, expectoração mucosa e astenia e que se deve ter arrastado durante alguns anos. Finalmente, o caso IV corresponde, também, a uma forma crónica de «alveolite alérgica extrínseca», mas distingue-se no entanto, daquela pela ausência, pelo menos aparente, dum estadio «agudo» inicial e pelo seu curso muito progressivo. As lesões morfológicas deste caso, embora apresentassem uma colagenização apreciável, característica dos estadios crónicos, eram, no entanto, ainda, muito

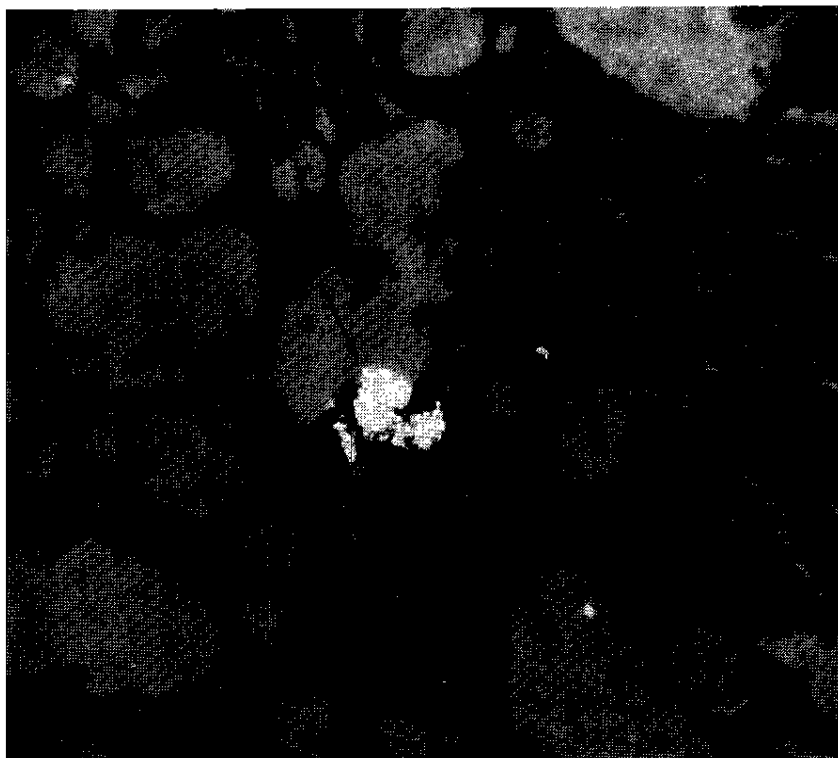


Fig. 35 — Pormenor da fig. anterior. Inclusões birrefringentes, correspondentes a poeira de nylon (luz polarizada). H. e E.  $\times 300$



celulares (fig. 13) o que deve estar, provavelmente, relacionado com a rápida evolução do processo.

O caso V reproduz, segundo pensamos, uma forma anátomo-clínica da doença cujas manifestações se fizeram sentir, predominantemente, na árvore brônquica e tiveram por expressão clínica uma sintomatologia comparável à duma «bronquite crónica». O seu curso foi assinalado, no entanto, por um agravamento progressivo das queixas iniciais e, mais tarde, pelo aparecimento de episódios de hemoptise e supuração que os exames clínico e radiológico relacionaram com a existência de bronquiectasias, aparentemente localizadas a um lobo pulmonar. A ressecção desta zona de pulmão provocou uma melhoria da sintomatologia da afecção que, contudo, dado o seu carácter difuso, evoluiu mais tarde, lenta e progressivamente, para um quadro de insuficiência respiratória. As alterações anátomo-patológicas do pulmão deste doente eram de carácter inflamatório e esclerosante e interessavam, predominantemente os brônquios, o tecido conjuntivo peribronco-vascular e o interstício alveolar circunvizinho (fig. 18) onde se observaram como se esquematizou na fig. 25, extensas lesões, recentes e cicatriciais, relacionadas com a presença de inclusões das poeiras de nylon inaladas (fig. 19, 20a e b, 21a e b).

Finalmente, no que respeita aos casos VI e VII, trata-se de formas aparentemente «localizadas» da doença pulmonar, uma que evoluiu como um pneumotorax espontâneo idiópático (fig. 22 e 23) e outra que se manifestou como uma condensação pulmonar segmentar, radiologicamente muito suspeita de corresponder a um carcinoma brônquico (fig. 25). O caso VI é comparável a algumas observações de pneumotorax espontâneo que têm sido, também, referidas em doenças profissionais de causa inalatória, nomeadamente, na pneumoconiose dos mineiros das minas de carvão, na silicose, na berliose, na aluminose e no «pulmão da bauxite» (Crofton e Douglas, 1969) (22). O estudo dum fragmento de pulmão, removido, cirurgicamente neste caso VI, permitiu-nos observar que se tratava de lesões focais, de localização subpleural, morfológicamente semelhantes às que vimos nos casos de «alveolite alérgica extrínseca» (fig. 23) mas acompanhadas de extensa esclerose e da formação de grossas bolhas de enfisema. Quanto ao caso VII,

pensamos que se deva interpretar como uma pneumonia crónica «pseudo-tumoral» e cremos que o conhecimento das estreitas relações que devem existir entre a inalação de fibras de nylon e a génese do processo talvez possa suscitar futuras investigações no capítulo, ainda tão obscuro, da etiologia das pneumonias crónicas. Recordaremos que o substrato morfológico das lesões deste caso era muito semelhante ao dos estadios iniciais da «alveolite alérgica extrínseca» (fig. 28) o que permite compreender perfeitamente, a «regressão» da sua imagem radiológica, quando o doente foi afastado do meio fabril para ser hospitalizado.

Todos os quadros que acabámos de referir, embora pareçam bem individualizados, não devem, no entanto, constituir entidades perfeitamente distintas. Recordaremos, a este respeito, que a base anátomo-patológica de todas as situações que descrevemos foi, sensivelmente, a mesma e que, no caso I, o doente apresentou, inicialmente, manifestações de asma brônquica e, mais tarde, passou a apresentar queixas de «alveolite alérgica extrínseca». Pensamos, de acordo com T. Villar (1968) (23), que a eclosão das diferentes manifestações das doenças bronco-pulmonares de causa inalatória depende, muito provavelmente, da dose e da concentração do «agente agressor» a que o doente está exposto. Esta dualidade de resposta clínica no mesmo doente — asma brônquica e alveolite alérgica extrínseca — já foram referidas em indivíduos sensíveis aos enzimas do «*Bacillus subtilis*» (Pepys e col. 1967) (24) e em operários da indústria da cortiça (C. Pimentel e R. Ávila, 1972) (21).

O diagnóstico preciso das várias manifestações da bronco-pneumopatia dos operários expostos a fibras sintéticas só pode ser feito, no momento actual, por exame anátomo-patológico do tecido pulmonar, colhido por punção ou removido por meios cirúrgicos. Exige, ainda, que proceda, dada a inespecificidade dos quadros morfológicos nas técnicas de rotina, a uma minuciosa caracterização do material sintético inalado, o que pode ser feito tanto nas lesões recentes como, muitas vezes, nas próprias cicatrizes (fig. 21a e b). O quadro I sintetiza um conjunto de métodos histofísicos e histoquímicos que se preconizaram para o fazer e que se adaptaram, ensaiaram e aplicaram, baseados em conhecimentos adquiridos na química têxtil.

No que se refere às observações experimentais, cremos ser lícito registar a grande analogia das lesões reproduzidas com as da doença humana, incluindo a sua distribuição focal inicial (fig. 32 e 34), a sua extensão por conglomeração das lesões primitivamente solitárias e a caracterização histoquímica dos materiais inalados no interior daquelas (fig. 33 e 35).

A evolução dos quadros dos doentes cujas observações apresentámos, mostrou que o prognóstico destas situações era, em geral, bom quando se tratava de lesões de tipo «agudo» ou recentemente estabelecidas (casos II e fase inicial do VII) mas bastante reservado desde que já se tivesse constituído uma fibrose intersticial, irreversível do pulmão (casos I, III, IV, V e, possivelmente, segunda fase do caso VII). Os doentes pertencentes a este último grupo manifestaram sinais de insuficiência respiratória de curso, em geral lento mas progressivo.

Quanto à natureza da afecção admite-se que se trate duma doença profissional de causa inalatória cuja eclosão necessita dum factor «individual» e em que intervêm vários mecanismos, um dos quais deve ser a própria presença da poeira da fibra sintética no tecido pulmonar e um outro, terá, possivelmente, uma natureza imunológica. Baseamos esta última suposição no facto de uma das manifestações da doença ser precisamente uma «alveolite alérgica extrínseca», semelhante à que se tem observado em doenças similares em que já se realizaram estudos imunológicos de valor prático indiscutível, como o pulmão do fazendeiro (Pepys e col., 1946; Seal e col., 1968) (16, 25), a bagaçose (Jamison e Hopkins, 1940-41) (26), a doença dos descascadores de sicómoros (Emanuel e col., 1967) (28), o pulmão dos criadores de aves (Nash e col., 1967) (17) e a suberose (C. Pimentel e R. Ávila, 1972) (21).

Estamos, actualmente, tentando determinar, com a colaboração de R. Ávila, aspectos imunológicos da bronco-pneumopatia motivada pela exposição a fibras sintéticas que possibilitem o seu diagnóstico sem se ter de recorrer à biópsia pulmonar.

A afecção que estudámos apresenta, ainda, um outro aspecto, relacionado com o aparecimento, muito frequente, de queixas nasais, vulgarmente atribuídas a uma rinite

congestiva (10), a que não queremos deixar de fazer uma breve referência. Os estudos efectuados mostraram que as lesões da mucosa nasal podem ser muito mais complexas do que se julga, revestindo, por vezes, como se viu, quadros granulomatosos, com inclusões do material sintético inalado (fig. 31), semelhantes aos observados nas lesões pulmonares. Cremos que estes aspectos justificam uma revisão do conceito de rinite «congestiva ou alérgica» e explicam a irreversibilidade das lesões e, muito provavelmente, a pouca eficiência dos meios terapêuticos que se utilizam, no momento actual, em muitas situações desta ordem.

Chama-se, por fim, a atenção do Departamento de Saúde Pública para este problema cujo interesse prático e medidas de prevenção lhe compete analisar e promover. Recordaremos, no entanto, ainda, que a maior parte dos quadros que se descreveram provocaram fibroses pulmonares difusas com insuficiência respiratória irreversível, que a actividade têxtil ocupa uma posição predominante na indústria nacional, que o campo das fibras sintéticas é um dos que se apresenta, actualmente, com melhores perspectivas de evolução e que se está promovendo a expansão da química orgânica de síntese, através de instalações de fabrico das matérias-primas necessárias à produção daquelas fibras.

## CONCLUSÕES

Do estudo a que se procedeu julgamos poder deduzir os seguintes factos:

1. Os operários que estão expostos a poeiras de fibras sintéticas podem sofrer de perturbações bronco-pulmonares que parecem estar estreitamente relacionadas com a inalação daqueles materiais.

2. Estas perturbações podem-se manifestar quer sob a forma dum «síndrome asmático», quer duma «alveolite alérgica extrínseca», quer duma «bronquite crónica» com bronquectasias, quer dum pneumotorax espontâneo idlopático, quer, ainda, duma «pneumonia crónica pseudo-tumoral».

3. Estes quadros, embora pareçam bem individualizados, não devem, no entanto, constituir entidades perfeitamente distintas.

4. O diagnóstico dos quadros provocados por inalação de fibras sintéticas só pode fa-

zer-se, no momento actual, com precisão, por meio do exame anátomo-patológico do tecido pulmonar, colhido por punção ou removido cirurgicamente.

5. A execução deste diagnóstico exige que se proceda à caracterização das inclusões nas lesões; propõe-se, com essa finalidade, um conjunto de métodos histofísicos e histoquímicos que se idealizaram e aplicaram, tendo por base conhecimentos adquiridos na química têxtil.

6. É possível reproduzir experimentalmente lesões pulmonares muito semelhantes às observadas nos casos descritos, expondo cobaias à inalação de poeiras de fibras sintéticas.

7. O prognóstico dos quadros descritos é, em geral, bom quando as lesões são de tipo «agudo» ou recentemente estabelecidas e bastante reservado quando aquelas já apresentam uma fibrose intersticial, extensa e irreversível.

8. Pensa-se que se trate duma doença pulmonar de causa inalatória cuja eclosão necessita dum «factor individual» e em que intervêm, possivelmente, vários mecanismos, um dos quais, deve ser a própria presença do material nos tecidos do doente e, um outro, será, possivelmente, de natureza imunológica.

9. A sintomatologia nasal, frequentemente referida pelos doentes, não corresponde, como se tem admitido, muitas vezes, a uma simples «rinite congestiva»; trata-se, frequentemente, de lesões granulomatosas, semelhantes às do pulmão, cuja irreversibilidade e resistência à terapêutica se compreendem facilmente.

10. Dada a importância, actual e futura, no nosso país, das indústrias em que intervêm fibras sintéticas e a gravidade das lesões pulmonares que se podem manifestar nos que a elas estão ligados, deve-se chamar a atenção dos responsáveis pelo sector da Saúde Pública para este problema.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Preston, J. M. *Fibre Science*. The Textile Institute. Manchester. 1947.
2. Hearle, J. W. e Peters, R. H. *Fibre structure*. Butterworths. Manchester e Londres. 1963.
3. Spéakman, J. B. *Progres recents dans la technologie des textiles nouveaux*. Richard Clay and Company Ltd. Bungay. Suffolk.
4. Fabricação de fibras artificiais e sintéticas. Trabalhos preparatórios do III Plano de Fomento. Relatórios apresentados ao Grupo de Trabalho n.º 3 da Comissão Interministerial do Planeamento e Integração Económica.
5. Identification of textile materials. The textile Institute. C. Tinling & C.<sup>a</sup> Ltd. Londres. 1970.
6. Zuskin, E., Proctor, D. e Permutt: the effect of viscose rayon fibers on lung function in rats. *Environ Health* 17:874, 1968.
7. II. International Conference on respiratory diseases in textile workers. Alicante. Espanha. 1968.
8. Tiller, J. R. e Schilling, R. Respiratory function during the day in rayon workers: a study in byssinosis. *Trans. Assoc. Indust. Med. Off.* 7:157, 1958.
9. Simonin, C. Pathologie professionnelle dans l'industrie des fibres artificielles. *Médecine du Travail*. Paris. 1961.
10. Chwat, M. e Mordish, R. Byssinosis investigation in two cotton plants in Israel. *Proceedings of the 14th International Congress on occupational health*. Madrid. 1963.
11. Sano, T. Pathology and pathogenesis of organic pneumoconiosis. *J. Sci. Labour*, 43:3, 1967.
12. Abe, A. e Ishikawa, T. Studies on pneumoconiosis. *J. Sci. Labour* 43:19, 1967.
13. Pearse, A. *Histochemistry: Theoretical and Applied*. 3rd. Ed. Churchill. 1968.
14. Koch, P. *Microscopic and Chemical testing of textiles*. Chapman and Hall. Londres. 1963.
15. Algerino, A. Riconoscimento e dosaggio delle fibre tessili e controlli di lavorazione. Ed Laniera. Biella Vicenza. 1969.
16. Pepys, J., Longbottom, J. L. e Jenkins, P. Vegetable dust pneumoconiosis. Immunologic response to vegetable dust and their flora. *Am. Rev. resp. Dis.* 89:842, 1964.
17. Nash, E. S., Vogelpoel, L. e Becker. Pigeon breeders lung — a case report. *S. Afr. med. J.* 41:191, 1967.
18. Pimentel, J. C. Furrier's lung. *Thorax* 25:387, 1970.
19. Towey, J., Sweany, H. e Huron, W. Severe bronchial asthma apparently due to fungus spores in maple bark. *J. Am. Med. Ass.* 99:453, 1932.
20. Carrego, M. C. Mesa Redonda sobre pulmão imunológico. IV — Estudos laboratoriais. *J. Soc. Ciênc. Med. (Lisboa)* 133:407, 1969.
21. Pimentel, J. C. e Ávila, R. Doença respiratória dos operários corticeiros («suberose»). *Novos aspectos e possibilidades de diagnóstico*. Em publicação (Thorax).
22. Crofton, J. e Douglas, A. Blackwell Scientific Publications. Oxford e Edinburgh. 1969.
23. Villar, T. Mesa Redonda sobre «pulmão imunológico». I. Introdução. *J. Soc. Ciênc. Med. (Lisboa)* 133:459, 1968.
24. Pepys, J., Longbottom, J., Hargreave, F. e Faux, J. Allergic reactions of the lungs to enzymes of *Bacillus subtilis*. *Lancet* 1:1181, 1967.
25. Seal, R., Hapke, E., Thomas, G., Meek, J. e Hayes, M. The pathology of the acute and chronic stages of farmer's lung. *Thorax* 23:469, 1968.
26. Jamison, S. e Hopkins, J. Bagassosis. A case report. *New Orleans Med. Surg. J.* 93:580, 1940-41.
27. Emanuel, D. A., Lawton, B. e Wenzel, F. Maple-bark disease. Pneumonitis due to coniosporium corticale. *New England J. Med.* 266:333, 1962.
28. Cohen, H., Merigan, T., Kosek, J. e Eldridge, F. Sequosis. *Am. J. Med.* 43:785, 1967.

## ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA DOENÇA RESPIRATÓRIA DOS TRABALHADORES DA INDÚSTRIA DA CORTIÇA \*

*Ramiro Avila<sup>1</sup>, Galvão Lucas<sup>1</sup>, Teles de Araújo<sup>1</sup>, John Lacey<sup>2</sup>, Maria Clara Heitor<sup>3</sup>, Eurico Marques Mendes<sup>3</sup>, Ibraímo Maulide<sup>3</sup>, Bogalho de Almeida<sup>3</sup>, Maria Helena Campos<sup>3</sup>, Raul Amaral Marques<sup>3</sup>, Amadeu Peixoto Menezes<sup>4</sup>, Joaquim Ramada<sup>4</sup>, Miguel George Villar<sup>4</sup>, Maria de Lourdes Carvalheira<sup>5</sup>, Maria Margarida Belchior Perdigão<sup>6</sup>, Maria da Conceição Póvoa<sup>6</sup>.*

### ABSTRACT

*An epidemiologic study of 697 cork workers in a cork factory was undertaken to try to determine the incidence of suberosis.*

*The results of clinical, radiologic, lung function and immunologic studies using antigens of *Penicillium frequentans* are presented and discussed. The concentrations of cork particles and fungal spores in the factory environment were also determined and correlated with the clinical data.*

*According to the criteria adopted, 19 % of the workers are probably clinically affected by suberosis.*

### INTRODUÇÃO

Os operários das fábricas onde a cortiça é transformada nos produtos comerciais podem contrair uma doença do aparelho respiratório mais ou menos incapacitante.

Foi Vinte-e-Um Mendes (13), em 1947, quem, pela primeira vez, admitiu a possibilidade da poeira de cortiça ser patogénica.

Em 1955, Lopo Cancela de Abreu (1) mostrou que a poeira de cortiça provocava uma forma especial de pneumoconiose, a Suberose. Pouco depois, com Silva Horta (9), reproduziu a doença em animais de experiência.

Ávila e Villar (2), em 1968, distinguiram, dentro do grupo dos suberóticos, doentes com

sintomas asmáticos e doentes com queixas de doença intersticial do tipo da alveolite alérgica. Estudaram, também nessa altura, o comportamento dos soros dos doentes frente a antígenos preparados a partir de cortiça «limpa» e bolorenta.

---

\* Trabalho do Serviço de Doenças Pulmonares da Faculdade de Medicina de Lisboa, realizado sob a orientação do Professor Doutor Thomé G. Villar, na fábrica do Seixal da firma Mundet.

1 Assistentes.  
2 Investigador.  
3 Internos.  
4 Alunos.  
5 Enfermeira.  
6 Técnicas.



Cortez Pimentel (15), em 1969, mostrou que, no quadro histológico da Suberose, se podiam encontrar granulomas epitelioides semelhantes aos que se encontram no «pulmão do fazendeiro» e, em 1971 (16), preconizou uma técnica de coloração utilizando o vermelho de cochonilha que lhe permitiu, pela primeira vez, identificar a poeira de cortiça dentro das lesões por ela produzidas.

Em 1971, Ávila e Teles de Araújo (3), baseados na clínica e nas respostas às provas de provocação cutâneas e inalatórias, discutiram a possível associação de queixas de tipo atópico com sintomas devidos às lesões do interstício pulmonar.

Cortez Pimentel e Ávila (17), em 1972, descreveram os achados clínicos, anatomopatológicos e imunológicos que encontraram em 63 operários da indústria corticeira que apresentavam manifestações bronco-pulmonares. Neste trabalho individualizaram três formas anatomo-clínicas da Suberose: I — *Formas subclínicas* — corticeiros assintomáticos mas com lesões anatomopatológicas de discretas a marcadas; II — *Formas agudas*: a — *Quadros asmáticos* — reacção brônquica imediata quando da exposição às poeiras, radiografia do tórax normal, reacção cutânea imediata aos antígenos de cortiça e *Penicillium frequentans*, alterações anatomo-patológicas predominando na parede brônquica; b — *Queixas de bronquite* — sinais de irritação brônquica com tosse irritativa e escassa expectoração, alterações ventilatórias do tipo obstrutivo e radiografia do tórax normal; c — *Quadro de alveolite alérgica extrínseca* — início agudo ou incidiuoso caracterizado por dispneia, febre, mal estar e emagrecimento, radiografia do tórax com aspectos variados, alterações ventilatórias predominantemente restrictivas e redução da difusão alveolo-capilar do CO, precipitinas contra a cortiça e o *Penicillium frequentans* em circulação, reacções cutâneas e inalatórias em dois tempos contra a cortiça e o *Penicillium frequentans*, aspectos histológicos idênticos aos das doenças deste grupo.

III — *Formas crónicas*: a — *Bronquite crónica e bronquiectasias* — evolução da forma aguda caracterizada por dispneia, supuração e hemorragias, bronquiectasias localizadas, radiografias com reforço hilar e acentuação do retículo, precipitinas contra o *Penicillium frequentans* em circulação e alterações ventilatórias do tipo obstrutivo; b — «*Fibrose*» pro-

gressiva — evolução da forma aguda de alveolite alérgica extrínseca, caracterizada por insuficiência respiratória crónica progressiva de tipo restritivo ou misto, radiografia do tórax com aspectos de «fibrose difusa» e pulmão «em favo», precipitinas contra o *Penicillium frequentans* em circulação.

Todos estes estudos ficariam incompletos sem um trabalho de campo para tentar obter elementos epidemiológicos, clínicos e evolutivos que nos permitissem caracterizar melhor a doença à luz dos novos conceitos.

Interessava, também, verificar até que ponto a Suberose constitui um problema de Saúde Pública na medida em que, espalhadas por quase todo o Portugal Continental, se encontram em actividade cerca de 600 unidades fabris empregando cerca de 20 000 operários (Fig. 1).

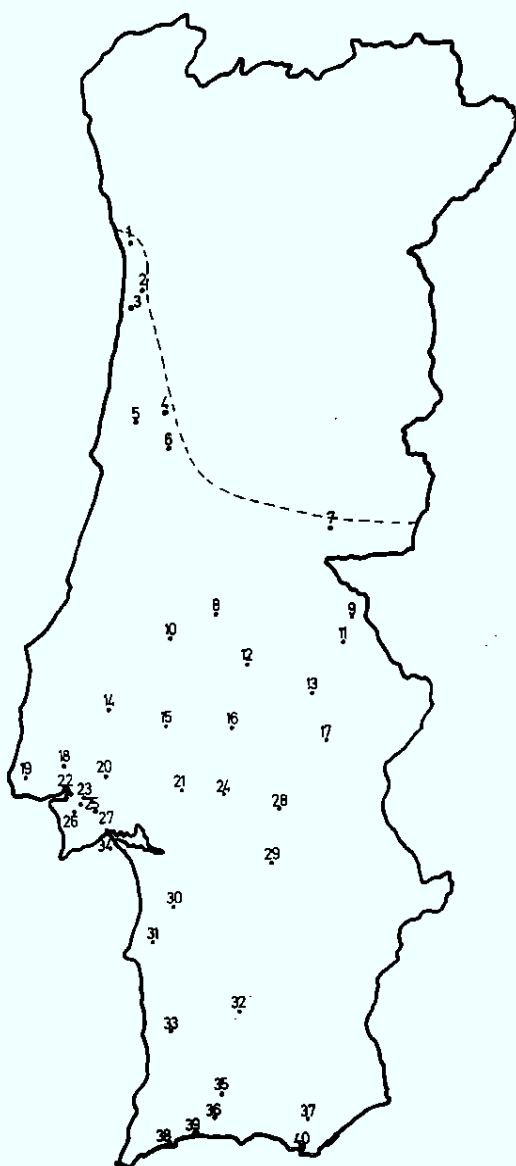
A excepção das regiões a Norte duma linha passando por Vila Nova de Gaia, Vila da Feira, Mealhada, Coimbra e Castelo Branco, estas fábricas encontram-se em todo o País, predominando nos distritos de Aveiro, Setúbal e Faro. (5).

Por outro lado, graças às suas capacidades técnicas, a indústria corticeira portuguesa consegue colocar os seus produtos em mais de 100 mercados mundiais. (4).

Em 1937, a exportação de cortiça transformada ascendeu a 17 402 toneladas, enquanto que em 1971 atingiu 71 889 toneladas, o que representa 1 379 212 mil. escudos. No mesmo período, o valor da exportação total de cortiça — bruta e transformada — subiu de 305 343 mil escudos para 1 801 443 mil escudos. (14).

Apesar do intenso ritmo do desenvolvimento tecnológico moderno, a indústria da cortiça continua a empregar grande número de indivíduos pois há um sem número de tarefas que têm que ser levadas a cabo pelos operários.

Atendendo à importância da indústria corticeira na Economia do País e da população a ela ligada, consideramos da maior importância um trabalho do tipo do que aqui apresentamos com o fim de determinar se a incidência da Suberose é tal que justifique a adopção de medidas de protecção e de Saúde Pública, não só para os operários mas para as populações que se encontram nas vizinhanças dos locais onde se trabalha a cortiça.



|                        |            |
|------------------------|------------|
| 1 - Vila Nova de Gaia  | 7 fábricas |
| 2 - Vila da Feira      | 190 "      |
| 3 - Ovar               | 1 "        |
| 4 - Mealhada           | 4 "        |
| 5 - Cantanhede         | 1 "        |
| 6 - Coimbra            | 1 "        |
| 7 - Castelo Branco     | 4 "        |
| 8 - Abrantes           | 17 "       |
| 9 - Marvão             | 1 "        |
| 10 - Chamusca          | 3 "        |
| 11 - Portalegre        | 2 "        |
| 12 - Ponte de Sor      | 9 "        |
| 13 - Fronteira         | 1 "        |
| 14 - Azambuja          | 1 "        |
| 15 - Coruche           | 1 "        |
| 16 - Mora              | 2 "        |
| 17 - Estremoz          | 9 "        |
| 18 - Lares             | 2 "        |
| 19 - Sintra            | 1 "        |
| 20 - Alcochete         | 3 "        |
| 21 - Vendas Novas      | 14 "       |
| 22 - Lisboa            | 9 "        |
| 23 - Almada            | 34 "       |
| 24 - Montemor-o-Novo   | 1 "        |
| 25 - Barreiro          | 16 "       |
| 26 - Seixal            | 10 "       |
| 27 - Moita             | 50 "       |
| 28 - Évora             | 21 "       |
| 29 - Viana do Alentejo | 1 "        |
| 30 - Grandola          | 23 "       |
| 31 - Santiago do Cacém | 38 "       |
| 32 - Ourique           | 1 "        |
| 33 - Odemira           | 7 "        |
| 34 - Setúbal           | 2 "        |
| 35 - Monchique         | 2 "        |
| 36 - Silves            | 43 "       |
| 37 - Alportel          | 49 "       |
| 38 - Lagos             | 1 "        |
| 39 - Portimão          | 1 "        |
| 40 - Faro              | 14 "       |

## MATERIAL E MÉTODOS

### I — Características da população e do trabalho

A população estudada é constituída por 697 operários da Fábrica Mundet, no Seixal, onde desempenham várias funções na manufatura da cortiça e que responderam voluntariamente às nossas solicitações.

Para melhor compreensão do trabalho vamos procurar resumir os processos de trans-

formação que a cortiça sofre nesta fábrica, para se poder ter uma breve ideia das actividades dos operários.

Ao chegar à fábrica, a cortiça virgem é empilhada e armazenada ao ar livre. Posteriormente é submetida a uma cozedura em água a ferver a fim de a tornar plana — primeira cozedura — e novamente empilhada ao ar livre onde depois é classificada em lotes. Conforme o fim a que se destinam, certos lotes são de novo cozidos em água a ferver — segunda cozedura — e, ainda quentes, armazenados

num depósito escuro, húmido e pouco arejado — primeiro fundão — onde são guardados por intervalos de tempo variáveis. Outros lotes são depositados num outro armazém maior, mais seco e arejado — segundo fundão — onde a cortiça é periodicamente regada com água fria. Quando é necessária, esta cortiça é submetida a uma cozedura pelo vapor — segunda cozedura — e imediatamente transportada para a zona de laboração.

A cortiça proveniente do primeiro fundão é utilizada no fabrico de discos e, menos frequentemente, de rolhas e papel. A do segundo fundão destina-se, sobretudo, à fabricação de rolhas.

Nas secções de fabricação de rolhas e discos, a cortiça, empilhada em carros, entra por uma das extremidades sendo aí cortada em tiras de largura e espessura variáveis consoante o fim a que se destina — rabaneação. Passa, então, para uma segunda fila de máquinas que cortam as tiras em cilindros de diferentes alturas e diâmetros — corte e fabricação.

No caso das rolhas, os cilindros são depois fixados a fim de se lhes dar a forma de tronco de cone — rebaixamento. Ainda na mesma secção, procede-se, finalmente, à classificação do produto acabado consoante as suas características — escolha —, após o que este é escoado, por um sistema de canalização, para o andar inferior onde é recolhido em sacos — ensacamento. Os sacos com discos e rolhas são, então, transportados para a secção de lavagem, esterilização e embalagem — acondicionamento.

Na secção do papel, a cortiça, depois de rabaneada em quadrados, é cortada ao micrótopo em finas lâminas que são coladas umas às outras e enroladas de modo a formar grandes rolos.

Na preparação do papel para forrar paredes estas finas lâminas são coladas separadamente num papel de suporte — colagem — e em seguida lixadas de forma a uniformizar a sua superfície e a tirar a cortiça que não ficou bem aderente — lixa.

Na secção de especialidades a cortiça virgem, e sem ter sofrido qualquer cozedura, é cortada e colada, de forma artística, sobre quadrados de cortiça já preparada a fim de ficar com o aspecto de «azulejos».

As rolhas destinadas às garrafas de champagne, as bóias de pesca e outros produtos de textura semelhante são obtidos a partir de granulado de cortiça, proveniente de outra fá-

brica, que é tornado homogéneo e consistente pela adição de uma resina. Este produto é depois trabalhado em máquinas lixadoras de forma a tomar o aspecto do produto final — boleação.

De acordo com as tarefas expostas acima, classificámos os postos de trabalho como seg: *Grupo I — Ar livre* — Operários trabalhando ao ar livre e na cozedura com água fervente; *Grupo II — Fundões* — os que trabalham nos armazéns atrás descritos; *Grupo III — Corte e fabricação* — secções de discos, rolhas, papel e «azulejos», excluindo os seguintes; *Grupo IV — Acabamentos* — rebaiadores, boleadores, lixa e colagem de papel; *Grupo V — Escolha e acondicionamento* — escolha dos produtos acabados, separação dos detritos, lavagem, esterilização e embalagem; *Grupo VI — Outros* — todos os postos em que não se trabalha directamente com a cortiça — maquinistas, afinadores, serralheiros, electricistas, etc.

## II — Planeamento de Trabalho

1 — Preparámos um *questionário* tipo que compreendia os seguintes elementos: nome, idade, sexo, morada, tipo de tarefa desempenhada e posto de trabalho; tempo de contacto com a cortiça em anos e se a cortiça era bolorenta ou não; presença de queixas do aparelho respiratório e sua duração — tosse, expectoração, pieira, dispneia ou ortopneia, acesuais ou não, afectadas ou não pelo afastamento do trabalho, febre, emagrecimento, dores musculares e astenia; hábitos tabágicos e alcoólicos; queixas de sinusite, rínorreias, crises esternutatórias e sua duração; antecedentes familiares de atopia; faltas ao trabalho nos últimos dois anos por doença respiratória. Os operários foram também interrogados sobre os seus antecedentes pessoais e outros tipos de actividade que tivessem desempenhado na fábrica ou fora dela.

2 — Procedemos à *observação* dos operários da seguinte forma: foi organizada uma «linha de montagem», em que se começava pelo Inquérito, seguindo-se-lhe a pesagem, contagem do pulso, medição da tensão arterial na posição sentada e auscultação pulmonar e cardíaca. A medição do pulso e tensão arterial foi feita mais pelo seu efeito psicológico, pois contribuiu consideravelmente para o bom contacto que o grupo conseguiu com a população estudada.

3 — *Estudo sumário da função respiratória* — Determinou-se o débito expiratório máximo na posição de pé, por meio do «Wright peak-flow meter». A capacidade Vital e o V. E. M. S. foram calculados a partir do espirograma obtido com o «Vitalograph», estando o doente sentado. A fim de procurar obter os melhores resultados planeou-se efectuar cinco determinações de cada parâmetro, depois do doente ter sido devidamente indutido, escolhendo-se sempre o valor melhor.

4 — *Colheita de sangue* — Com o fim de coleccionar soros humanos de indivíduos expostos à poeira da cortiça, para estudos imunológicos, retirámos 10 cc de sangue duma veia do sangradouro a todos os operários que o permitiram.

5 — *Estudos imunológicos* — Numa primeira fase, collocámos frente a frente, por imundifusão em gelose, o soro dos operários e antígenos preparados a partir de culturas de *Penicillium frequentans* a fim de pesquisar anticorpos precipitantes e de estudar a relação da sua presença com os diversos parâmetros investigados.

6 — *Colheita de amostras de ar atmosférico* — Fizeram-se colheitas de amostras de ar das várias secções e postos de trabalho da fábrica a fim de determinar as concentrações de esporos fúngicos e de partículas de cortiça nestes ambientes de trabalho.

7 — *Exames radiológicos* — Com a amável colaboração do I. A. N. T. (\*) obtivemos microradiografias de 100 mm de todos os operários da fábrica. A técnica radiológica foi cuidadosamente adaptada à natureza do estudo e obtiveram-se esplêndidas imagens, em qualidade e reproductibilidade idênticas para todos os operários. Organizámos um sistema de leitura seguindo a classificação Internacional das Pneumoconioses UICC/Cincinnati, 1968 (20). Para termo de comparação, de 10 em 10 microradiografias foi feita uma telerradiografia em incidência postero-anterior

### III — Trabalho de Campo

Tendo em vista uma uniformização de critérios e uma maior rentabilidade na colheita dos dados, foram efectuadas várias reuniões prévias para discutir e assentar no esquema a seguir e indutir os participantes na melhor forma de colher os dados. O esquema consis-

tiu em dividir os elementos do grupo de trabalho em pequenos grupos, a cada um dos quais se atribuía uma tarefa específica:

1 — O grupo encarregado de preencher o *questionário* lia as perguntas aos operários, procurando certificar-se se tinham compreendido bem o seu sentido e se estavam a responder conscientemente. As respostas eram convenientemente anotadas no respectivo impresso.

2 — Os elementos destacados para a *observação* dos indivíduos em estudo mediam-lhes a tensão arterial e a frequência do pulso, na posição sentada, após o que procediam à auscultação cardio-pulmonar.

3 — Um terceiro grupo procedia à pesagem dos operários descalços e com o seu fato de trabalho e à medida da sua altura, parâmetros necessários para o conhecimento dos valores teóricos da sua função respiratória. Num compartimento onde as condições de pressão atmosférica e de temperatura não sofriam variações significativas, mantendo-se respectivamente em 750-760 mm de mercúrio e 25° C., instalaram-se três espirometros «Vitalograph» com os quais se obtiveram espirogramas dos operários, depois de cuidadosamente ensinados e mentalizados. Também nesta operação, se procedeu à medição do débito expiratório máximo utilizando o «Wright peak-flow meter». Como estava planeado, cada indivíduo repetiu cinco vezes cada prova, escolhendo-se a melhor.

4 — A última operação da «linha de montagem» foi a *colheita de sangue*, feita por dois elementos do grupo de trabalho empregando material não recuperável. Extraíam-se 10 ml de sangue a cada operário e, no fim do dia de trabalho, este era centrifugado e o soro, a que se juntava umas gotas de azida de sódio, era armazenado em frasco a -20° C, até à sua utilização.

5 — *Colheita de amostras de ar atmosférico* — Procedeu-se a esta fase do trabalho utilizando um «cascade impactor» (11), a fim de determinar a concentração e dimensões dos esporos fúngicos e das partículas de cortiça na atmosfera dos diferentes postos de traba-

(\*) Não queremos deixar de manifestar a nossa gratidão ao Director do I. A. N. T., Dr. Eduardo Vilarinho e ao Dr. José Pinto da Silva e sua equipa, pela proficiência técnica e óptima colaboração que nos deram na obtenção das microradiografias que se utilizaram neste estudo.

lho da fábrica. Para se poder proceder à contagem de colónias de fungos e conseguir o seu isolamento utilizou-se um colector de Andersen modificado (12).

6—*Exame radiológico da população em estudo* — Tendo-se deslocado à fábrica um camião-laboratório do I. A. N. T. foram feitas microradiografias de 100 mm aos operários depois de concluídas as outras fases de trabalho de campo. Os exames foram feitos com os indivíduos despidos da cintura para cima e tanto as microradiografias como as teloradiografias eram reveladas «in loco». Posteriormente foram lidas por três observadores distintos, às cegas, sendo anotados os resultados na ficha de cada operário.

#### IV — Trabalho de Laboratório

1 — *Estudo das poeiras colhidas do ar atmosférico* (10) — As lâminas do «cascade impactor» foram examinadas ao microscópio e os esporos classificados.

Algumas lâminas foram coradas pelo vermelho de cochonilha (16) para se identificarem e contarem as partículas de cortiça.

Procedeu-se, também, à cultura dos fungos segundo as técnicas descritas por Lacey (10).

2 — *Estudos imunológicos* — A preparação dos antígenos a partir de culturas de *Penicillium frequentans*, assim como as técnicas utilizadas nos estudos imuno-químicos foram as previamente descritas por Pimentel e Ávila (17), de imunodifusão em gelose.

#### RESULTADOS

A população estudada era constituída por 697 operários, sendo 42% do sexo masculino e 58% do feminino, e abrangeu 85% dos indivíduos em actividade na fábrica na altura em que se fez o trabalho do campo — 16 de Março a 13 de Maio de 1972. Desta população, 4% tinham menos de 20 anos de idade, 30% tinham de 20 a 45 anos e 66% tinham mais que 45 anos.

Dos trabalhadores estudados, 24% eram fumadores, sendo 10% fumadores ligeiros — menos que 10 cigarros por dia — 12% fumadores moderados — 10 a 20 cigarros por dia — e apenas 2% grandes fumadores — mais que 20 cigarros por dia. Nenhuma das mulheres fumava e a incidência de fumadores entre os homens foi de 58%.

A incidência de queixas e ou sinais respiratórios obedecia, nos 697 trabalhadores estudados (168 dos quais eram fumadores) aos seguintes valores:

No grupo dos fumadores:

— Com queixas e sinais — 38% (63)  
— Sem queixas e com sinais — 12% (20)  
— Com queixas e sem sinais — 24% (40)

No grupo dos não fumadores:

— Com queixas e sinais — 10% (53)  
— Sem queixas e com sinais — 10% (55)  
— Com queixas e sem sinais — 23% (122)

As doenças observadas entre a população estudada, associadas ou não a queixas ou sinais do foro respiratório, distribuíram-se do seguinte modo:

|                                    |                   |
|------------------------------------|-------------------|
| Tuberculose pulmonar               | — 42 casos — 6%   |
| Tuberculose em outras localizações | — 7 casos — 3%    |
| Tuberculose pleural                | — 21 casos — 3%   |
| Patologia gástrica                 | — 35 casos — 5%   |
| Artralgias                         | — 21 casos — 3%   |
| Pneumonias de repetição            | — 14 casos — 2%   |
| Sinusite                           | — 126 casos — 18% |
| Atopia (queixas diversas)          | — 223 casos — 32% |
| Cancro do pulmão                   | — 1 caso suspeito |

É de notar que apenas alguns casos de sinusite, artralgias ou patologia gástrica existiam no momento de observação. As restantes foram apenas referidas na história pequena aquando do inquérito.

Após dois dias de trabalho de campo verificámos que os resultados obtidos com o «Wright peak-flow meter» não eram satisfatórios por causa do grande número de trabalhadores estudados por dia. Ao fim de algumas determinações depositava-se grande quantidade de saliva no interior do aparelho que deixava de funcionar correctamente. Por outro lado, notava-se má colaboração da parte dos trabalhadores que nunca atingiam os valores que seria de esperar.

Em relação às 568 provas realizadas com o «Vitalograph» verificámos que 42% dos 159 fumadores apresentavam alterações da ventilação mas que também 32% dos 409 não fumadores as apresentavam.

A diferença entre os dois grupos fazia-se à custa dos síndromas ventilatórios de tipo obstructivo ou misto segundo as seguintes percentagens:

No grupo dos fumadores:

|                                                 |          |
|-------------------------------------------------|----------|
| — Com função ventilatória normal                | 58% (92) |
| — Com síndrome ventilatório do tipo restrictivo | 24% (38) |
| — Com síndrome ventilatório do tipo obstrutivo  | 8% (12)  |
| — Com síndrome ventilatório do tipo mixto       | 10% (17) |

No grupo dos não fumadores:

|                                                 |           |
|-------------------------------------------------|-----------|
| — Com função ventilatória normal                | 68% (279) |
| — Com síndrome ventilatório do tipo restrictivo | 23% (93)  |
| — Com síndrome ventilatório do tipo obstrutivo  | 5% (21)   |
| — Com síndrome ventilatório do tipo mixto       | 4% (16)   |

É de notar que só 568 operários colaboraram suficientemente na execução das provas funcionais para que estas se podessem utilizar neste estudo.

Fizeram-se micro-radiografias a 630 dos 697 trabalhadores e 65 teleradiografias.

Dos 67 indivíduos que não foram radiografados 50 não se encontravam ao serviço no dia em que foram convocados e 17 recusaram-nos a sua colaboração.

Apenas em 19% dos fumadores o exame radiológico foi considerado normal ao passo que o foi em 34% dos não fumadores. As alterações radiológicas do tipo retículo-nodular predominaram francamente em ambos os grupos — 61% e 55% respectivamente.

Os aspectos radiográficos encontrados nos 630 trabalhadores estudados classificaram-se do seguinte modo:

|                                                           |                   |
|-----------------------------------------------------------|-------------------|
| Fumadores com radiografia normal (0)                      | — 19% — 30 casos  |
| Fumadores com acentuação do retículo (Z)                  | — 13% — 20 casos  |
| Fumadores com aspectos miliares (m)                       | — 6% — 10 casos   |
| Fumadores com aspectos retículo-nodulares [L(p.m.n.)]     | — 61% — 96 casos  |
| Fumadores com infiltrados (A)                             | — 1% — 1 caso     |
| Não fumadores com radiografia normal (0)                  | — 34% — 160 casos |
| Não fumadores com acentuação do retículo (Z)              | — 7% — 32 casos   |
| Não fumadores com aspectos miliares (m)                   | — 2,5% — 12 casos |
| Não fumadores com aspectos retículo-nodulares [L(p.m.n.)] | — 55% — 261 casos |
| Não fumadores com infiltrados (A)                         | — 1,5% — 8 casos  |

Verificámos que os aspectos em teleradiografia eram perfeitamente sobreponíveis aos das microradiografias de alta qualidade que se fizeram nesta campanha, não se perdendo significativamente pormenor com a redução da imagem.

Foram estudados, por dupla difusão em gelose, os soros de 112 operários frente a um antígeno obtido a partir de culturas de *Penicillium frequentans*. Todos eram indivíduos do

sexo masculino por terem sido os primeiros soros colhidos.

Encontraram-se precipitinas circulantes em 32% dos operários estudados.

Os resultados dos estudos das concentrações de esporos e partículas de cortiça nas diversas secções da fábrica, estão em vias de publicação por Lacey (10). No quadro I procuramos resumir os principais resultados.

QUADRO I

Concentração média de esporos fúngicos e de partículas de cortiça em diferentes locais da fábrica

| Postos de trabalho              | Local de colheita  | % de operários | Esporos $\times 10^6 \text{m}^3/\text{AR}$<br>(Cascade Impactor) | Cortiça $\times 10^6 \text{m}^3/\text{AR}$<br>(Cascade Impactor) | Colônias de penicillium<br>frequentans $\times 10^6 \text{m}^3/\text{AR}$<br>(Andersen Sampler) |
|---------------------------------|--------------------|----------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ar livre                        | Ambiente exterior  | 9%             | 0,05                                                             | 0,002                                                            | 2                                                                                               |
|                                 | Cozedura           | 2%             | 0,05                                                             | 0,02                                                             | 2                                                                                               |
| Fundões                         | Fundão 1           | 0,5%           | 26,35                                                            | 0,03                                                             | 2399                                                                                            |
|                                 | Fundão 2           | 0,2%           | 1,42                                                             | 0,01                                                             | 84                                                                                              |
| Corte e fabricação              | Discos             | 8%             | 9,73                                                             | 0,26                                                             | 5587                                                                                            |
|                                 | Rolhas             | 12%            | 2,50                                                             | 0,74                                                             | 219                                                                                             |
|                                 | Papel              | 12%            | 1,74                                                             | 1,36                                                             | 35                                                                                              |
|                                 | «Azulejos»         | 2%             | 3,83                                                             | 1,02                                                             | 795                                                                                             |
|                                 | Lixa               | 2%             | 0,32                                                             | 1,08                                                             | —                                                                                               |
| Acabamentos                     | Champagne          | 8%             | 3,23                                                             | 1,33                                                             | 592                                                                                             |
|                                 | Boleação           | 1%             | 1,05                                                             | 1,74                                                             | 251                                                                                             |
|                                 | Colagem            | 15%            | 0,15                                                             | 0,57                                                             | —                                                                                               |
|                                 | De Rolhas          | 21%            | 1,12                                                             | 0,33                                                             | 123                                                                                             |
| Escolha e acondicio-<br>namento | Detritos de rolhas | 0,5%           | 1,31                                                             | 1,13                                                             | 135                                                                                             |
|                                 | Detritos de discos | 0,2%           | 2,05                                                             | 0,92                                                             | —                                                                                               |
|                                 | Lavagem            | 6%             | 0,43                                                             | 5,74                                                             | —                                                                                               |
|                                 | Embalagem          | 0,5%           | 2,30                                                             | 0,90                                                             | —                                                                                               |

Para procurar interpretar os resultados obtidos vamos tentar relacionar diversos parâmetros entre si.

Como se pode apreciar no quadro II a incidência de queixas e/ou sinais do aparelho respiratório é relativamente homo-

**QUADRO II**  
**Incidência de queixas e/ou sinais do foro respiratório nos diversos grupos etários**  
**(697 operários)**

| Grupos etários         |                | Com queixas e/ou sinais | Sem queixas nem sinais |
|------------------------|----------------|-------------------------|------------------------|
| Fumadores<br>(168)     | 0-35<br>(5)    | 40%<br>(2)              | 60%<br>(3)             |
|                        | 36-40<br>(8)   | 75%<br>(6)              | 25%<br>(2)             |
|                        | 41-45<br>(13)  | 76%<br>(10)             | 24%<br>(3)             |
|                        | 46-50<br>(40)  | 78%<br>(31)             | 22%<br>(9)             |
|                        | 51-55<br>(29)  | 69%<br>(20)             | 31%<br>(9)             |
|                        | 56-60<br>(38)  | 66%<br>(25)             | 44%<br>(13)            |
|                        | +60<br>(35)    | 82%<br>(29)             | 18%<br>(6)             |
| Não fumadores<br>(529) | 0-35<br>(115)  | 17%<br>(20)             | 83%<br>(95)            |
|                        | 36-40<br>(41)  | 46%<br>(19)             | 54%<br>(22)            |
|                        | 41-45<br>(57)  | 46%<br>(26)             | 54%<br>(31)            |
|                        | 46-50<br>(105) | 51%<br>(54)             | 49%<br>(51)            |
|                        | 51-55<br>(91)  | 52%<br>(47)             | 48%<br>(44)            |
|                        | 56-60<br>(77)  | 57%<br>(44)             | 43%<br>(33)            |
|                        | +60<br>(43)    | 47%<br>(20)             | 53%<br>(23)            |

génea nos grupos etários acima dos 35 anos, tanto nos fumadores como nos não fumadores.

Ao analisarmos a incidência das alterações do aparelho respiratório nos diferentes postos de trabalho verificámos que:

No grupo dos fumadores:

|                                                                  |            |
|------------------------------------------------------------------|------------|
| Ao ar livre (39), tinham queixas e/ou sinais                     | — 82% (32) |
| No corte e fabricação (61), tinham queixas e/ou sinais           | — 62% (38) |
| Nos acabamentos (18), tinham queixas e/ou sinais                 | — 86% (15) |
| Nos acondicionamentos e escolha (28), tinham queixas e/ou sinais | — 72% (20) |
| Em outros locais (22), tinham queixas e/ou sinais                | — 60% (13) |

E no grupo dos não fumadores (529):

|                                                                 |             |
|-----------------------------------------------------------------|-------------|
| Ao ar livre (28), tinham queixas e/ou sinais                    | — 50% (14)  |
| No corte e fabricação (79), tinham queixas e/ou sinais          | — 51% (40)  |
| Nos acabamentos (97), tinham queixas e/ou sinais                | — 46% (45)  |
| No acondicionamento e escolha (292), tinham queixas e/ou sinais | — 36% (105) |
| Em outros locais (35), tinham queixas e/ou sinais               | — 30% (10)  |



Como já referimos, há uma maior incidência das queixas respiratórias entre os fumadores. De ente os não fumadores predominam as queixas e/ou sinais do aparelho respiratório entre os trabalhadores que trabalham ao «ar livre», e no «corte e fabricação» e nos «acabamentos».

Na apreciação dos resultados não considerámos os três operários que trabalhavam nos fundões por não os considerarmos significativos.

Assim, no grupo de fumadores (168):

|                                                                 |       |       |
|-----------------------------------------------------------------|-------|-------|
| Com exposição inferior a 5 anos (5), tem queixas e/ou sinais    | — 20% | (1)   |
| Com exposição de 6 a 10 anos (8), tem queixas e/ou sinais       | — 75% | (6)   |
| Com exposição de 11 a 30 anos (14), tem queixas e/ou sinais     | — 65% | (9)   |
| Com exposição superior a 30 anos (141), tem queixas e/ou sinais | — 74% | (104) |

No grupo dos não fumadores (529):

|                                                                 |       |       |
|-----------------------------------------------------------------|-------|-------|
| Com exposição inferior a 5 anos (68), tem queixas e/ou sinais   | — 21% | (14)  |
| Com exposição de 6 a 10 anos (44), tem queixas e/ou sinais      | — 30% | (13)  |
| Com exposição de 11 a 30 anos (114), tem queixas e/ou sinais    | — 39% | (45)  |
| Com exposição superior a 30 anos (303), tem queixas e/ou sinais | — 64% | (140) |

fumadores. No dos não fumadores a incidência de alterações funcionais estava igualmente distribuída pelos doentes com e sem queixas respiratórias.

No grupo de fumadores (159):

|                                         |       |
|-----------------------------------------|-------|
| — Com queixas e/ou sinais (118) tinham: |       |
| — função normal                         | — 48% |
| — síndrome restrictivo                  | — 27% |
| — síndrome obstrutivo                   | — 10% |
| — síndrome misto                        | — 15% |
| — Sem queixas e sem sinais (41) tinham: |       |
| — função normal                         | — 85% |
| — síndrome restrictivo                  | — 15% |

No grupo de não fumadores (409):

|                                          |       |
|------------------------------------------|-------|
| — Com queixas e/ou sinais (186) tinham:  |       |
| — função normal                          | — 63% |
| — síndrome restrictivo                   | — 24% |
| — síndrome obstrutivo                    | — 5%  |
| — síndrome misto                         | — 8%  |
| — Sem queixas e sem sinais (223) tinham: |       |
| — função normal                          | — 73% |
| — síndrome restrictivo                   | — 21% |
| — síndrome obstrutivo                    | — 5%  |
| — síndrome misto                         | — 1%  |

Não se verificou haver uma maior incidência de alterações radiológicas nos trabalhadores com queixas e/ou sinais, tanto no grupo

A relação das queixas respiratórias com os anos de exposição à poeira de cortiça mostrou que há uma subida *paralela e progressiva* das queixas e/ou sinais do aparelho respiratório com o aumento do tempo de contacto com o ambiente fabril nos não fumadores (enquanto nos fumadores esta subida se verifica mais cedo).

Notámos que a maioria dos indivíduos com alterações funcionais tinham queixas e/ou sinais de patologia respiratória no grupo dos

dos fumadores como no dos não fumadores.

No grupo de fumadores com queixas e/ou sinais (108), consideraram-se:

20% radiografias normais; 14% com accentuação de retículo; 8% com aspecto miliar; 57% com retículo-nodular; 1% de infiltrados.

No grupo de fumadores sem queixas e sem sinais (49), consideraram-se:

16% radiografias normais; 11% com accentuação do retículo; 4% com aspecto miliar e 69% com retículo-nodular.

No grupo de não fumadores com queixas e/ou sinais (191), consideraram-se:

34% das radiografias normais; 6% com accentuação do retículo; 3% com aspecto miliar; 55% com retículo-nodular e 2% infiltrados.

No grupo de não fumadores sem queixas e sem sinais (282), consideraram-se:

34% das radiografias normais; 8% com accentuação do retículo; 2% com aspecto miliar; 55% com retículo-nodular e 1% de infiltrados.

Procurámos mostrar a correlação entre a existência de precipitinas circulantes contra os antiqéneos de *Penicillium frequentans* e queixas e/ou sinais de patologia respiratória. Não existe, porém, qualquer relação entre os dois parâmetros. Assim, depois de estudados 112 trabalhadores anotou-se:

Em 52 fumadores com queixas e/ou sinais havia 23% com precipitinas (52). Em 15 fuma-

dores sem queixas e/sem sinais havia 40% com precipitinas (6); Em 23 não fumadores sem queixas e/ou sinais havia 40% com precipitinas (9); Em 22 não fumadores sem sinais e sem queixas havia 41% com precipitinas (9).

Do ponto de vista espirométrico, tanto nos fumadores como nos não fumadores, notou-se um aumento significativo das alterações à medida que a população estudada aumenta na idade. Estas alterações são fundamentalmente do tipo do síndrome ventilatório restrictivo (Quadro III).

Em relação às alterações ventilatórias dos operários trabalhando nos diferentes postos da fábrica, encontramos uma distribuição homogénea pelos diferentes postos, excepto naqueles que designamos «outros» onde há um número significativamente menor de alterações, entre os não fumadores (84%).

Da análise das alterações ventilatórias relacionadas com o tempo de exposição ao ambiente fabril verificámos existir um aumento progressivo das anomalias, particularmente à custa dos síndromas de tipo restrictivo, quer nos fumadores quer nos não fumadores.

### QUADRO III

#### Incidência de alterações ventilatórias nos diversos grupos etários (562 operários)

|                        | Grupos etários | Função normal | Síndrome restrictivo | Síndrome obstrutivo | Síndrome misto |
|------------------------|----------------|---------------|----------------------|---------------------|----------------|
| Fumadores<br>(159)     | 0-35<br>(5)    | 100%<br>(5)   | 0%<br>(0)            | 0%<br>(0)           | 0%<br>(0)      |
|                        | 36-40<br>(7)   | 43%<br>(3)    | 43%<br>(3)           | 0%<br>(0)           | 14%<br>(1)     |
|                        | 41-45<br>(10)  | 60%<br>(6)    | 10%<br>(1)           | 20%<br>(2)          | 10%<br>(1)     |
|                        | 46-50<br>(37)  | 65%<br>(24)   | 22%<br>(8)           | 3%<br>(1)           | 10%<br>(4)     |
|                        | 51-55<br>(30)  | 60%<br>(18)   | 17%<br>(5)           | 20%<br>(6)          | 3%<br>(1)      |
|                        | 56-60<br>(35)  | 54%<br>(19)   | 31%<br>(11)          | 3%<br>(1)           | 12%<br>(4)     |
|                        | + 60<br>(35)   | 49%<br>(17)   | 29%<br>(10)          | 6%<br>(2)           | 16%<br>(6)     |
|                        |                |               |                      |                     |                |
| Não fumadores<br>(409) | 0-35<br>(83)   | 92%<br>(76)   | 6%<br>(5)            | 2%<br>(2)           | 0%<br>(0)      |
|                        | 36-40<br>(35)  | 80%<br>(28)   | 8%<br>(3)            | 6%<br>(2)           | 6%<br>(2)      |
|                        | 41-45<br>(46)  | 67%<br>(31)   | 22%<br>(10)          | 7%<br>(3)           | 4%<br>(2)      |
|                        | 46-50<br>(89)  | 65%<br>(58)   | 24%<br>(21)          | 5,5%<br>(5)         | 5,5%<br>(5)    |
|                        | 51-55<br>(65)  | 57%<br>(37)   | 34%<br>(22)          | 2%<br>(1)           | 71%<br>(5)     |
|                        | 56-60<br>(65)  | 48%<br>(29)   | 39%<br>(24)          | 10%<br>(6)          | 3%<br>(2)      |
|                        | + 60<br>(30)   | 66%<br>(20)   | 27%<br>(8)           | 7%<br>(2)           | 6%<br>(0)      |
|                        |                |               |                      |                     |                |

No Quadro IV comparam-se as alterações espirométricas com os aspectos radiológicos.

No que diz respeito à relação entre as alterações ventilatórias e a existência de precipitinas em circulação contra o *Penicillium frequentans* encontrámos uma maior incidência de soros positivos entre os operários com a função alterada, quer fossem fumadores ou não.

Os aspectos radiográficos anormais predominaram nos grupos etário acima dos 35 anos, tanto nos fumadores como nos não fumadores. Em todos os grupos etários as alterações mais frequentes foram as do tipo retículo-nodular.

Assim, no grupo dos fumadores (157) havia:

- Para indivíduos com menos de 35 anos 43% de radiografias normais;

- Para idades entre 36 e 60 anos 15% de radiografias normais.

- Para idade superior a 60 anos 15% de radiografias normais.

No grupo dos não fumadores (473) havia:

- Em operários de idade inferior a 35 anos 48% de radiografias normais;
- Para idades entre 36 e 60 anos 32% de radiografias normais;
- Para idades superiores a 60 anos 37% de radiografias normais.

Verificou-se que a maior incidência de alterações radiológicas se encontra entre os operários trabalhando no «corte e fabricação», tanto fumadores como não fumadores.

#### QUADRO IV

Relação entre as alterações espirométricas e radiológicas em 521 operários

| Radiologia             |                                          | Função normal | Síndrome restritivo | Síndrome obstrutivo | Síndrome misto |
|------------------------|------------------------------------------|---------------|---------------------|---------------------|----------------|
| Fumadores<br>(145)     | Radiografia normal<br>(0)<br>(28)        | 64%<br>(18)   | 18%<br>(5)          | 11%<br>(3)          | 7%<br>(2)      |
|                        | Acentuação do retículo<br>(Z)<br>(20)    | 50%<br>(10)   | 35%<br>(7)          | 10%<br>(2)          | 5%<br>(1)      |
|                        | Aspecto miliar<br>(m)<br>(10)            | 50%<br>(5)    | 20%<br>(2)          | 10%<br>(1)          | 20%<br>(2)     |
|                        | Retículo-nodular<br>[L(p.m.n.)]<br>(86)  | 59%<br>(51)   | 24%<br>(21)         | 6%<br>(5)           | 11%<br>(9)     |
|                        | Infiltrados<br>(A)<br>(1)                |               | (1)                 |                     |                |
| Não fumadores<br>(376) | Radiografia normal<br>(0)<br>(134)       | 73%<br>(98)   | 17%<br>(23)         | 7%<br>(9)           | 3%<br>(4)      |
|                        | Acentuação do retículo<br>(Z)<br>(22)    | 77%<br>(17)   | 14%<br>(3)          | 4,5%<br>(1)         | 4,5%<br>(1)    |
|                        | Aspecto miliar<br>(m)<br>(13)            | 85%<br>(11)   | 15%<br>(2)          | 0%<br>(0)           | 0%<br>(0)      |
|                        | Retículo-nodular<br>[L(p.m.n.)]<br>(204) | 66%<br>(134)  | 25%<br>(51)         | 4%<br>(8)           | 5%<br>(11)     |
|                        | Infiltrados<br>(A)<br>(3)                | (2)           | (1)                 |                     |                |

A partir dos 11 anos de contacto com o ambiente fabril o número de indivíduos com alterações radiológicas encontrados é muito homogéneo, tanto nos fumadores como nos não fumadores, e francamente superior ao verificado nos operários com menos de 10 anos de exposição.

No grupo de fumadores (157):

- Com menos de 10 anos de serviço (12) houve 42% de radiografias normais;
- Com mais de 10 anos de serviço (135) houve 17% de radiografias normais.

No grupo de não fumadores (473):

- Com menos de 10 anos de serviço (80) houve 53% de radiografias normais;
- Com mais de 10 anos de serviço (393) houve 30% de radiografias normais.

Ao correlacionarmos a incidência de precipitinas circulantes para o *Penicillium frequentans* com os aspectos radiológicos encontrados nos 107 operários estudados, verificámos que entre os fumadores o número de indivíduos com alterações radiológicas e precipitinas circulantes é sensivelmente idêntico ao dos que não apresentavam alterações radiológicas que tinham precipitinas (27% e 21% respectivamente).

Em contrapartida, entre os não fumadores, 83% dos que tinham precipitinas tinham também alterações radiológicas.

Nos trabalhadores com precipitinas para o *Penicillium frequentans* encontrou-se um maior número de queixas de atopia em relação àqueles que não apresentavam anticorpos circulantes.

De 38 trabalhadores com queixas de atopia 60% tinham precipitinas circulantes (23).

De 80 trabalhadores sem queixas de atopia 60% não tinham precipitinas circulantes (48).

Foi entre os indivíduos trabalhando no «corte e fabricação» que encontramos maior incidência de precipitinas contra o *Penicillium frequentans* (Quadro V).

Dos 112 operários estudados sob o ponto de vista imunológico, apenas 4 tinham menos de 30 anos de contacto com o ambiente fabril.

Destes apenas um apresentava precipitinas circulantes contra o *Penicillium frequentans*.

## QUADRO V

Incidência de precipitinas nos operários das diversas secções de fábrica (112 operários)

| Postos de Trabalho                 | Com Precipitinas | Sem Precipitinas |
|------------------------------------|------------------|------------------|
| Ar Livre<br>(26)                   | 19%<br>(5)       | 81%<br>(21)      |
| Corte e Fabricação<br>(47)         | 45%<br>(21)      | 55%<br>(26)      |
| Acabamentos<br>(17)                | 32%<br>(5)       | 68%<br>(12)      |
| Escolha e Acondicionamento<br>(14) | 25%<br>(3)       | 75%<br>(11)      |
| Outros<br>(8)                      | 12,5%<br>(1)     | 87,5%<br>(7)     |

## DISCUSSÃO

Durante este trabalho de campo verificou-se que os operários responderam à solicitação que lhes foi feita e que houve boa colaboração da parte de 85% da população operária activa. Este resultado pareceu-nos bastante bom dado o nível sócio-económico e cultural da população. Tal facto deve-se à circunstância dos operários terem a noção de que a exposição à poeira de cortiça, particularmente quando bolorenta, lhes provoca doenças do foro respiratório. Por outro lado, antes de iniciarmos o trabalho de campo procuramos informar os trabalhadores, por meio de folhetos, sobre a razão de ser do nosso estudo e o que se pretendia fazer.

Como a fábrica onde foi efectuado o rastreio dispõe dum departamento de Medicina Industrial (\*), não constituiu grande inovação para o pessoal o aparecimento dum grupo médico e efectuar um trabalho deste tipo.

O facto de a maioria dos operários da fábrica, de ambos os sexos, pertencerem aos grupos etários mais idosos parece ser devido à circunstância de haver uma fuga dos operários mais jovens para empregos menos duros e mais bem remunerados. Notou-se, também, que havia um maior número de mulheres que de homens nas diversas secções, o que se

(\*) Estamos muito gratos ao Dr. Miguel Horta e Costa, Médico-Chefe da Fábrica, pela esplêndida colaboração que nos proporcionou.

poderá justificar pela existência na fábrica duma série de tarefas que se coadunam bem com as aptidões femininas.

A incidência relativamente baixa de fumadores entre a população fabril pode ser devida ao facto de a maioria dos actuais operários ter iniciado a sua actividade na fábrica quando muito jovens, antes de terem adquirido hábitos tabágicos e, também, ao facto de lhes ser interdito, por razões de segurança, fumar dentro das oficinas. Por estas razões, muitos não chegaram a adquirir o hábito e, daqueles que o fazem, a grande maioria são fumadores moderados.

Ao iniciar o trabalho, e atendendo ao facto de se tratar dum estudo de patologia respiratória, pensámos eliminar os fumadores na medida em que o fumo, de per si, pode causar alterações das vias respiratórias.

Assim, na discussão dos resultados obtidos consideramos apenas os não fumadores.

Este critério é criticável pois nos fumadores as alterações das vias aéreas que seriam de esperar deveriam facilitar a acção nociva das poeiras inaladas, por falência dos mecanismos normais de depuração do aparelho respiratório. Não sendo possível eliminar as alterações produzidas pelo fumo, pareceu-nos lógico trabalhar o grupo dos não fumadores, ainda que na apresentação dos resultados tenhamos apontado as alterações observadas nos fumadores e não fumadores.

Dos 529 operários não fumadores, 43% apresentavam queixas ou sinais de patologia respiratória, o que nos parece ser uma percentagem elevada, apenas justificável pela poluição do ambiente de trabalho. A favor desta ideia temos a baixa percentagem de lesões residuais de tuberculose — 9% — e a reduzida incidência de infecções das vias respiratórias. Apenas se encontrou um único caso suspeito de se tratar dum cancro do pulmão.

Em relação a outras queixas, que não do foro respiratório, apenas encontramos percentagens superiores às que seriam de esperar de sinusite e de queixas de atopia. Muito embora não tenha sido possível conhecer as causas das sinusites pensamos que, na maioria dos casos, sejam de origem atópica.

Como já foi discutido em trabalho anterior (3), temos observado indivíduos, sem antecedentes pessoais ou familiares de atopia, que após exposição prolongada a poeira de cor-

tiça bolorenta desenvolvem quadros do tipo atópico. A apoiar esta hipótese, a análise dos questionários mostra que não havia sinais de atopia desde a infância, nem nos antecedentes familiares, em muitos operários que os referiam no momento da observação.

Contrariamente ao que está referido na literatura (6,7), somos da opinião que o emprego do «Wright peak flow-meter» não tem qualquer indicação em trabalhos de campo desta natureza, pelas razões apontadas quando da apresentação dos resultados.

Por outro lado, o «Vitalograph» não nos criou quaisquer problemas de ordem técnica mostrando-se um sistema rápido, eficiente e capaz de nos fornecer dados válidos sobre a função ventilatória duma população, neste tipo de trabalho. Apesar de tudo, o emprego desta técnica requer compreensão e colaboração da parte dos indivíduos a estudar, o que justifica que, de entre os 697 operários só tenha sido possível valorizar 568 espirogramas, não obstante o tempo dispendido na preparação e mentalização de cada doente.

Na população estudada encontrou-se uma alta incidência de defeitos ventilatórios de tipo restritivo, o que afasta como causa importante de sintomatologia respiratória a bronquite crónica. As alterações funcionais predominantes parecem antes ser devidas a alterações essencialmente a nível do interstício pulmonar. A incidência dos defeitos ventilatórios de tipo obstrutivo é baixa e, nos mistos predominou quase sempre o componente restritivo, mais um factor contra a importância da bronquite crónica nestes doentes.

Surpreendeu-nos a elevada incidência de alterações radiológicas encontradas na população estudada, sendo a maioria do tipo retículo-nodular. Em muitos casos observámos aspectos de pulmão «em favo», mas não encontramos os aspectos que estamos habituados a ver em doentes com bronquite crónica.

As alterações radiológicas situam-se nas bases e, sobretudo, no campo pulmonar direito.

Situam-se, muitas vezes, no «manto» do pulmão onde é mais frequente encontrar os aspectos de «pulmão em favo» acima referidos.

As imagens observadas correspondem às que se encontram nos indivíduos portadores de patologia pulmonar devida à inalação de poeiras.

Encontraram-se precipitinas contra o *Penicillium frequentans* em circulação no soro de 32% dos operários. Em trabalho recente (17), um de nós constatou que os indivíduos que nunca contactaram com ambientes poluídos pela cortiça, não têm precipitinas circulantes contra aquele fungo. Por outro lado, 7% dos corticeiros, sem queixas atribuíveis ao ambiente de trabalho, têm precipitinas em circulação, podendo estes doentes corresponder às formas sub-clínicas de suberose descritas por Cortez Pimentel (17). Também, 15% dos doentes com suberose não apresentam anticorpos contra o *Penicillium frequentans*.

Os estudos da concentração dos esporos fúngicos e partículas de cortiça nas diferentes secções da fábrica mostrou que a distribuição dos esporos pelas secções de «corte e fabricação», «acabamento» e «escolha e acondicionamento» é relativamente homogênea. Notou-se, contudo, que, na secção de fabricação de discos, a concentração média de esporos foi de  $9,73 \times 10^6/m^3$  de ar. No entanto, nesta secção trabalha apenas 8% da totalidade dos operários estudados. É de esperar, portanto, admitindo que os esporos possam ser influência no aparecimento da patologia respiratória, que a incidência das lesões por eles provocadas seja relativamente homogênea, embora com ligeiro aumento na secção de «corte e fabricação».

Nas três secções que estamos discutindo, a concentração média de partículas de cortiça na atmosfera é inferior à dos esporos fúngicos mas homogênea em todas elas.

Quando descrevemos o funcionamento da fábrica fizemos notar a grande diferença entre o fundão 1 e 2. Destas diferentes formas de tratar a cortiça, resulta a elevadíssima concentração de esporos fúngicos no fundão 1, onde só trabalham dois dos operários estudados. Esta diferença tem também a sua repercussão sobretudo na secção de «corte e fabricação» de discos, para onde se dirige a maior parte da cortiça do fundão 1 e onde se encontram concentrações relativamente elevadas de esporos.

A contagem de esporos ao ar livre, se bem que tenha dado valores baixos em relação às outras secções, como seria de esperar, deve ser mais elevada do que a apresentada no Quadro V. Isto deve-se ao facto de as colheitas terem sido efectuadas em locais bastante afastados das zonas onde se empilhavam e se

separavam em lotes as pranchas de cortiça. Os valores apontados traduzem a concentração média de esporos na atmosfera fora das oficinas e, portanto, pode ainda considerar-se elevada.

Convém notar que os operários que trabalham ao ar livre exercem a sua actividade longe dos locais onde se colheram as amostras e, portanto, é possível que estejam expostos a concentrações mais elevadas do que aquelas que foram determinadas.

O grupo de operários que classificámos como «Outros» engloba operários que, não estando expostos constantemente à poeira de cortiça no desempenho das suas tarefas percorrem todas as secções. Daqui resultará um risco de suberose elevado, ainda que inferior ao dos outros grupos.

Os resultados das contagens de colónias de fungos, efectuadas com o «Andersen sampler», mostram bem a alta incidência de *Penicillium frequentans*. No Quadro I pode apreciar-se o paralelismo evidente entre as contagens de esporos e o número de colónias desenvolvidas nas diversas secções.

O número de indivíduos com queixas e/ou sinais de patologia respiratória começa a aumentar a partir dos 35 anos de idade. Isto parece estar relacionado com a poluição fabril visto que, como os operários começam a trabalhar muito jovens, têm nessa altura já cerca de 20 anos de exposição à poeira. Os resultados dos estudos funcionais e dos exames radiológicos vêm abonar esta afirmação pois existe um paralelismo perfeito na distribuição etária das suas alterações.

A partir dos 60 anos o número de indivíduos com alterações respiratórias diminui ligeiramente, provavelmente porque uma quantidade apreciável já se terá reformado e abandonado a sua actividade fabril. Desta forma, só aqueles que não estão doentes ou que apresentam sintomas mínimos continuam ao serviço.

Ao analisarmos as alterações do aparelho respiratório — clínicas, funcionais e radiológicos —, quanto à sua distribuição pelos diversos postos de trabalho verificamos que o grupo «outros» apresenta a incidência mais baixa, o que é lógico pois são, duma maneira geral, os que têm menos contacto directo com a cortiça. Quanto aos operários que trabalham nos restantes postos a incidência de patologia respiratória é mais elevada no

grupo que trabalha ao «ar livre» e no «corte e fabricação», seguindo-se por ordem decrescente, as secções de «acabamentos» e «escolha e acondicionamento».

Os estudos imunológicos efectuados nos primeiros 112 operários, que constituem uma amostragem de todas as secções, concordam com os dados clínicos, radiológicos e funcionais. Assim, a maior incidência de indivíduos em que se encontraram precipitinas circulantes encontra-se na secção de «corte e fabricação», seguida pelas secções de «acabamentos» e «escolha e acondicionamento». Pelo contrário, «ao ar livre» existe uma nítida discrepância de resultados.

A medida que aumenta o tempo de exposição ao ambiente fabril nota-se um aumento progressivo das alterações clínicas, radiológicas e funcionais nos operários. Este facto parece-nos bastante demonstrativo da importância da exposição às poeiras fabris na génese destas alterações. Outro facto que parece apoiar esta hipótese é o aumento paralelo do número de indivíduos que apresentam precipitinas em circulação.

Verificou-se que não existia correlação perfeita entre a sintomatologia e os estudos espirométricos o que, provavelmente se deve, por um lado, ao facto de os sintomas subjectivos nem sempre poderem ser valorizados e, por outro, à ausência de sinais no momento da observação nem sempre implicar ausência de patologia respiratória.

O facto de não se encontrar uma incidência mais elevada de alterações radiológicas em operários com sintomatologia clínica pode explicar-se pelo facto duma alta percentagem destas lesões serem de pequena extensão e, portanto, poderem não ter tradução radiológica.

Da correlação das alterações radiológicas com as espirométricas sobressai o facto de muitas destas últimas serem moderadas, podendo não ser acompanhadas de imagens radiológicas de tipo reticulo-nodular.

Em relação à demonstração de precipitinas circulantes, há que ter em mente que nem toda a sintomatologia respiratória nos operários da indústria corticeira traduz a existência de suberose e, por outro lado, conhecem-se casos de doença sub-clínica sem quaisquer queixas do foro respiratório.

A favor do interesse da pesquisa de precipitinas circulantes contra os antígenos do

*Penicillium frequentans* para o diagnóstico de suberose, notou-se que havia uma incidência muito maior de alterações funcionais e radiológicas nos operários que apresentavam estas precipitinas no seu soro, do que naqueles que as não tinham.

Confirmando o que atrás dissemos sobre a incidência de queixas de atopia, encontraram-se precipitinas em circulação em 60% dos operários que as referiam.

Dado que a incidência de patologia respiratória entre os operários da indústria da cortiça parece ser muito mais elevada da que seria de esperar para a população em geral e que, para um grande número não encontramos outra explicação que não seja a exposição ao ambiente fabril, somos levados a concluir que, muito provavelmente, serão portadores de uma das diversas formas de suberose.

O facto de se ter encontrado uma maior incidência de patologia respiratória nos indivíduos expostos há mais de seis anos, portanto muitos deles ainda jovens, e em postos de trabalho onde a concentração, tanto de esporos fúngicos como partículas de cortiça, é maior, vem apoiar esta hipótese.

Como já dissemos na introdução, a suberose é uma doença proteiforme cujo diagnóstico é difícil de comprovar sem recorrer à biópsia. Por esta razão é difícil definir um critério clínico seguro de diagnóstico que se possa utilizar em trabalhos epidemiológicos deste género.

Se bem que o achado de precipitinas contra o *Penicillium frequentans* seja um valioso meio auxiliar de diagnóstico, nalguns casos aparece em doentes com formas subclínicas, sem quaisquer outros sinais da doença. Por outro lado, é de admitir a hipótese de alguns indivíduos portadores de suberose poderem não ter anticorpos precipitantes em circulação — algumas formas de asma e mesmo de alveolite alérgica extrínseca.

Dos 112 operários estudados sob o ponto de vista imunológico, 32% terão, com grande probabilidade uma das várias formas clínicas ou sub-clínicas de suberose. Esta incidência não nos parece, porém, ser de aceitar para a totalidade da população fabril, pois que no grupo estudado sob o aspecto imunológico havia grande número de fumadores (59%) e de trabalhadores ao «ar livre» (23%) e na secção de «corte e fabricação» (42%), o que seguramente levará a um aumento da incidência da suberose pelas razões expostas.

Por outro lado interessa-nos determinar a incidência de casos de suberose de gravidade suficiente para dar manifestações clínicas e, particularmente, defeitos funcionais. Assim, e com todos os condicionamentos inerentes ao que já foi exposto, resolveu-se criar uma série de critérios para tentar determinar a incidência provável da suberose na população fabril estudada.

Para este efeito considerámos como sendo portadores de suberose os indivíduos expostos há mais de seis anos ao ambiente fabril, com ou sem queixas e/ou sinais de patologia respiratória, que apresentem alterações da ventilação do tipo restritivo ou misto, sem outra causa averiguada que não seja a exposição às poeiras da fábrica, e que tenham imagens de tipo reticulo-nodular na radiografia do tórax.

Dos 521 operários que tinham exames radiológicos e estudos funcionais respiratórios 99, ou 19%, enquadram-se nos critérios adoptados.

Apoiando a possível influência do fumo do tabaco no desencadear dos quadros de suberose, verificou-se que 24% dos fumadores apresentam os critérios exigidos para o diagnóstico de suberose neste trabalho, ao passo que apenas 17% dos não fumadores se puderam considerar desta forma como sendo portadores de suberose.

Demonstrada, mais uma vez, por este trabalho a existência indubitável duma doença causada pela exposição ao ambiente duma fábrica de cortiça e devida, seguramente, à inalação de partículas desta substância, provavelmente tendo como adjuvante os esporos do *Penicillium frequentans*, mal ficaria que não tentássemos extrair dele algumas lições de índole preventiva que pudessem eventualmente melhorar as condições de trabalho na indústria, evitando que os operários estejam expostos duma forma constante às poeiras patogénicas — cortiça e fungos.

Apesar de muitas máquinas estarem providas de exaustores de poeiras verificou-se que o teor de partículas de cortiça e de esporos fúngicos na atmosfera das oficinas, e especialmente nas secções de «corte e fabricação», «acabamentos» e «escolha e acondicionamento», e ainda nos fundões, era elevado.

Nesta ordem de ideias afigura-se-nos que para diminuir a morbilidade na fábrica se impõe: 1 — melhorar as condições de limpeza

e de ventilação dos locais de trabalho pois se verificou que, apenas o facto de se abrirem as janelas da oficina, reduzia substancialmente a concentração de partículas no ambiente fabril (10); 2 — procurar evitar o desenvolvimento de fungos na cortiça. Para isto é possível que se possa recorrer a modificações na técnica fabril baseadas, por exemplo, nas diferenças evidentes do ambiente no que se refere a esporos fúngicos entre os fundões 1 e 2, tratamento da cortiça com substâncias fungicidas como, por exemplo, o ácido salicílico (19) — adicionado à água da cozedura ou sob a forma de banho após a cozedura —, fumigação dos fundões, etc.

O emprego de máscaras seria, na nossa opinião, uma utopia pois dificilmente se conseguiria que os operários as usassem, além do que não cremos que máscaras utilizáveis evitassem a passagem das partículas mais finas e, por isso, mais perigosas.

Aqui deixamos estas sugestões aos técnicos de prevenção industrial que, melhor que nós, as poderão pôr em prática.

## CONCLUSÕES

1 — Num estudo epidemiológico, uma boa informação da massa populacional a estudar, permite a obtenção de dados valorizáveis numa grande percentagem de casos (85% no presente estudo).

2 — Para a avaliação de alterações respiratórias numa população sujeita à inalação de poluentes, a eliminação dos fumadores torna-se imperiosa na medida em que os hábitos tabágicos condicionam um grande número de sintomas, assim como alterações radiológicas e funcionais.

3 — Uma grande percentagem dos 529 trabalhadores não fumadores da indústria corticeira (43%), tinha queixas e/ou sinais de patologia respiratória que não podiam ser atribuídas, na maior parte dos casos a patologia respiratória anterior ou actual que não fosse a relacionada com o ambiente de trabalho.

4 — Na população estudada, encontramos uma alta incidência de sinusites e outros sinais de atopia.



5 — Nos estudos em massa da função respiratória, obtêm-se melhores resultados com o «Vitalograph» do que com o «Wright peak flow meter».

6 — Nos corticeiros, não fumadores, há uma alta incidência de alterações espirométricas (32%), com um predomínio franco das alterações do tipo restritivo (23%) o que é a favor de lesões do interstício pulmonar.

7 — Quando tecnicamente adaptado ao trabalho a efectuar, o exame microrradiográfico empregando películas de 100 milímetros é o processo ideal num trabalho de campo.

8 — É extremamente elevada a incidência de alterações radiológicas nos operários estudados (66% dos não fumadores), com o predomínio nítido de alterações do tipo retículo-nodular (55%).

Os aspectos encontrados correspondem aos descritos nos indivíduos sujeitos à inalação de poeiras.

9 — 32% dos operários da indústria corticeira, cujos soros foram estudados frente a antígenos de *Penicillium frequentans*, têm precipitinas circulantes. A existência de precipitinas é um bom meio auxiliar de diagnóstico. Alguns dos operários assintomáticos e com formas sub-clínicas têm-nas em circulação.

10 — A contagem de esporos fúngicos e de partículas de cortiça no ambiente, revelou uma alta concentração de poeiras.

11 — Há um aumento nítido de patologia respiratória a partir dos 35 anos de idade o que parece depender mais do ambiente fabril do que da idade, atendendo ao facto de que, em regra, os operários daquele grupo etário têm cerca de 20 anos de exposição.

12 — A maior incidência de patologia respiratória foi encontrada nas secções a que chamamos de «Ar livre», «Corte e fabricação» e «Acabamentos».

13 — Quanto maior for o número de anos de trabalho na fábrica, maior é o número de alterações clínicas, espirométricas e radiológicas nos operários. A incidência de precipitinas para o *Penicillium frequentans* sobe paralelamente.

14 — Não existe correlação perfeita entre queixas e/ou sinais de patologia respiratória e as alterações espirométricas e radiológicas assim como com a existência de precipitinas circulantes para o *Penicillium frequentans*.

15 — Os trabalhadores expostos à cortiça há mais de 6 anos, com alterações ventilatórias do tipo restritivo ou misto — sem outra causa averiguada que não seja a exposição às poeiras — e com alterações radiológicas do tipo retículo-nodular, sofrem muito provavelmente de suberose, com tradução clínica. Na população estudada, 19% obedeceram a este critério.

16 — É fundamental reduzir-se, ao mínimo, as partículas em suspensão no ambiente das fábricas da indústria corticeira.

17 — Como medidas preventivas da suberose, julgamos fundamental melhorar as condições de limpeza e arejamento dos locais de trabalho e estudar a possibilidade de diminuir a população fúngica da cortiça, quer pela adição de anti-fúngicos, quer através de fumigações.

18 — Rastreios periódicos da população fabril, permitirão detectar precocemente alterações respiratórias nos indivíduos sensíveis e assim afastá-los a tempo do ambiente de trabalho.

## RESUMO

Após uma breve introdução histórica sobre a Suberose em Portugal, os Autores apresentam os resultados dum estudo epidemiológico da incidência de alterações respiratórias e da importância do problema da Suberose em 697 operários de uma fábrica da indústria corticeira.

Depois da descrição das condições de trabalho na fábrica onde se realizou o estudo, analisam as características da população. Apresentam os resultados de um questionário tipo, da observação clínica dos operários, dos estudos espirométricos e radiológicos e a incidência de precipitinas circulantes para o *Penicillium frequentans* nos primeiros 112 indivíduos estudados.

Paralelamente procedeu-se à colheita de amostras de ar das diversas secções, tendo

em vista a contagem de poeiras de cortiça e de esporos fúngicos na atmosfera.

Além da correlação dos diversos parâmetros determinados, discutem-se aspectos de ordem técnica, tais como a utilização de métodos de estudo da ventilação e de radiodiagnóstico.

Adoptando um critério clínico radiológico, funcional e imunológico concluem que 19% dos trabalhadores são muito provavelmente portadores de suberose com tradução clínica.

Finalizam o trabalho sugerindo medidas de prevenção a adoptar, tendo em vista minimizar as alterações bronco-pulmonares provocadas pelas poeiras existentes na atmosfera das fábricas onde a cortiça é transformada em produtos comerciais.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos às seguintes entidades todas as facilidades que nos foram concedidas para a execução deste trabalho:

— Administração da firma Mundet.

— Serviço de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Lisboa, na pessoa do seu Director Professor Juvenal Esteves e suas colaboradoras no Laboratório de Micologia, Dr.<sup>a</sup> Júlia Cabrita e Dr.<sup>a</sup> Maria Manuela Figueiredo.

— Rethamsted Experimental Station, Harpenden, Herts. Inglaterra.

— Instituto de Assistência Nacional aos Tuberculosos, na pessoa do seu Director Dr. Eduardo Vilarinho.

## BIBLIOGRAFIA

1. Abreu, L. C. C. — On a special kind of pneumoconiosis: The suberosis. *Med. Contemporânea*, 73: 325, 1955.
2. Avila, R.; Villar, T. C. — Suberosis. Respiratory disease in cork workers. *Lancet*, 1: 620, 1968.
3. Avila, R.; Araújo, A. T. — A propósito dos dez casos de doença pulmonar em corticeiros. *Pneumologia*, 2: 170, 1971.
4. Cortiças de Portugal. Edição da Junta Nacional da Cortiça, Lisboa, 1971.
5. Dados fornecidos pela Junta Nacional da Cortiça, Lisboa, Maio de 1972.
6. Ferris Jr., B. G.; Andersen, D. O. — The prevalence of chronic respiratory disease in a New Hampshire town. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 86: 165, 1962.
7. Ferris Jr., B. G.; Higgins, I. T. T.; Higgins, M. W.; Peters, J. M.; Van Gause, W. F.; Goldman, M. D. — Chronic nonspecific respiratory disease, Berlin, New Hampshire, 1961-1967. A cross-sectional study. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 104: 232, 1971.
8. Gregory, P. H.; Lacey, M. E. — Mycological examination of dust from mouldy hay associated with farmer's lung disease. *J. of General Microb.*, 30: 75, 1963.
9. Horta, J. S.; Abreu, L. C. C. — Experimentelle korkstanbkoniose, Experimentelle suberose. *Arch. Gewerbepath. u. Gewerbehyg.*, 13: 319, 1957.
10. Lacey, J. — The air spora of a Portuguese cork factory, 1972, em publicação.
11. May, K. R. — The Cascade impactor: An instrument for sampling coarse aerosols. *J. of Scientific Instruments*, 22: 187, 1945.
12. May, K. R. — Calibration of a modified Andersen bacterial aerosol sampler. *App. Microbiology*, 12: 37, 1964.
13. Mendes, F. R. Vinte-e-Um. — Comunicação à Reunião Clínica dos Médicos de Portalegre em 15 de Novembro de 1947.
14. Na exportação da cortiça portuguesa. Edição da Junta Nacional da Cortiça, Lisboa, 1971.
15. Pimentel, J. C. — Mesa redonda sobre pulmão imunológico. II — Anatomia patológica. *J. Soc. Cien. Méd. Lisboa*, 133: 459, 1969.
16. Pimentel, J. C. — Fibrose pulmonar difusa idiopática (Síndrome de Hamman e Rich) — Revisão de dois casos em que foi possível identificar o possível agente etiológico. *Soc. Cien. Méd. Lisboa*, 135: 445, 1971.
17. Pimentel, J. C.; Avila, R. — Respiratory disease in workers in the cork industry («Suberosis») — New trends and diagnostic possibilities. *Thorax*, 1972, em publicação.
18. Rankin, J.; Kobayashi, M.; Barbee, R. A.; Dickie, H. A. — Pulmonary granulomatoses due to inhaled organic antigens. *Med. Clin. N. America*, 51: 459, 1967.
19. Sardica, L. — Estudo da eficácia do ácido salicílico como inibidor de fungos. *Bol. da Junta Nac. da Cortiça*, 33: 21, 1971.
20. UICC/Cincinnati classification of the radiographic appearances of pneumoconioses. A cooperative study by the UICC committee. *Chest*, 58: 57, 1970.



### 3.ª SECÇÃO

1 — Poluição do Ar

*Júlia Vilar*

2 — Nota sobre o cálculo da dimensão de amostras

*F. Galvão de Melo*

3 — Organização de um serviço laboratorial para diagnóstico de doenças causadas por vírus entéricos no INSA

*Maria Irene Graça Nunes*

4 — Organização de um serviço de microbiologia dos alimentos no INSA

*Ricardina Dantas*

5 — Organização do serviço de química clínica no INSA

*Maria do Carmo Cavalheiro Morais Martins*

6 — Organização do serviço de virologia da Delegação do INSA no Porto

*Maria Fernanda Ferreira*

7 — Organização de uma secção de bacteriologia da tuberculose na Delegação do INSA no Porto

*Maria Fernanda de Paiva Pereira*



# POLUIÇÃO DO AR

(Situação na cidade de Lisboa e na região do Barreiro-Seixal)

F. A. Gonçalves Ferreira<sup>1</sup>

Júlia Vilar<sup>2</sup>

## 1 — INTRODUÇÃO

1.1 O Prof. Dennis Gabor, prémio Nobel da Física (1971), ao falar em Novembro de 1972 sobre «prioridades da ciência e da tecnologia» e de programas para prevenir o «desastre ecológico», isto é, a deterioração das condições do ambiente ao ponto da vida humana se tornar impossível, classificou a poluição no presente como *grande escândalo mas pequeno problema*, acrescentando que em quase todos os casos conhecidos de poluição importante na actualidade existem já técnicas para a evitar ou remediar e que a poluição industrial existente poderá ser suprimida nos países industrializados, se 1,5 a 2% do P.N.B. (produto nacional bruto) for gasto com esse fim.

Um plano de prioridades da ciência e da tecnologia, tendo em vista o equilíbrio das sociedades humanas — que será fundamentalmente dependente das relações entre grupos biológicos —, para prevenir o desastre ecológico, deverá consistir de três partes:

— reduzir a poluição actual e evitar o seu aumento por novas fontes, aplicando as

medidas de «contrôle», de forma a limitá-la às proporções consideradas inofensivas;

— evitar o uso de materiais que venham a constituir desperdícios sólidos (lixo) e limitar a sua acumulação, ao mesmo tempo que se deve aumentar o recurso a recipientes de material biodegradável e favorecer adequadamente a sua produção;

— desenvolver uma tecnologia de equilíbrio, adaptada às necessidades da vida nas relações indivíduo/ambiente, desde as fontes de energia à utilização do solo, sob a forma de imperativo nacional, orientada pelas instituições responsáveis para uma completa coordenação da investigação.

1.2 Embora o homem tenha que ser considerado um agente de poluição pela sua própria natureza e fisiologia, sobretudo desde que vive em grupos, e esta consequência da sua natureza e actividades tenha aumentado sempre desde a descoberta e utilização do fogo, o agravamento na nossa época está ligado à formação de grandes aglomerados populacio-

<sup>1</sup> Director do Instituto Nacional de Saúde — Lisboa.

<sup>2</sup> Técnico especialista, Laboratório de Higiene Industrial, Instituto Nacional de Saúde — Lisboa.

nais mal planeados e à intensificação da industrialização, pelo aparecimento de indústrias sem condições tecnológicas convenientes e sem a preocupação de as conseguir, produzindo volumes cada vez maiores de produtos nocivos e usando técnicas e processos de complexidade crescente com a utilização de múltiplos produtos novos de toxicidade desconhecida ou mal averiguada.

A poluição, problema real ou potencial de todos os tempos, agrava-se, assim, nos nossos dias, em resultado dos interesses e da imprevidência, e a defesa da sociedade contra os seus perigos precisa de assentar em medidas enérgicas de luta coordenada, envolvendo três frentes:

- a da legislação, em que por leis e regulamentos são estabelecidas normas condicionadoras de defesa contra os riscos existentes e, especificadamente, contra os factores causais que os criam, ao mesmo tempo que se promove a investigação regular dos problemas em perspectiva, quer de ordem médica quer de ordem administrativa, e são definidas as bases da política anti-poluição como parte do conjunto das modernas condições de saúde;

- a do progresso industrial, pelo desenvolvimento da indústria anti-poluição, uma vez que se conhecem técnicas para evitar ou remediar a poluição, praticamente em todas as indústrias e situações;

- a do envolvimento da população nesta luta, pela consciencialização e movimento dos cidadãos contra a poluição, criando uma base democrática de intervenção na defesa do interesse comum que, com o tempo, será a mais poderosa arma de intervenção.

### 1.3 A poluição do ar depende de duas fontes principais:

- a queima dos combustíveis, quer em fontes fixas, quer em fontes móveis, como é o caso dos veículos motorizados, e que depende muito da natureza e qualidade desses combustíveis e do tipo de instalação em que são queimados;

- as emissões industriais, que vão desde as poeiras aos gases tóxicos ou incómodos.

As repercussões da poluição do ar na saúde traduz-se por efeitos a curto prazo, de carácter agudo ou subagudo, e efeitos a longo prazo, provocados por poluentes já conhecidos pelas acções demoradas no tempo ou por poluentes suspeitos, em que estudos médicos e epidemiológicos continuam a ser necessários para esclarecer o grau e as condições da sua intervenção patológica.

Um dos problemas mais difíceis que se levantam neste campo de avaliação dos efeitos nocivos dos poluentes, em termos de gradação, como «muito», «bastante», «pouco», «suspeito» ou «não averiguadamente» nocivo, é o de estabelecimento de níveis ou limites que sirvam de verdadeiro indicador do ambiente para a vigilância dos indivíduos nas diversas idades e suas condições de vida, desde a habitação ao trabalho. Nesta nota, a propósito da situação em Lisboa e na região do Barreiro-Seixal, será feita referência a diversos grupos de indicadores e especificadamente considerados os valores indicados pela O.M.S. (Organização Mundial de Saúde) e E.P.A. (Agência para a Protecção do Ambiente, dos E. U. A.).

Além dos efeitos sobre a saúde do homem, a poluição do ar ambiente é indesejável sob muitos outros aspectos, que vão das acções nos animais e plantas, aos efeitos agressivos sobre os materiais, a diminuição da visibilidade, etc.

Os efeitos da poluição sobre os animais estão ainda mal estudados, mas admite-se que não haja, à luz dos nossos conhecimentos e pelo menos para os animais domésticos, efeitos detectáveis antes dos níveis de poluição atmosférica atingirem os valores limites propostos para o homem. Como o flúor e possivelmente outros poluentes (chumbo, arsénio) se acumulam nas plantas, e, variavelmente, conforme os tecidos, podem provocar intoxicação nos animais que delas se alimentam, mesmo que as concentrações no ar sejam insuficientes para provocarem lesões por inalação. É um problema bem conhecido para alguns tóxicos, este da acumulação nos seres vivos que são utilizados na alimentação dos animais, inclusive o homem, e causam nestes efeitos nocivos.



São mal conhecidas as relações dos poluentes atmosféricos e a passagem para as águas correntes, dos lagos ou do mar, e consequentes efeitos sobre a fauna aquática.

As plantas são, em regra, bastante mais sensíveis do que o homem e os animais a uma série de poluentes, como o flúor, anidrido sulfuroso e alguns componentes dos gases de escape dos motores de combustão (veículos automóveis, etc.), nomeadamente o etileno. Daí o utilizarem-se plantas como indicadores destes tipos de poluição. Os estragos nas culturas são bem conhecidos junto ou na vizinhança de muitas indústrias.

Os efeitos manifestam-se por lesões das folhas, queda das flores e dos frutos, crescimento deficiente ou envelhecimento precoce.

Os materiais são muito afectados por alguns poluentes da atmosfera e a sua deterioração é bem conhecida por o caso do anidrido sulfuroso, por exemplo, que, dando origem a ácido sulfúrico, corroe as pedras calcárias, os metais e compostos metálicos, os materiais celulósicos e o próprio cimento.

Os efeitos sobre a luminosidade dependem de muitos factores, mas são conhecidos nas áreas industriais ou mesmo na vizinhança das grandes indústrias libertadoras de fumos e poeiras.

1.4 O problema da poluição deixou de se pôr, pois, a nível técnico, mas continua a ser um importante problema económico, dado que o equipamento anti-poluição e a tecnologia antipoluição são de custo elevado e obrigam, portanto, a despesas com a melhoria da qualidade dos combustíveis e dos equipamentos e instalações, para as quais não há suficiente compreensão e receptividade por parte dos responsáveis. O problema põe-se também, e de forma fundamental, a nível administrativo, para se conseguir uma judiciosa localização das indústrias ou outras fontes poluidoras, tendo em conta as condições meteorológicas e topográficas e o grau desejável de concentração, com o estabelecimento de normas condicionadoras da desejável qualidade do ar.

1.5 De todas estas influências e implicações resultou um problema novo nos nossos dias — o da gestão do ar —, isto é, da sua utilização conforme as conveniências das comunidades e da regulamentação a que precisa de ser sujeito para que seja garantida a sua qualidade de pureza de elemento essencial à vida.

## 2 — SITUAÇÃO NA CIDADE DE LISBOA E NA REGIÃO DO BARREIRO-SEIXAL

O estudo sistemático da poluição do ar, entre nós, só tem sido efectuado, até agora, na área de Lisboa e na região do Barreiro-Seixal.

Desde o fim da década de 50, a SACOR começou a instalar, na área de Lisboa — cidade de Lisboa e Moscavide —, postos fixos de estudo da poluição do ar que perfazem, actualmente, um total de 19 unidades. Mais tarde, na década de 60, a CUF e a Siderurgia Nacional (SN) começaram, também, a instalar postos fixos, respectivamente na região do Barreiro e do Seixal, actualmente com um total de 15 unidades.

A partir de 1966, com a criação do Grupo de Trabalho sobre Poluição do Ar (GTPA), de que fazem parte representantes das empresas referidas, os estudos da poluição passaram a ser feitos por análise mais coordenada dos dados disponíveis embora sem possibilidade de os alargar a outras zonas.

É com base nos elementos colhidos nos relatórios anuais do GTPA e em alguns dos obtidos pelo Laboratório de Higiene Industrial do Instituto Nacional de Saúde (INSA) no decorrer do ano de 1972, que procuraremos dar uma panorâmica genérica respeitante à poluição do ar nas zonas estudadas.

Por se tratar de tipos diferentes de poluição, apresentam-se separadamente os aspectos referentes à zona de Lisboa e à do Barreiro-Seixal.

### 2.1 — Zona de Lisboa

#### 2.1.1 — Equipamento e tipo de determinações

O estudo da poluição na área de Lisboa tem estado a ser efectuado a partir dos elementos colhidos em «postos fixos» e, durante 1972, também em «postos móveis», com o apoio de uma viatura adaptada a laboratório.

#### POSTOS FIXOS

Designam-se por «postos fixos» os locais onde estão instalados, em permanência, aparelhos para o estudo da poluição.

Os aparelhos que equipam estes postos e as determinações que se efectuam são os seguintes:

a) *Aparelhos SF* — Destinados a avaliar compostos de enxofre e fumos, faz-se neles a determinação do teor médio diário da acidez forte gasosa e de fumos negros ou poeiras finas.

Estão equipados com estes aparelhos os postos 1, 2, 3, 5, 6, 7, 10, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21 e 22;

b) *Deposímetros* — Destinados a recolher água das chuvas para fazer determinações mensais de pH, matéria solúvel em  $CS_2$  (alcatrões), matéria insolúvel total, cinzas, outras matérias combustíveis, matéria solúvel total, sólidos totais,  $Ca^{++}$ ,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{=}$ .

Estão equipados com estes aparelhos os postos 1, 4, 8, 11, 12, 16 e 18;

c) *Pluviómetros* — Destinados a avaliar a quantidade de chuva caída no local, permite que no líquido recolhido sejam efectuadas determinações diárias, em períodos de precipitação, de pH,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{=}$  e  $NO_3$ .

Dispõem destes aparelhos os postos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 14 e 16;

d) *Placas Diem* — Servem para recolha de poeiras e nelas se efectuam determinações semanais do peso de poeiras sedimentadas.

Estão equipadas com estas placas os postos 1, 12 e 17.

O posto 1 dispõe ainda de equipamento que permite efectuar determinações instantâneas de  $SO_2$  e obter as médias diárias de  $CO_2$  e  $NH_3$ . No posto 21 efectua-se, também, a determinação da média diária de  $CO_2$  e no posto 22, as determinações do teor médio diário de  $SO_4^{=}$  nas partículas em suspensão,  $Cl^-$  e  $NH_3$ .

As entidades responsáveis pelos postos fixos são a SACOR, o INSA e a Câmara Municipal de Lisboa (CML), conforme se indica no Quadro I. Também constam do mesmo quadro os locais em que se encontram os vários postos e na planta I está indicada a distribuição geográfica dos postos fixos.

## POSTOS MÓVEIS

Chama-se «postos móveis» aos dispositivos constituídos por equipamento de colheita de funcionamento não permanente e que efectuam as colheitas de ar e determinações instantâneas ou intermitentes transportadas, na altura, para o local.

O Laboratório de Higiene Industrial deu início a este tipo de estudo em Maio de 1972, para o que tem utilizado uma viatura-laboratório adquirida e adaptada pela Direcção-Geral de Viação, e posta por esta à disposição do GTPA para os estudos da poluição do ar.

A viatura está equipada com um aparelho Unor-S-2, que permite obter os teores instantâneos de CO e nela se transporta ainda outro equipamento para colheita de ar em que são determinados os poluentes em estudo. O aparelho Unor-S-2 foi adquirido e instalado na viatura pela C. M. L. que também adquiriu algum equipamento para colheitas de ar de curta duração.

Como, em nosso entender e a experiência tem mostrado, é a circulação automóvel a principal responsável pela poluição do ar na cidade de Lisboa, orientou-se este estudo no sentido de se avaliar o grau da poluição provocada por alguns dos produtos emitidos nos gases de escape dos veículos a motor.

Escolheram-se, para o efeito, 26 pontos, distribuídos pela cidade de Lisboa e localizados conforme o indicado no Quadro II, onde, periodicamente, foram efectuadas as seguintes determinações:

a)  $CO$ , determinações instantâneas com o aparelho Unor-S-2, em todos os pontos referidos;

b)  $SO_2$ ,  $NO_2$ ,  $NH_3$  e aldeídos, através de colheitas de duração entre 20 e 30 minutos, nos pontos referenciados com os números 1, 6, 9, 10, 18, 22 e 26.

### 2.1.2. — *Apreciação de alguns dos resultados obtidos*

Para dar uma ideia global do grau e distribuição da poluição, são referidos, por se considerarem mais significativos, os resultados referentes a:

— acidez forte gasosa, expressa em  $SO_2$ ;

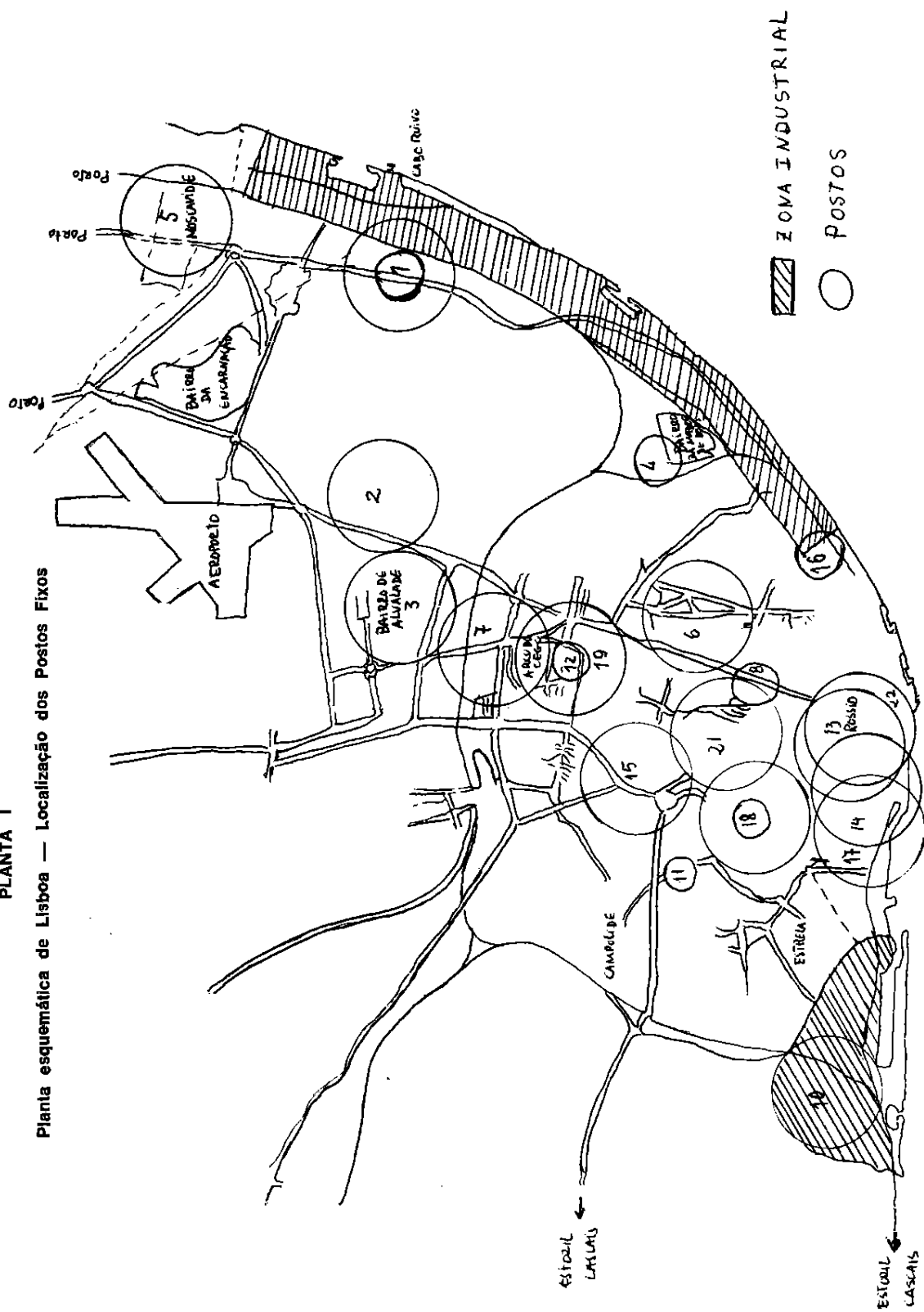
— fumos negros ou poeiras finas;

— óxido de carbono.

**QUADRO I**  
**Lista dos postos fixos**

| Posto<br>(Ref.) | Entidade<br>responsável | Localização                                                     | Tipo de zona               |
|-----------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------|
| 1               | SACOR                   | Refinaria Sacor — Cabo Ruivo                                    | Industrial                 |
| 2               | »                       | Colégio Valsassina                                              | Rural                      |
| 3               | »                       | Secção da E. P. Marquesa de<br>Aforna — Alvalade                | Residencial                |
| 4               | »                       | Bairro da Madre de Deus<br>— Ponte Alta                         | Residencial-Industrial     |
| 5               | »                       | Centro Social — Moscavide                                       | Residencial                |
| 6               | »                       | Escola I. e C. D. Luisa de Gus-<br>mão — Penha de França        | Res. de grande circulação  |
| 7               | »                       | Auto Comercial Av. de Roma                                      | Res. Com. de g/ circulação |
| 8               | »                       | Av. Almirante Reis, cruzamento<br>c/ a Antero de Quental        | Res. Com. de g/ circulação |
| 10              | »                       | Escola I. Fonseca Benevides<br>— Alcântara                      | Residencial-Industrial     |
| 11              | »                       | Companhia das Águas — Amo-<br>reiras                            | Res. de grande circulação  |
| 12              | »                       | I. S. T. — Al. Afonso Henriques                                 | Residencial-comercial      |
| 13              | »                       | Rua Augusta                                                     | Com. de grande circulação  |
| 14              | »                       | SACOR — Rua do Alecrim                                          | Com. de grande circulação  |
| 15              | »                       | Ordem dos Eng. <sup>os</sup> — Av. António<br>Augusto de Aguiar | Res. de grande circulação  |
| 16              | »                       | Companhia das Águas — Cal-<br>çada dos Barbadinhos              | Residencial                |
| 17              | »                       | C. R. G. E. — Rua da Boavista                                   | Res. Com. de g/ circulação |
| 18              | »                       | F. C. — Rua da E. Politécnica                                   | Res. Com. de g/ circulação |
| 19              | »                       | I. S. T. — Av. Rovisco Pais                                     | Residencial                |
| 20              | »                       | Escola Oficial — Moscavide                                      | Residencial                |
| 21              | INSA                    | Lab. H. I. Campo dos Mártires da<br>Pátria                      | Res. Com. de g/ circulação |
| 22              | CML                     | Rua do Carmo                                                    | Com. de grande circulação  |

### Planta esquemática de Lisboa — Localização dos Postos Fixos



## QUADRO II

### Lista dos postos móveis

| Posto<br>(Ref.) | Localização                                        | Tipo de zona                     |
|-----------------|----------------------------------------------------|----------------------------------|
| 1               | Av. Pedro Álvares Cabral                           | Residencial de grande circulação |
| 2               | Rua do Poço dos Negros                             | Residencial de grande circulação |
| 3               | Rua da Lapa                                        | Residencial                      |
| 4               | Rua Ferreira Borges                                | Residencial-comercial            |
| 5               | Rua Rodrigo da Fonseca                             | Residencial de grande circulação |
| 6               | Rua dos Fanqueiros                                 | Comercial de grande circulação   |
| 7               | Largos dos Caminhos de Ferro                       | Residencial-industrial           |
| 8               | Av. General Roçadas                                | Residencial                      |
| 9               | Av. Almirante Reis (Anjos)                         | Residencial-comercial            |
| 10              | Av. Duque de Loulé                                 | Res.-Com. de grande circulação   |
| 11              | Av. da Liberdade                                   | Residencial de grande circulação |
| 12              | Rua da Misericórdia                                | Res.-Com. de grande circulação   |
| 13              | Rua D. Estefânia                                   | Res.-Com. de grande circulação   |
| 14              | Av. Almirante Reis (entre Chile e Areeiro)         | Residencial de grande circulação |
| 15              | Rua Morais Soares                                  | Res.-Com. de grande circulação   |
| 16              | Av. Duque d'Ávila (cruz. Av. D. Filipa de Vilhena) | Res.-Com. de grande circulação   |
| 17              | Av. Duque d'Ávila (cruz. Av. Marquês de Tomar)     | Res.-Com. de grande circulação   |
| 18              | Av. Columbano Bordalo Pinheiro                     | Residencial                      |
| 19              | Rua Marquês da Fronteira                           | Residencial de grande circulação |
| 20              | Rua da Beneficência                                | Comercial de grande circulação   |
| 21              | Av. Óscar Monteiro Torres                          | Residencial                      |
| 22              | Av. da Igreja (entre Av. Roma e Campo Grande)      | Residencial                      |
| 23              | Av. Rio de Janeiro                                 | Residencial                      |
| 24              | Av. 28 de Maio                                     | Residencial                      |
| 25              | Rua do Ouro                                        | Comercial de grande circulação   |
| 26              | Rua da Prata                                       | Comercial de grande circulação   |

Para avaliação do grau de poluição, servimo-nos dos limiares propostos, em 1972, pela Organização Mundial de Saúde (OMS) <sup>(1)</sup> e que passaremos a enunciar:

#### a) Anidrido sulfuroso

— Concentração média anual não superior a 60  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ;

— 98% das observações diárias, durante um ano, inferiores a 200  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ;

#### b) Fumos negros ou poeiras finas

— Concentração média anual não superior a 40  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ;

— 98% das observações diárias, durante um ano, inferiores a 120  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ;

#### c) Óxido de carbono

— Concentrações médias horárias não superiores a 40  $\text{mg}/\text{m}^3$ ;

— Concentração média em 8 horas não superior a 10  $\text{mg}/\text{m}^3$ .

#### ACIDEZ FORTE GASOSA

A acidez forte gasosa é um índice da poluição ácida do ar, ou seja da quantidade de gases ácidos, solúveis na água, contida no ar durante o período da colheita.

(1) Organização Mundial de Saúde. Critères de Qualité de l'Air et Indices Relatifs aux Polluants de l'Atmosphère Urbaine, Série de Rapports Techniques — n.º 506, 1972.

Exprime-se em  $\text{SO}_2$  embora não seja uma medida específica deste poluente, dado que tanto os ácidos como as bases fortes interferem no método de análise. Dá-nos, contudo, uma medida aproximada, válida nos estudos a longo prazo quando se sabe não haver interferências ou quando estas são desprezáveis.

Como esta última condição se verifica, em regra, nos centros urbanos, em que o  $\text{SO}_2$  é o principal responsável pela acidez forte do ar, a ela nos referiremos no texto como poluição sulfurosa embora nos Quadros venha especificada como acidez forte do ar.

No Quadro III apresentam-se os teores médios anuais deste índice, obtidos em cada um dos postos e no conjunto dos postos de 1967 a 1972 inclusive.

Da observação destes valores verifica-se que a poluição sulfurosa se mantém, na maior parte dos casos, ainda moderada e inferior ao limiar de  $60 \mu\text{g}/\text{m}^3$  proposto pela O. M. S.

Somente os postos 13, 14 e 18 têm acusado níveis de poluição, sistematicamente superiores

a  $60 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , com excepção do ano de 1972 em que os postos 14 e 18 acusaram teores inferiores ao limiar referido.

Se atentarmos no Quadro I verificamos que estes três postos estão localizados em artérias de tráfego intenso — Rua Augusta, posto 13, Rua do Alecrim, posto 14, e Rua da Escola Politécnica, posto 18.

De facto, foi nas artérias de grande circulação que se registaram, em regra e durante o período considerado, os teores de poluição sulfurosa mais elevados, logo seguidas pelas zonas industriais.

Verifica-se, também, da observação dos valores apresentados no Quadro III, que, no ano de 1972, a poluição sulfurosa foi, na maior parte dos postos, inferior à registada nos anos anteriores.

De facto, 1972 foi, no período considerado, o ano que reuniu as condições meteorológicas mais favoráveis à dispersão e remoção dos poluentes. O Gráfico I, em que se apresentam as variações anuais, de 1967 a

### QUADRO III

#### Acidez forte gasosa expressa em $\text{SO}_2$ , $\mu\text{g}/\text{m}^3$

Médias anuais por posto e no conjunto dos postos — 1967 a 1972

| Posto<br>(Ref.) | Ano  |      |      |      |      |      | Média<br>no período |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|---------------------|
|                 | 1967 | 1968 | 1969 | 1970 | 1971 | 1972 |                     |
| 1               | 24   | 31   | 36   | 38   | 35   | 31   | 33                  |
| 2               | 4    | 10   | 10   | —    | 10   | 5    | 8                   |
| 3               | 7    | 9    | 8    | 14   | 9    | 5    | 9                   |
| 5               | 4    | 6    | 4    | 9    | 8    | 3    | 6                   |
| 6               | 23   | 24   | 24   | 38   | 25   | —    | 27                  |
| 7               | 39   | 42   | 35   | 38   | 45   | —    | 40                  |
| 10              | 20   | 26   | 28   | 38   | 46   | 29   | 31                  |
| 12              | 16   | 15   | 18   | 26   | 20   | 12   | 18                  |
| 13              | —    | —    | —    | —    | 134  | 99   | 117                 |
| 14              | 76   | 72   | 72   | 84   | 90   | 53   | 75                  |
| 15              | 30   | 35   | 36   | 44   | 40   | 31   | 36                  |
| 17              | 30   | 34   | 29   | 35   | 31   | 16   | 29                  |
| 18              | —    | —    | —    | 77   | 62   | 40   | 60                  |
| 19              | —    | —    | —    | —    | 21   | 12   | 17                  |
| 20              | —    | —    | —    | —    | 11   | 4    | 8                   |
| 21              | —    | —    | —    | —    | —    | 35   | 35                  |
| 22              | —    | —    | —    | —    | —    | 58   | 58                  |
| Média*          | 26   | 27   | 27   | 39   | 39   | 28   | 31                  |

\* Calculada com base nas médias mensais.

1972, da poluição sulfurosa, da intensidade de inversões e da pluviosidade, confirma esta asserção.

Do Quadro IV em que se apresentam os teores médios mensais no conjunto dos postos no período de 1967 a 1972, verifica-se que os meses que acusaram menor poluição foram os de Maio e Agosto e os mais poluídos os de Janeiro e Dezembro.

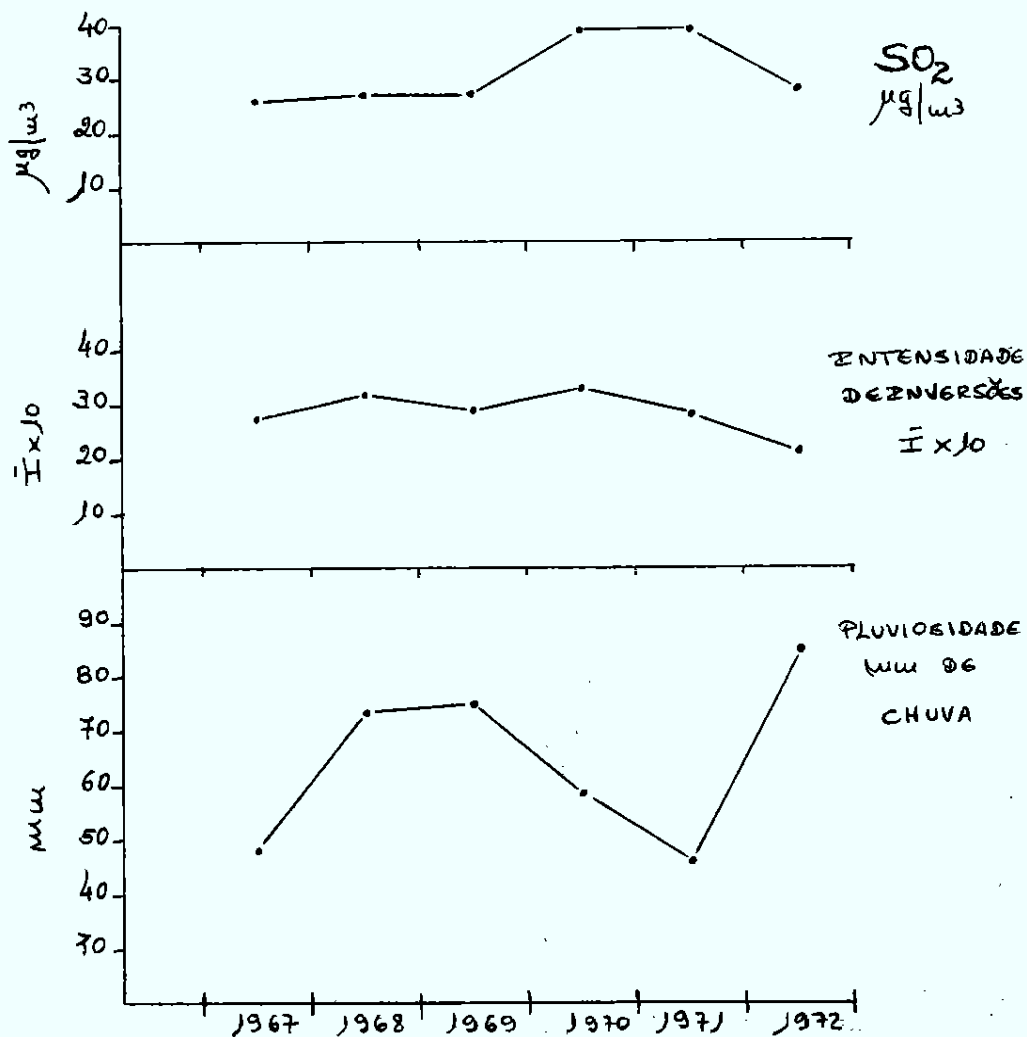
Se considerarmos duas estações, a de Inverno, correspondente aos meses de Outu-

bro a Março — Outono e Inverno —, e a de Verão, correspondente aos meses de Abril a Setembro — Primavera e Verão —, verifica-se (Quadro V) que a poluição de Inverno foi, durante o período e com excepção de 1970, de 1 a 2 vezes superior à de Verão.

Admitimos que tenham sido fundamentalmente as condições meteorológicas que determinaram a maior poluição observada no Inverno, pois estamos em crer que a poluição originada pela queima de combustíveis no

#### GRÁFICO

Acidez Forte Gasosa Expressa em  $\text{SO}_2$   
Intensidades de Inversões  
PLUVIOSIDADE  
Médias Anuais  
1967 a 1972



#### QUADRO IV

Acidez forte gasosa expressa em  $\text{SO}_2$ ,  $\mu\text{g}/\text{m}^3$

Médias mensais no conjunto dos postos — 1967 a 1972

| Mês<br>Ano | 1967 | 1968 | 1969 | 1970 | 1971 | 1972 | Média<br>no período |
|------------|------|------|------|------|------|------|---------------------|
| Janeiro    | 42   | 50   | 40   | 27   | 44   | 41   | 41                  |
| Fevereiro  | 28   | 22   | 43   | 41   | 51   | 29   | 36                  |
| Março      | 39   | 30   | 30   | 40   | 38   | 35   | 35                  |
| Abril      | 35   | 22   | 20   | 35   | 23   | 24   | 26                  |
| Maio       | 17   | 22   | 16   | 28   | 22   | 16   | 20                  |
| Junho      | 33   | 25   | 21   | 24   | 24   | 19   | 24                  |
| Julho      | 13   | 28   | 35   | 40   | 29   | 25   | 28                  |
| Agosto     | 11   | 13   | 15   | 28   | 28   | 25   | 20                  |
| Setembro   | 17   | 17   | 21   | 41   | 46   | 29   | 28                  |
| Outubro    | 18   | 44   | 25   | 53   | 50   | 27   | 36                  |
| Novembro   | 18   | 24   | 32   | 38   | 46   | 29   | 31                  |
| Dezembro   | 41   | 32   | 30   | 75   | 70   | 32   | 47                  |

#### QUADRO V

Acidez forte do ar expressa em  $\text{SO}_2$ ,  $\mu\text{g}/\text{m}^3$

Teores médios por estação — 1968 a 1972

| Estação<br>Ano                              | 1968 | 1969 | 1971 | 1970 | 1972 |
|---------------------------------------------|------|------|------|------|------|
| INVERNO *<br>(Outubro a Março<br>inclusivé) | 30   | 36   | 33   | 50   | 45   |
| VERÃO<br>(Abril a Setembro<br>inclusivé)    | 21   | 21   | 33   | 29   | 23   |

\* Por convenção: Inverno acabando no ano indicado.

aquecimento dos locais não seja significativa, entre nós, contrariamente ao que se verifica em países mais frios.

#### FUMOS NEGROS

Os fumos negros são poeiras finas contendo partículas carbonáceas que lhes conferem a cor negra. Constituem um índice da poluição resultante da combustão incompleta

em fontes fixas e nos veículos a motor Diesel.

Os únicos valores disponíveis deste índice são os respeitantes aos postos 21 e 22.

No Quadro VI, apresentam-se os teores médios mensais e anuais e os valores máximos diários dos fumos medidos nesses postos.

Pela apreciação destes valores observa-se que os teores de fumos são bastante elevados. As médias anuais nos dois postos excedem, em muito, o limiar de  $40 \mu\text{g}/\text{m}^3$  proposto pela OMS e o número de observações



diárias que ultrapassou 120  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , que a OMS recomenda não seja superior a 2%, foi de 48% no posto 21 e 94% no posto 22 (Quadro VII).

Embora estes postos estejam situados em zonas de grande tráfego automóvel, e sabemos quanto é deficiente o funcionamento dos motores dos autocarros e de muitos táxis,

**QUADRO VI**  
**Fumos em  $\mu\text{g}/\text{m}^3$**   
**Médias mensais, anuais e máximas diárias — 1972**

| Mês       | Posto 21 |        | Posto 22 |        |
|-----------|----------|--------|----------|--------|
|           | Média    | Máximo | Média    | Máximo |
| Janeiro   | 228      | 509    | —        | —      |
| Fevereiro | 200      | 536    | —        | —      |
| Março     | 198      | 308    | —        | —      |
| Abril     | 122      | 255    | —        | —      |
| Maio      | 114      | 229    | —        | —      |
| Junho     | 98       | 154    | —        | —      |
| Julho     | 108      | 177    | —        | —      |
| Agosto    | 85       | 133    | —        | —      |
| Setembro  | 103      | 148    | 216      | 324    |
| Outubro   | 135      | 278    | 226      | 290    |
| Novembro  | 133      | 306    | 219      | 294    |
| Dezembro  | 130      | 232    | 200      | 299    |
| Média     | 138      | —      | 215      | —      |

**QUADRO VII**  
**Dias com teores de fumos superiores a 120  $\mu\text{g}/\text{m}^3$**   
**1972**

| Mês       | Posto 21    |     | Posto 22    |      |
|-----------|-------------|-----|-------------|------|
|           | N.º de dias | %   | N.º de dias | %    |
| Janeiro   | 27          | 87% | —           | —    |
| Fevereiro | 19          | 66% | —           | —    |
| Março     | 29          | 97% | —           | —    |
| Abril     | 14          | 47% | —           | —    |
| Maio      | 9           | 29% | —           | —    |
| Junho     | 5           | 17% | —           | —    |
| Julho     | 9           | 29% | —           | —    |
| Agosto    | 4           | 13% | —           | —    |
| Setembro  | 9           | 30% | 30          | 100% |
| Outubro   | 15          | 50% | 31          | 100% |
| Novembro  | 16          | 53% | 28          | 93%  |
| Dezembro  | 18          | 58% | 26          | 48%  |
| Anual     | 174         | 84% | 115         | 94%  |

todos eles equipados com motores Diesel, estamos em crer que, dada a sua localização, outras fontes, além dos veículos, tenham influenciado os resultados obtidos. De facto, o posto 21 fica numa zona de hospitais cujas chaminés emitem abundantes fumos negros e o posto 22 está instalado numa zona com vários hotéis e pequenos restaurantes cujos efluentes podem, também, ter tido influência significativa nos valores medidos.

## ÓXIDO DE CARBONO

No Quadro VIII apresentam-se os teores médios e máximos de CO obtidos em cada posto.

Os valores médios correspondem à média aritmética de 5 a 20 determinações instantâneas em cada ponto.

Da observação dos valores apresentados verifica-se que, em alguns locais, os teores

### QUADRO VIII

Óxido de carbono, em mg/m<sup>3</sup>

Determinações instantâneas — Valores médios e máximos obtidos — 1972

| Local (Ref.) | Média | Máximo | Local (Ref.) | Média | Máximo |
|--------------|-------|--------|--------------|-------|--------|
| 1            | 19    | 44     | 14           | 9     | 40     |
| 2            | 31    | 90     | 15           | 9     | 24     |
| 3            | 1     | 10     | 16           | 4     | 20     |
| 4            | 8     | 21     | 17           | 10    | 40     |
| 5            | 28    | 110    | 18           | 8     | 28     |
| 6            | 18    | 43     | 19           | 4     | 20     |
| 7            | 5     | 13     | 20           | 29    | 125    |
| 8            | 10    | 35     | 21           | 4     | 20     |
| 9            | 4     | 23     | 22           | 4     | 23     |
| 10           | 26    | 68     | 23           | 1     | 3      |
| 11           | 5     | 13     | 24           | 4     | 11     |
| 12           | 8     | 40     | 25           | 29    | 75     |
| 13           | 11    | 40     | 26           | 16    | 59     |

de CO assumem já valores instantâneos bastante elevados.

Se atentarmos no Quadro II, constatamos que os postos em que se verificaram os valores mais elevados ficam situados em artérias de grande tráfego automóvel. De facto, a poluição pelo CO é fundamentalmente originada pelas emissões dos veículos a gasolina sendo, por isso mesmo, considerado o melhor índice da poluição por eles originada.

A Planta II, em que se inscreveram graficamente, os teores médios de CO em cada ponto de medida, permite uma mais fácil visualização da distribuição deste tipo de poluição.

Se utilizarmos a escala de classificação da poluição pelo CO (Quadro IX) adoptada pelo Laboratório Central da Perfeitura da Polícia de

Paris para valores médios de um grande número de determinações instantâneas (32, no caso do referido Laboratório), verifica-se que a poluição nas ruas de grande trânsito, especialmente nas ruas de trânsito congestionado, já pode ser classificada de notável.

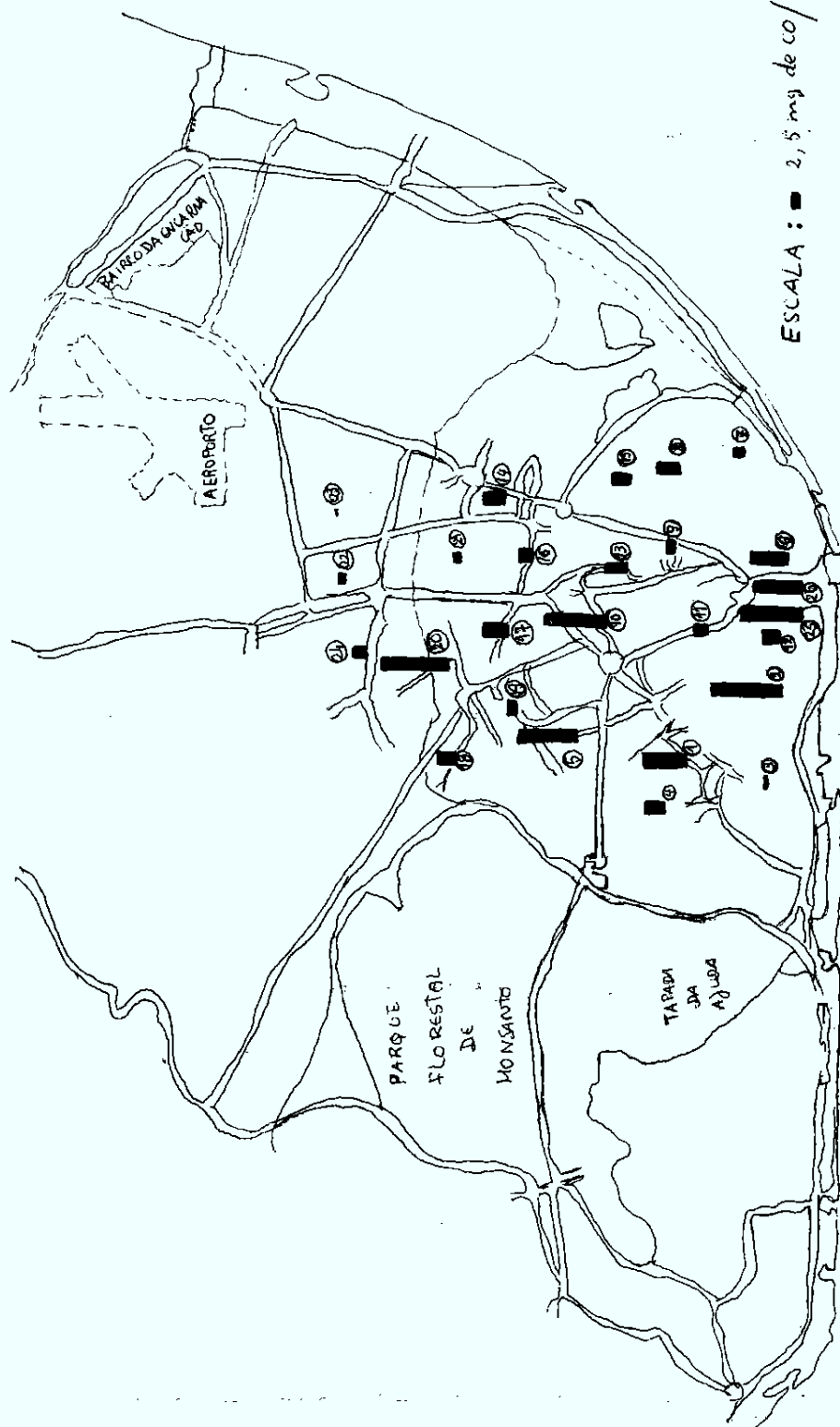
Admitimos, mesmo, em face dos valores obtidos, que, em muitos desses locais, se verifiquem, em certas alturas do dia, valores médios horários que excedem o limiar de 40 mg/m<sup>3</sup>, proposto pela OMS.

É de notar que os valores apresentados foram medidos de manhã, entre as 9,30 e 12 h, não correspondendo portanto às chamadas horas de ponta. É, pois, de admitir que, nessas horas, a poluição seja bastante superior à medida.

## PLANTA II

Planta esquemática da cidade de Lisboa

Teóres Médios de CO — 1972



## QUADRO IX

Níveis de poluição pelo óxido de carbono  
Teores de CO e de oxicarbonémia  
correspondentes

(Classificação do Laboratório Central de Paris)

| Níveis de poluição    | CO<br>(mg/m³) | Oxicarbonémia<br>(ml/100 ml) |
|-----------------------|---------------|------------------------------|
| Insignificante        | <6            | <0,2                         |
| Fraca                 | 6 — 13        | 0,2 — 0,4                    |
| Moderada              | 13 — 25       | 0,4 — 0,8                    |
| Notável               | 25 — 38       | 0,8 — 1,2                    |
| Séria                 | 38 — 50       | 1,2 — 1,6                    |
| Relativamente elevada | 50 — 63       | 1,6 — 2,0                    |
| Elevada               | 63 — 75       | 2,0 — 2,4                    |
| Muito séria           | >75           | >2,4                         |

### 2.1.3 — Conclusões

Do exposto parece poder concluir-se que:

a) A poluição na cidade de Lisboa é ainda moderada, embora em certos locais já assuma valores que devem levar imediatamente a ponderar a situação. Como tudo faz crer que a situação tenderá a piorar progressivamente, se não forem tomadas medidas imediatas vamos-nos encontrar, mais tarde ou mais cedo, mas em breve, perante uma situação grave e então muito mais difícil de resolver. Esta é uma das razões porque achamos conveniente a adopção, desde já, dos limiares de poluição propostos pela OMS;

b) Sendo a circulação automóvel a principal responsável pela poluição atmosférica de fundo na cidade de Lisboa, será na regulamentação adequada do trânsito e na fiscalização das condições de funcionamento dos motores que deverão incidir, prioritariamente, as medidas de correcção;

c) Instalações fixas de queima e instalações industriais são, também, responsáveis por uma poluição localizada. O controlo das suas condições de funcionamento torna-se indispensável.

## 2.2 — Zona do Barreiro-Seixal

### 2.2.1 — Equipamento e tipo de determinações

O estudo da poluição na área referida tem sido efectuado com os elementos colhidos nos «postos fixos» da CUF e da SN e, a partir de 1972, nos «postos móveis» a cargo do INSA.

### POSTOS FIXOS

A localização e o equipamento dos vários postos constam do Quadro X. Na planta III indica-se a localização dos postos fixos e, também, a das principais fontes de poluição.

As determinações efectuadas, com o equipamento existente, são as seguintes:

a) *Aparelhos SF* — Determinações bi-semanais de SO<sub>2</sub> e fumos negros;

## QUADRO X

### Localização dos postos fixos

| Postos<br>C. U. F. | Local                            | Equipamento<br>(a)                           | Postos<br>S. N. | Local                | Equipamento<br>(a) |
|--------------------|----------------------------------|----------------------------------------------|-----------------|----------------------|--------------------|
| 1                  | Campo do Luso                    | D-Pb-SF-HF<br>H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> | 1               | Laboratório da S. N. | D-Pb               |
| 2                  | Alto do Seixalinho               | D-Pb-SF-HF<br>H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> | 4               | Seixal               | D-Pb               |
| 3                  | Casquilhos                       | D-Pb                                         | 5               | Azinheira            | D-Pb               |
| 4                  | Pátio Albers                     | SF-HF-<br>H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>     | 6               | Palhais              | D-Pb               |
| 5                  | Barra-a-Barra<br>(lado Poente)   | Pb-SF                                        | 7               | Lagoa Seca           | D-Pb               |
| 6                  | Barra-a-Barra<br>(lado Nascente) | D-SF-Pb                                      | 8               | Arrentela            | D-Pb               |
| 7                  | Laboratório de gases             | SF                                           | 9               | Quinta Grande        | D-Pb               |
|                    |                                  |                                              | 10              | Bomba de gasolina    | D-Pb               |

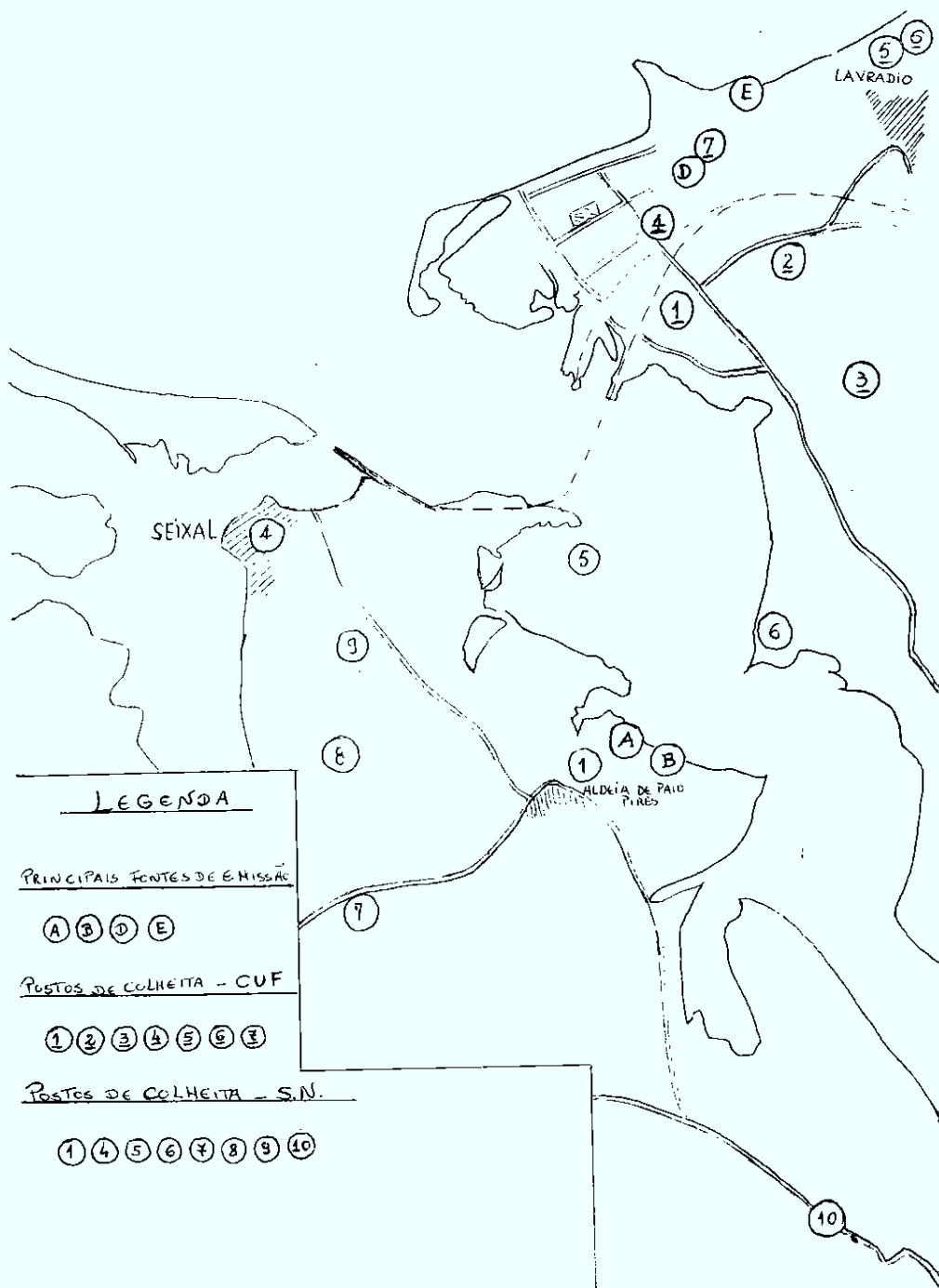
(a) D — deposímetro; Pb — Peróxido de chumbo; SF — Aparelho SF; HF — Ácido fluorídrico; H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> — Ácido fosfórico.

# PLANTA III

## Planta da zona Barreiro-Seixal

Localização dos Postos Fixos

### BARREIRO



b) *Deposímetros* — Determinações mensais de pH, matéria insolúvel total, matéria solúvel em CS<sub>2</sub> (alcatrões), cinzas, outras matérias combustíveis, matéria solúvel total, sólidos totais, Ca<sup>++</sup>, Cl<sup>-</sup> e SO<sub>4</sub>, nos deposímetros da CUF; nos deposímetros da SN, somente sólidos totais;

c) *Aparelhos de peróxido de chumbo* — Determinações mensais e trimestrais de SO<sub>2</sub>, respectivamente, nos aparelhos da CUF e SN.

Nos postos 1, 2 e 4 da CUF efectua-se, também, determinações quinzenais dos ácidos fluorídrico e fosfórico, por períodos de 1 hora e de 5 horas, respectivamente.

#### POSTOS MÓVEIS

O Laboratório de Higiene Industrial deu início ao estudo por postos móveis em Março de 1972, utilizando, para o efeito, a viatura e o equipamento para colheitas de curta duração já referidos.

O estudo foi orientado, no presente caso, no sentido de se avaliar o grau de poluição originado por alguns dos poluentes emitidos pelas indústrias locais.

Escolheram-se 19 pontos, distribuídos pela área referida e localizados conforme o indicado na planta IV, para funcionarem de postos móveis.

Os poluentes estudados e os postos em que os mesmos foram medidos foram os seguintes:

- SO<sub>2</sub>, em todos os postos excepto nos 13 e 14;
- NH<sub>3</sub>, nos postos 10 a 14, inclusive;
- HF, nos postos 1 a 10, inclusive;
- O<sub>3</sub>Fe, nos postos 15 a 19, inclusive.

A duração das colheitas oscilou entre 20 e 30 minutos.

#### 2.2.2 — *Apreciação de alguns dos resultados obtidos*

Escolheram-se, para dar uma panorâmica da poluição na área do Barreiro-Seixal, os resultados referentes a:

— anidrido sulfuroso; resultados obtidos nos postos SF da CUF e nas colheitas de curta duração efectuadas pelo INSA;

— ácidos fluorídrico e fosfórico; resultados obtidos pela CUF.

Para avaliação do grau de poluição sulfurosa servimo-nos dos limiares propostos pela OMS, já referidos anteriormente, dos propostos pela Environmental Protection Agency (1) (EPA) dos E. U. A., e, ainda, de outros em vigor em alguns países (1).

A escolha dos limiares foi condicionada à possibilidade de comparação com os dados disponíveis.

Temos assim:

a) Limiares referentes a médias anuais:

- E.P.A. — 80 µg/m<sup>3</sup> (protecção da saúde)
- 60 µg/m<sup>3</sup> (protecção da fauna, flora e materiais)

— Bélgica — 150 µg/m<sup>3</sup> (zona de protecção especial)

b) Limiares referentes a médias mensais:

— Finlândia e Suécia — 125 µg/m<sup>3</sup>

c) Limiares referentes a médias de 30 minutos:

— Finlândia e Suécia — 625 µg/m<sup>3</sup>

— R. F. A. e Checoslováquia — 500 µg/m<sup>3</sup>

Para o ácido fluorídrico as únicas concentrações limiares de que temos conhecimento são as referidas por Stern (1):

— Países Baixos — 10 µg/m<sup>3</sup> (média de 24 horas)

— U. R. S. S. — 5 µg/m<sup>3</sup> (média de 24 horas)

— 20 µg/m<sup>3</sup> (média de 20 minutos)

(1) C. I. T. E. P. A., Normes de Concentrations de Polluants dans l'Air Ambiant par Pays, Mise au Courant Documentaire n.º 35, 1971.

(1) Stern, A., Air Pollution, 1972.

Quanto ao ácido fosfórico, como desconhecemos limiares para o ar exterior, apresentamos os limiares para os locais de trabalho propostos pela «American Conference of Governmental Industrial Hygienists»:

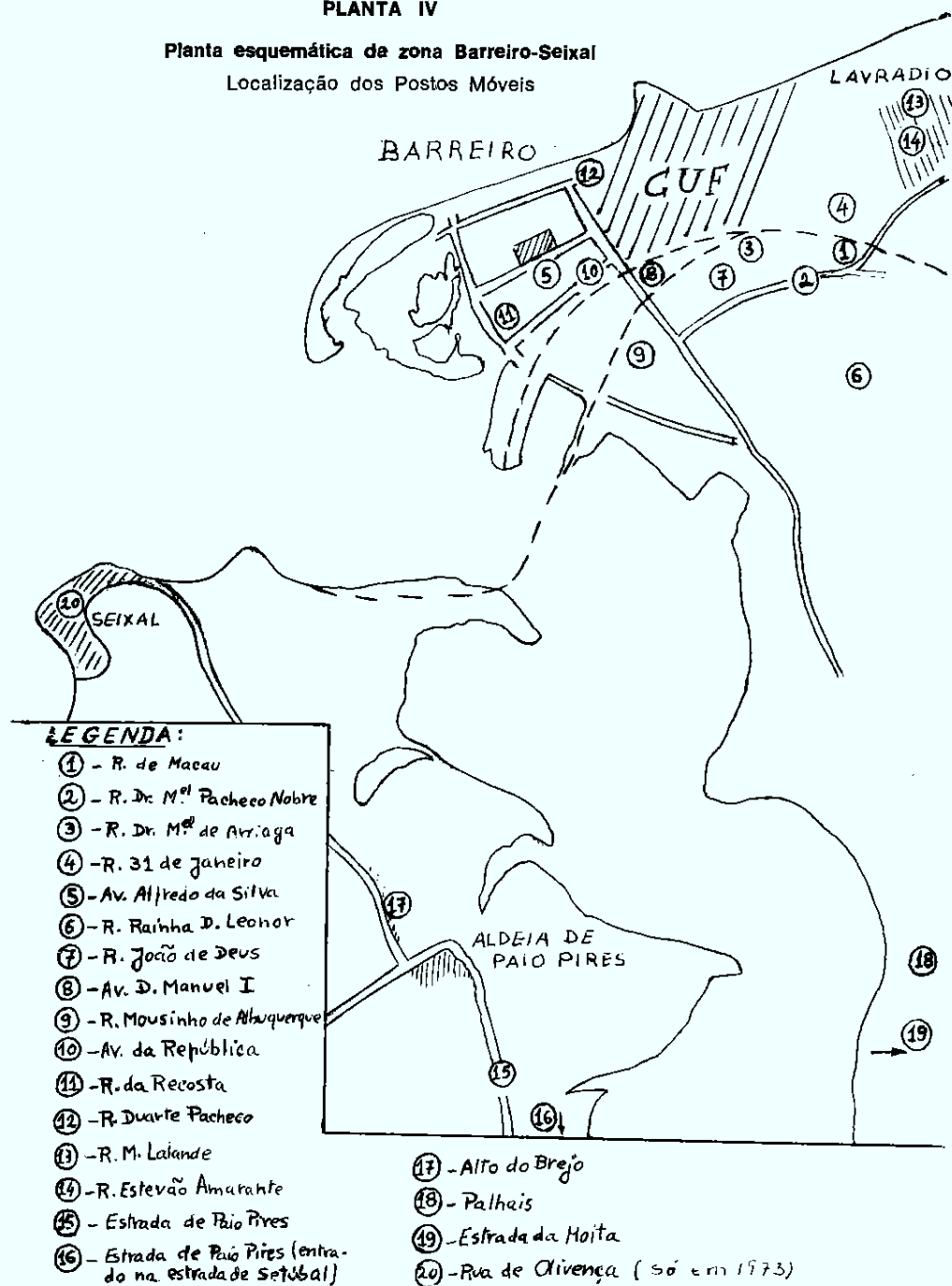
— Média ponderada para 8 horas de trabalho —  $1000 \mu\text{g}/\text{m}^3$

— Oscilação máxima admissível —  $3000 \mu\text{g}/\text{m}^3$

#### PLANTA IV

##### Planta esquemática da zona Barreiro-Seixal

Localização dos Postos Móveis



**QUADRO XI**

**Teores de SO<sub>2</sub>, em µg/m<sup>3</sup> — Posto 1 (SF) da CUF**

**Médias mensais e anuais — 1967 a 1970**

| Mês \ Ano | 1967 | 1968 | 1969 | 1970 |
|-----------|------|------|------|------|
| Janeiro   | —    | 191  | 9    | 41   |
| Fevereiro | 55   | 58   | 26   | 122  |
| Março     | 81   | 205  | 68   | 179  |
| Abril     | 116  | 88   | 226  | 241  |
| Maio      | 94   | 216  | 125  | 180  |
| Junho     | 128  | 308  | 158  | 220  |
| Julho     | 179  | 392  | 317  | 157  |
| Agosto    | 239  | 425  | 292  | 145  |
| Setembro  | 122  | 326  | 154  | 178  |
| Outubro   | 94   | 238  | 98   | 139  |
| Novembro  | 80   | 120  | 97   | 129  |
| Dezembro  | 206  | 158  | 154  | 42   |
| Média     | 127  | 219  | 144  | 148  |

**QUADRO XII**

**Teores de SO<sub>2</sub>, em µg/m<sup>3</sup> — Postos SF da CUF**

**Médias mensais e anuais — 1971 e 1972**

| Mês \ Postos | 1    |      | 2    |      | 4    |      | 5    |      | 6    |      | 7    |      |
|--------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|              | 1971 | 1972 | 1971 | 1972 | 1971 | 1972 | 1971 | 1972 | 1971 | 1972 | 1971 | 1972 |
| Janeiro      | 32   | 126  | —    | 143  | —    | 1424 | —    | 137  | —    | 78   | —    | 163  |
| Fevereiro    | 135  | 100  | —    | 154  | —    | 355  | —    | 147  | —    | 143  | —    | 258  |
| Março        | 692  | 176  | —    | 114  | —    | 348  | —    | 48   | —    | 75   | —    | 240  |
| Abril        | 80   | 348  | —    | 220  | —    | 984  | —    | 35   | —    | 28   | —    | 214  |
| Maio         | 219  | —    | 213  | —    | 474  | —    | —    | —    | —    | —    | —    | —    |
| Junho        | 455  | 110  | 169  | 297  | 985  | 20   | —    | 46   | —    | 52   | —    | 84   |
| Julho        | 390  | 105  | 261  | 206  | 1245 | 70   | —    | 97   | —    | 138  | —    | 126  |
| Agosto       | 716  | 132  | 350  | 333  | 2249 | 166  | 202  | 219  | —    | 198  | —    | 579  |
| Setembro     | 680  | 162  | 306  | 147  | 1717 | 138  | 153  | 349  | 112  | 144  | —    | 269  |
| Outubro      | 296  | 14   | 120  | 22   | 1215 | 44   | 27   | 38   | 38   | 18   | 386  | 115  |
| Novembro     | 329  | 92   | 192  | 88   | 1144 | 193  | 64   | 16   | 50   | 53   | 174  | 349  |
| Dezembro     | 142  | 61   | 110  | 61   | 664  | 208  | 67   | 3    | 67   | 21   | 342  | 291  |
| Média        | 360  | 119  | 215  | 149  | 1212 | 329  | 103  | 95   | 56   | 79   | 301  | 224  |



## ANIDRIDO SULFUROSO

Nos Quadros XI e XII apresentam-se as médias mensais e anuais de  $\text{SO}_2$  obtidas nos postos SF da CUF, durante o período de 1967 a 1972.

Dos valores apresentados verifica-se que a poluição sulfurosa no Barreiro é elevada.

As médias anuais registadas nos vários postos foram sempre superiores aos limiares de  $60 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (OMS e EPA) e de  $80 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (EPA) com excepção das do posto 6.

O limiar de  $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (Bélgica) foi, também, sempre excedido nos postos 4 e 7, no posto 1, nos anos de 1968 e 1971 e no posto 2 em 1971. Os anos de 1968 e 1971 foram, aliás, os que registaram, no período considerado, uma poluição sulfurosa mais elevada.

Como era de esperar, muitas são as médias mensais que excedem o limiar de  $125 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (Finlândia e Suécia). A percentagem de médias mensais que excederam, por ano e por posto, este limiar consta do Quadro XIII.

Nota-se, contudo, uma melhoria apreciável da situação no decorrer de 1972, especialmente a partir do mês de Setembro, embora nos postos 4 e 7 os valores registados sejam, ainda, bastante elevados.

Os teores de anidrido sulfuroso correspondentes às colheitas de curta duração (Quadro XIV) confirmam os outros resultados. Embora se tivessem obtido alguns valores relativamente baixos, muitos foram os que excederam os limiares de  $625 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (Finlândia e Suécia) e de  $500 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (R. F. A. e Checoslováquia), respectivamente, 34 e 40%.

Quanto à região do Seixal, as únicas determinações volumétricas de  $\text{SO}_2$  de que dispomos são as das colheitas de curta duração efectuadas pelo INSA.

Os valores obtidos (Quadro XIV) são relativamente baixos, embora que possa ter havido um erro por defeito devido à interferência dos óxidos de ferro, abundantes na região e cuja acção não foi bloqueada.

## ACIDOS FLUORÍDRICO E FOSFÓRICO

Nos Quadros XV e XVI apresentam-se os valores médios anuais e os valores máximos respeitantes, respectivamente, ao ácido fluorídrico e ao fosfórico no período de 1969 a 1972, inclusive.

Da observação dos valores do Quadro XV parece poder inferir-se que a população pelo ácido fluorídrico tende a diminuir não apresentando valores elevados.

Os teores médios foram sempre inferiores a  $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (Países Baixos) e a  $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (U. R. S. S.) com excepção do posto 1 que excedeu, em 1969, o limiar de  $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ .

Os valores máximos foram sempre inferiores a  $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (U. R. S. S.) excepto no posto 1 em 1969 e no posto 4 em 1971.

Os teores de ácido fosfórico (Quadro XVI), pelo contrário, são excessivamente elevados e aumentaram significativamente em 1972.

Os valores médios mensais obtidos nesse ano foram superiores à concentração média diária admissível para os locais de trabalho e, nos postos 1 e 4, obtiveram-se valores máximos superiores à flutuação máxima admissível de  $3000 \mu\text{g}/\text{m}^3$ .

### QUADRO XIII

Número de meses, em percentagem, com teores de  $\text{SO}_2$  superiores a  $125 \mu\text{g}/\text{m}^3$   
1967 a 1972

| Posto | Ano  |      |      |      |      |      |
|-------|------|------|------|------|------|------|
|       | 1967 | 1968 | 1969 | 1970 | 1971 | 1972 |
| 1     | 36   | 75   | 50   | 75   | 83   | 45   |
| 2     | —    | —    | —    | —    | 75   | 64   |
| 4     | —    | —    | —    | —    | 100  | 73   |
| 5     | —    | —    | —    | —    | 40   | 36   |
| 6     | —    | —    | —    | —    | 0    | 36   |
| 7     | —    | —    | —    | —    | 100  | 82   |

# QUADRO XIV

## Concentrações de SO<sub>2</sub>, µg/m<sup>3</sup>

Colheitas de duração entre 20 e 30 minutos — 1972

| CONCENTRAÇÕES DE SULFATO DE SO <sub>2</sub> |                                     |       |                 |                                     |       |     |   |
|---------------------------------------------|-------------------------------------|-------|-----------------|-------------------------------------|-------|-----|---|
| Local<br>(Ref.)                             | SO <sub>2</sub> , µg/m <sup>3</sup> |       | Local<br>(Ref.) | SO <sub>2</sub> , µg/m <sup>3</sup> |       |     |   |
|                                             | Valores médios                      | Média |                 | Valores médios                      | Média |     |   |
| 1                                           | 386                                 | 156   | 5               | 49                                  | 92    |     |   |
|                                             | 437                                 |       |                 | 29                                  |       |     |   |
|                                             | 28                                  |       |                 | 251                                 |       |     |   |
|                                             | 28                                  |       |                 | 38                                  |       |     |   |
|                                             | 14                                  |       | 6               | 763                                 | 532   |     |   |
|                                             | 160                                 |       |                 | 200                                 |       |     |   |
| 37                                          | 634                                 |       |                 |                                     |       |     |   |
| 2                                           | 634                                 | 424   | 7               | 2251                                | 1196  |     |   |
|                                             | 109                                 |       |                 | 140                                 |       |     |   |
|                                             | 1328                                |       | 8               | 1348                                | 639   |     |   |
|                                             | 23                                  |       |                 | 151                                 |       |     |   |
|                                             | 354                                 |       |                 | 189                                 |       |     |   |
|                                             | 500                                 |       |                 | 869                                 |       |     |   |
| 17                                          | 9                                   | 2174  | —               |                                     |       |     |   |
| 123                                         |                                     | 11    |                 |                                     |       |     |   |
| 3                                           | 200                                 | 259   | 10              | 732                                 | 521   |     |   |
|                                             | 380                                 |       |                 | 857                                 |       |     |   |
|                                             | 554                                 |       |                 | 0                                   |       |     |   |
|                                             | 37                                  |       |                 | 1005                                |       |     |   |
|                                             | 4                                   |       | 783             | 510                                 | 11    | 743 | — |
|                                             |                                     |       | 968             |                                     |       | 105 |   |
| 414                                         |                                     | 12    | 11              |                                     | —     |     |   |
| 980                                         | 15                                  |       | 42              | 21                                  |       |     |   |
| 714                                         |                                     | 16    | 0               |                                     |       |     |   |
| 117                                         | 17                                  |       | 99              | 39                                  |       |     |   |
| 46                                          |                                     | 18    |                 |                                     |       |     |   |
| 60                                          | 18                                  | 6     | —               |                                     |       |     |   |
|                                             | 19                                  | 14    | —               |                                     |       |     |   |

### 2.2.3 — Conclusões

Do exposto conclui-se que:

a) A poluição na zona do Barreiro é complexa e bastante elevada apresentando características de uma poluição industrial deficientemente controlada;

b) Embora a poluição sulfurosa e a devida ao ácido fluorídrico tenham diminuído nos últimos meses de 1972 e admitindo, mesmo,

que os seus níveis sejam, actualmente, quase aceitáveis, nem por isso o problema da poluição do ar no Barreiro pode ser considerado resolvido.

De facto, sabe-se que muitos outros poluentes existem na zona do Barreiro uns já em estudo, como é o caso do ácido fosfórico, que se verifica existir em concentrações muito elevadas, outros mal conhecidos como a amónia, cujos níveis se suspeita que estejam a aumentar, e outros, ainda, dos quais

### QUADRO XV

Teores de ácido fluorídrico, em  $\mu\text{g}/\text{m}^3$

Médias anuais e valores máximos médios — Colheitas de 1 hora

Determinações quinzenais — 1969 a 1972

| Posto       | 1     |        | 2     |        | 4     |        |
|-------------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| Ano<br>Teor | Médio | Máximo | Médio | Máximo | Médio | Máximo |
| 1969        | 9,5   | 30,5   | —     | —      | —     | —      |
| 1970        | 3,2   | 16,5   | —     | —      | —     | —      |
| 1971        | 2     | 12     | 3     | 10     | 3     | 21     |
| 1972        | 4     | 15,9   | 2,5   | 7,7    | 2,3   | 9      |

### QUADRO XVI

Teores de ácido fosfórico, em  $\mu\text{g}/\text{m}^3$

Médias anuais e valores máximos médios — Colheita de 5 horas

Determinações quinzenais — 1969 a 1972

| Posto       | 1     |        | 2     |        | 4     |        |
|-------------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| Ano<br>Teor | Médio | Máximo | Médio | Máximo | Médio | Máximo |
| 1969        | 424   | 1670   | —     | —      | —     | —      |
| 1970        | 274   | 1466   | —     | —      | —     | —      |
| 1971        | 371   | 1898   | 442   | 2066   | 405   | 2372   |
| 1972        | 1668  | 4291   | 1143  | 2774   | 1341  | 3025   |

pouco ou nada se conhece agora, como sejam o arsénio e o ácido clorídrico, e cujo estudo imediato se impõe.

Daí a necessidade de uma sistematização do estudo da poluição, baseada no conhecimento exacto dos produtos emitidos, e de uma extrema prudência na avaliação da sua nocividade. Todos sabemos que, em regra, os poluentes atmosféricos não actuam isoladamente pela sua toxicidade específica mas, sim, associados a outras substâncias cuja acção

combinada produz efeitos sinérgicos. Outras substâncias podem, ainda e nessas condições, ser tornadas mais nocivas do que as que existiam isoladas primitivamente.

c) A poluição na zona do Seixal, à parte os aspectos indesejáveis dos fumos e poeiras, não parece muito elevada embora não existam dados suficientemente precisos no respeitante à poluição originada pelos principais poluentes emitidos, nomeadamente anidrido sulfuroso e óxidos de ferro.



## NOTA SOBRE O CÁLCULO DA DIMENSÃO DE AMOSTRAS (1)

F. Galvão de Melo \*

Um dos problemas delicados da teoria da amostragem é o da fixação do número de observações permitindo obter níveis de precisão desejáveis e fixados à priori. Obtido um estimador, função de uma amostra, para se determinar a sua precisão é necessário conhecer certos parâmetros da população que, por sua vez, deverão ser estimados a partir da amostra o que parece conduzir a um círculo vicioso. (2)

Formalmente o problema pode esquematizar-se do seguinte modo:

— Seja  $v$  uma população e  $X$  uma característica mensurável (variável aleatória) dos indivíduos de  $v$ . Para estimar um parâmetro  $\theta$  de  $v$  (relativamente à característica mensurável  $X$  em estudo) observa-se uma amostra aleatória  $x_1, x_2, \dots, x_n$  de  $X$  e escolhe-se uma função conveniente  $\theta^* = \theta^*(x_1, \dots, x_n)$  da amostra. (3) Fixado um nível de significância  $\alpha$  (em geral  $\alpha = 5\%$  ou  $\alpha = 1\%$ ) seja  $E$  um valor tal que o intervalo  $(\theta^* - E, \theta^* + E)$  embora o ponto  $\theta$  com uma probabilidade igual a  $1 - \alpha$ .

E diz-se o erro máximo tolerado (4) para o nível de significância  $\alpha$ .

$E = \psi(D, n)$  é função da dimensão  $n$  da amostra e, por meio de  $\theta(x_1, \dots, x_n)$ , dum parâmetro de dispersão  $D$  da variável aleatória  $X$ . Conhecido  $D$  e fixado  $E$  a relação  $E = \psi(D, n)$

é em geral facilmente resolúvel em relação a  $n$  obtendo-se assim este valor como função de  $D$  e  $E$ :

$$n = \gamma(D, E)$$

No que se segue vamos-nos limitar ao caso importante em que o parâmetro a estimar é um valor médio, ou uma proporção (percentagem).

Do ponto de vista das aplicações, se a população amostrada é muito grande pode-se considerar infinita, permitindo o ajuste por um modelo contínuo. Assim, para valores grandes de  $n$  ( $n \geq 30$  ou  $n \geq 50$ ) a distribuição de amostragem de  $\bar{X}_n$  (média de amostras de dimensão  $n$ ) é aproximadamente normal de valor médio (valor médio da população) e desvio-padrão (ou erro-padrão)  $\sigma/\sqrt{n}$ , sendo  $D = \sigma$  o desvio-padrão da população. (5)

(1) Apêndice ao trabalho «Princípios elementares da teoria da amostragem», publicado no volume I dos Arquivos do Instituto Nacional de Saúde (293-317).

(2) Veja-se, por exemplo, F. A. Gonçalves Ferreira e L. A. Cayolla da Motta, «Estatística para Médicos de Saúde Pública», págs. 211-217.

(3) Cf. Cap. 4: Problemas de estimação.

(4) Note-se que quanto maior é  $E$ , menor é a precisão e vice-versa. Pode-se então medir a precisão pelo inverso de  $E$ :  $1/E$ .

(5) Este resultado é um caso particular do Teorema Limite Central.

\* Assistente de Epidemiologia e Bioestatística da Escola Nacional de Saúde Pública — Lisboa.

De um modo geral, ao desvio-padrão da distribuição de amostragem de uma estatística dá-se o nome de *erro-padrão*.

1. Caso da estimação de um valor médio (média calculada sobre uma população)

a)  $\sigma$  conhecido

Seja  $X$  a característica mensurável em estudo sobre a população <sup>(6)</sup>,  $\sigma$  o desvio-padrão de  $X$  suposto conhecido e  $n$  a dimensão a calcular da amostra.

O estimador a usar para o v.m. da população é a média  $\bar{X}_n$  cujo desvio-padrão (erro-padrão, neste caso) é  $\sigma^* = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \frac{\sigma}{\sqrt{Vn}}$

Fixado o erro máximo tolerado  $E = K\sigma^*$ , com  $K$  função do nível de significância fixado, tem-se  $\sigma^* = \frac{E}{K} = \frac{\sigma}{\sqrt{Vn}}$ , tirando-se desta relação

$$n = \frac{K^2 \sigma^2}{E^2} \quad (1)$$

Pretendendo-se um intervalo de confiança de 95% ( $\alpha=5\%$ ), das tabelas da lei normal tira-se  $K=1,96 \approx 2$

Tomando  $K=3$  obtém-se um intervalo de confiança de 99,8%.

Assim, e para  $\alpha=5\%$  ( $K \approx 2$ ), tem-se

$$n = \frac{4\sigma^2}{E^2} \quad (2)$$

a que corresponde o erro-padrão  $\frac{E}{2}$  da média da amostra.

Note-se que se em (2) tomarmos  $E=2$  vem  $n=\sigma^2$ .

Para esclarecer um pouco melhor, consideram-se os dois exemplos seguintes:

Exemplo 1 — Seja  $X_1, \dots, X_n$  uma amostra de dimensão  $n$  de uma população normal de valor médio  $\mu$  (desconhecido).

Poderia, por exemplo, tratar-se da medição do perímetro torácico de escolares de um grupo etário bem definido, cuja média real ( $\mu$ ) é desconhecida, mas cujo desvio-padrão (ou  $\sigma$ ) se estimou, por sondagem anterior, num pequeno número de alunos. Essa estimativa teria permitido obter o valor de variância  $\sigma^2=40$ . Pretende-se determinar  $n$ , isto é, o número de indivíduos que deverá conter uma amostra para

determinação do valor médio do respectivo perímetro torácico de modo que haja uma probabilidade de 95% de  $\mu$  estar compreendido no intervalo  $(\bar{X}_n-0,75, \bar{X}_n+0,75)$ . Tem-se  $E=0,75$  e de (2) tira-se imediatamente

$$n = \frac{4 \times 40}{(0,75)^2} = \frac{160}{0,562} = 284,7 \text{ e } n=285$$

Exemplo 2 — Medindo, electricamente por exemplo, tempos de reacção perante um dado estímulo, num grupo de alunos, um psicólogo estimou que o desvio-padrão respectivo é da ordem de 0,05 segundos.

Qual deverá ser o número mínimo de medições para que haja uma confiança de a) 95%, b) 99% de que o erro do tempo médio de reacção estimado não exceda 0,01 segundos?

$$\text{a) } K \approx 2, \quad n = \frac{4 \times 0,0025}{0,0001} = 100$$

$$\text{b) } K \approx 2,6, \quad n = \frac{6,76 \times 0,0025}{0,0001} = 169$$

b)  $\sigma$  desconhecido

Teoricamente e para  $n>30$  a variância empírica  $s^2$  (variância da amostra) pode-se tobar para valor de  $\sigma^2$ . De um modo geral, a precisão da estimação  $s^2$  é considerada suficiente para o problema do cálculo de  $n$ . No entanto, pretendendo-se trabalhar com maior rigor devem-se examinar várias amostras-piloto de dimensão conveniente (função em geral do tempo disponível, do custo previsto e da quantidade de informação já existente sobre o estudo em causa).

Se os diferentes  $s^2$  obtidos para as amostras observadas diferem muito, é então aconselhável aumentar as dimensões das amostras-piloto de modo a conseguirem-se valores estabilizados.

Obtendo-se para as amostras-piloto variâncias com pequenas oscilações, toma-se para variância da população a média das variâncias empíricas observadas.

<sup>(6)</sup> Note-se que sobre uma mesma população podem-se estudar várias características mensuráveis,  $X, Y, Z, \dots$ , de variâncias diferentes. Isto implica que uma mesma amostra de dimensão  $n$  dará estimações de diferente precisão relativamente a cada uma das variáveis.

Certos métodos práticos permitem determinar a dimensão  $n$  dada a precisão e vice-versa, em função da variância, mas em função do *intervalo de variação* (i.v.) das observações (diferença entre o maior e o menor dos valores observados).

Note-se que para uma mesma precisão, quanto menor for o i.v. (menor portanto a dispersão dos valores observados) menor é o  $n$  requerido.

Inversamente, para um mesmo  $n$ , quanto menor for o i.v. maior é a precisão.

O ábaco seguinte relaciona as variáveis i.v.,  $n$  e  $E$  e é válido para distribuições normais ou aproximadamente normais.

A partir dum inquérito-piloto, estimou-se que o intervalo de variação das observações não deve exceder 20. Nestas condições e para  $E=0,4$ , unindo os pontos 20 e 0,4 das duas primeiras escalas, conclui-se que se deve tomar um  $n$  aproximadamente igual a 300.

## 2. Caso da estimação de uma proporção ou percentagem (Caso particular de uma média)

Seja  $n$  o número de elementos da amostra a calcular,  $p$  a proporção de indivíduos da população gozando de certo atributo e  $q=1-p$  a proporção complementar, isto é, a proporção dos indivíduos não possuindo o atributo em causa.

Sejam  $p^*$  e  $q^*=1-p^*$  as proporções correspondentes observadas numa amostra de dimensão  $n$ .

De acordo com o teorema de Moivre, para valores grandes de  $n$ , a v.a.  $p^*$  tem uma distribuição aproximadamente normal de v.m.  $p$

$$\text{e variância } \sigma^2 = \sigma^{*2} = \frac{pq}{n}$$

Nestas condições, sendo  $E=K\sigma^*$  o erro máximo tolerado, obtém-se

$$E=K\sigma^*=K\sqrt{\frac{pq}{n}}, E^2=\frac{K^2 pq}{n}, n=\frac{K^2 pq}{E^2} \quad (3)$$

Em particular, para  $K=2$  que corresponde a um nível de significância de 5% ( $\alpha=0,05$ ), vem

$$n=\frac{4 pq}{E^2} \quad (4)$$

No entanto  $p$  e  $q$  são desconhecidos, sendo necessário, para calcular  $n$ , entrar com as estimativas  $p^*$  e  $q^*$  em (3) [ou (4)]. Esta substituição é válida para valores grandes de  $n$ .

Usualmente e havendo diferentes percentagens a estimar sobre uma mesma população, toma-se a hipótese mais desfavorável,  $p=q=50\%=0,5=1/2$ , obtendo-se respectivamente

$$n=\frac{K^2 \frac{1}{4}}{E^2}=\frac{K^2}{4 E^2} \quad (3')$$

$$n=\frac{1}{E^2} \quad (4')$$

Assim, se se pretende que as percentagens calculadas sobre uma amostra não tenham, por ex., um erro superior a  $\pm 2\%$  é necessário tomar  $n=2.500$ .

$$\text{De facto } E=2\%=0,02, E^2=0,0004 \text{ e } \frac{1}{E^2}=2.500$$

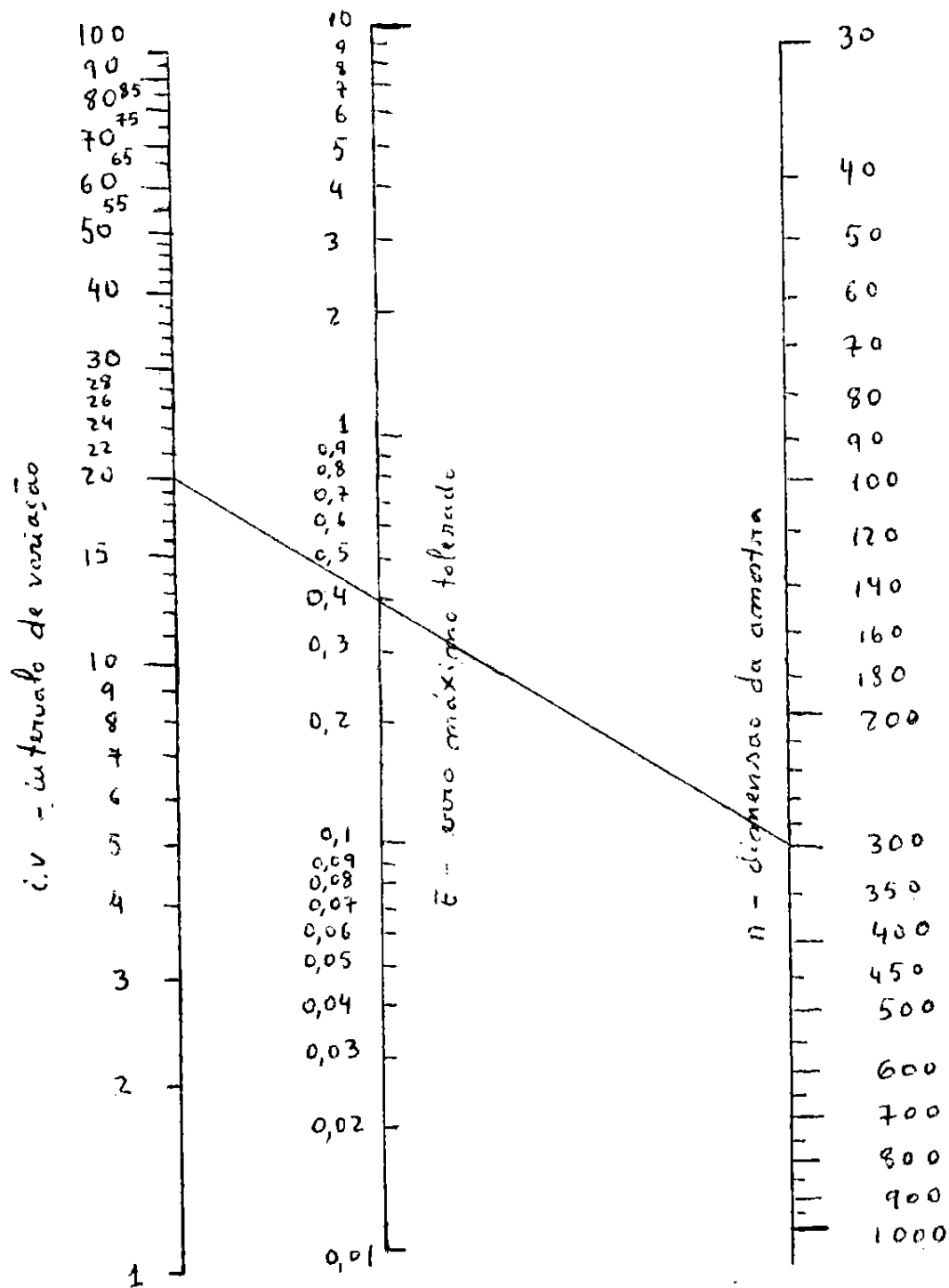
As considerações feitas, baseadas na aproximação normal, são válidas para percentagens compreendidas entre 5% e 95% e valores grandes de  $n$ .

Para valores de  $p$  inferiores a 0,05 (ou superiores a 0,95) deve-se usar a aproximação de Poisson.

Para valores pequenos de  $n$  ( $n < 20$  ou  $n < 30$ ) deve-se usar a distribuição exacta, isto é, a distribuição binomial.

Usando as aproximações convenientes para cada caso é possível construir tabelas relacionando a dimensão  $n$ , o erro máximo tolerado  $E$  e o nível de significância  $\alpha$ .

Vejam-se, por ex., as tabelas 1 e 2 em Gonçalves Ferreira e Cayolla da Motta, op. cit. (págs. 218 e 219), que podem servir de exemplo do tipo de tabelas mencionadas e ser utilizadas para cálculo da dimensão das amostras, nas circunstâncias apropriadas.



(Segundo A. Lionzou, «Initiation pratique à la Statistique»)



# ORGANIZAÇÃO DE UM SERVIÇO LABORATORIAL PARA DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS CAUSADAS POR VIRUS ENTÉRICOS INTEGRADO NO INSA

*Maria Irene Graça Nunes<sup>1</sup>*

## I — INTRODUÇÃO

Organizar serviços laboratoriais, integrados em Institutos de Saúde Pública, é tarefa que obriga a esquemas diferentes dos habituais, para laboratórios de análises clínicas, condicionados à política de saúde do país a que se destinam.

É do conhecimento geral que o tipo de organização e de administração dos serviços de saúde varia de país para país, consoante as directrizes da política sanitária adoptada pelos respectivos Governos.

Entre nós, foi a publicação do Decreto-Lei n.º 413/71, de 27 de Setembro, que definiu e estabeleceu a linha orientadora de política de saúde a adoptar em Portugal e cujo objectivo «visa garantir o direito à saúde, bem como cooperar na segurança e promoção social dos indivíduos e dos seus agrupamentos naturais e valer aos seus estados de carência».

A luta pela saúde, como direito primário e natural de todo o ser humano, constitui, hoje em dia, preocupação constante dos responsáveis pelo bem-estar «físico mental e social» dos indivíduos.

Foi, de acordo com as funções dos Institutos de Saúde Pública e com as necessidades prioritárias da população portuguesa, no que diz respeito às doenças causadas por vírus entéricos e prevenção das mesmas, que deci-

dimos orientar o nosso trabalho, escolhendo para objectivo do presente estudo um laboratório com a categoria de central e de modo a poder fazer parte de qualquer Instituto de Saúde Nacional.

Pareceu-nos de interesse fazê-lo anteceder de algumas notas relativas à orgânica geral da rede nacional de laboratórios de saúde pública na qual evidentemente se integrará o serviço laboratorial para diagnóstico das doenças causadas por vírus entéricos e cuja organização nos propomos apresentar, constituindo os assuntos matéria versada com maior ou menor profundidade consoante a sua própria natureza e interesse que possam representar no objectivo a atingir.

\*

Na época actual qualquer laboratório de saúde pública (Bacteriologia, Virologia, Imunologia, etc.) deverá encontrar-se em condições de poder «contribuir para a descoberta, identificação e «contrôle» dos factores perigosos para a saúde da comunidade e para a investigação e a aplicação dos métodos apropriados para a promoção de saúde».

A Organização Mundial de Saúde tem vindo a prestar a maior atenção à estruturação dos laboratórios de saúde pública e a todos os problemas a eles ligados, constituindo os seus

<sup>1</sup> Técnico especialista, Laboratório de Virologia, Instituto Nacional de Saúde — Lisboa.

princípios orientadores, directrizes que os diferentes países seguem total ou parcialmente quando da organização dos seus próprios laboratórios.

Em Portugal, os laboratórios de saúde foram organizados obedecendo em grande parte aos princípios aconselhados pela Organização Mundial de Saúde, embora com ligeiras diferenças resultantes das condições económicas, sociais, demográficas, culturais e administrativas do País.

Os laboratórios de saúde nacionais formam uma rede unificada e estão integrados no sistema de cobertura médico-sanitária do País conseguida à custa das actividades dos centros de saúde «responsáveis pela integração e coordenação das actividades de saúde e assistência bem como pela prestação de cuidados médicos de base de natureza não especializada com o objectivo de assegurar a cobertura médico-sanitária da população».

Administrativamente dependentes da Direcção-Geral de Saúde, recebem ajuda e orientação técnica do Instituto Nacional de Saúde. Quanto ao grau de diferenciação tomaram as seguintes designações: centrais, distritais e concelhios. Os laboratórios centrais são representados pelos laboratórios de Lisboa e Porto do Instituto Nacional de Saúde, funcionando os distritais e concelhios nos centros de saúde das respectivas localidades.

A orgânica desta rede laboratorial funciona duma maneira simples, adoptando o chamado regime de complementaridade, uma vez que, os laboratórios concelhios podem recorrer aos distritais e estes aos centrais.

Foi, especialmente, a partir de 1970 que o número dos laboratórios de saúde pública aumentou e, actualmente, quase todos, senão todos os distritos do Continente, podem usufruir do benefício dum laboratório desta natureza.

Quanto aos laboratórios concelhios, a sua instalação está ainda em estado embrionário, o que, aliás, não constitui problema crucial, na medida em que o laboratório distrital dá assistência aos centros de saúde que se encontram na sua dependência, assegurando deste modo a cobertura médico-sanitária dessa população.

No que respeita às funções dos laboratórios, estas podem ser exercidas a nível local, limitando-se para isso a dar assistência aos respectivos centros de saúde, ou a nível geral,

quando por exemplo, se propõem avaliar por meio de inquéritos epidemiológicos o estudo imunitário da população, ou quais as doenças que nela prevalecem.

Embora possamos afirmar que todos os laboratórios existentes já prestaram grande contribuição à saúde, especialmente no campo da higiene do ambiente, protecção materno-infantil, doenças transmissíveis e cuidados médicos de base, muito haverá a esperar não só destes mas de todos os outros que venham a entrar em funcionamento, especialmente pela contribuição que podem dar à cobertura virológica do País que até agora tem sido deficiente, por razões compreensíveis, e feita exclusivamente pelos laboratórios de virologia de Lisboa e Porto do Instituto Nacional de Saúde.

Esperamos que esta situação possa muito em breve melhorar, quando os serviços de saúde tiverem à disposição laboratórios em número suficiente e a funcionarem de modo a contribuírem para a resolução dos problemas virológicos da população. Convém acentuar, no entanto, que esta cobertura sanitária só será levada a bom termo, conduzindo, portanto, a resultados de interesse para a saúde pública, se os laboratórios no seu conjunto funcionarem de harmonia com as directrizes que orientaram a sua estruturação e, se se verificar uma melhoria das condições socio-económicas da população.

Só assim poderemos estar em condições de tirar o máximo aproveitamento dos progressos no campo da saúde que a Organização Mundial prevê nos próximos 30 anos.

Embora seja arriscado fazer previsões no domínio da saúde pública a Organização Mundial de Saúde, ao fazê-lo, baseia-se na análise dos conhecimentos científicos e programas de saúde actuais. Segundo essas previsões será notório o progresso das medidas preventivas em vários sectores da saúde entre os quais se conta o das infecções por vírus.

## **II — ORGANIZAÇÃO DE UM SERVIÇO LABORATORIAL PARA DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS CAUSADAS POR VÍRUS ENTÉRICOS**

### **Importância do laboratório em saúde pública**

A existência de laboratórios para diagnóstico de doenças causadas por vírus entéricos, integrados em Institutos de Saúde Pública, é absolutamente imprescindível dado que, as

infecções causadas por este vírus estão largamente difundidas na população, especialmente entre as crianças, que se transformam, deste modo, nos principais agentes de transmissão dessas infecções, cuja incidência real não poderá ser avaliada sem a ajuda do laboratório, tanto mais que a grande maioria dos vírus entéricos causam doenças inaparentes ou apenas com sintomatologia ligeira, assumindo, no entanto, aspectos de máxima gravidade quando dão origem a paralisias graves devido à sua localização no sistema nervoso central (vírus da poliomielite, coxsackie A7 e outros). Quanto à morbilidade destas infecções, os elementos quantitativos referentes a extensão e características são extremamente reduzidos, exceptuando-se os que dizem respeito à poliomielite (formas francas da doença), porquanto se trata de doença de notificação obrigatória às autoridades sanitárias, o que, aliás, parece, nem sempre se cumprir.

Felizmente, como já afirmámos, a maior parte das infecções causadas pelos vírus entéricos não conduzem à morte, sendo geralmente benignas, ou mesmo inaparentes. No entanto, não poderemos afirmar o mesmo no respeitante à poliomielite. A introdução no nosso País da vacina oral a partir da década dos anos 60 conseguiu fazer baixar substancialmente o número de casos fatais, embora não completamente, o que prova a evidência que as estirpes selvagens continuam em circulação na população podendo dar origem a surtos epidémicos de maior ou menor extensão e gravidade em comunidades inadequadamente vacinadas.

É da rapidez do diagnóstico laboratorial que dependem as medidas a tomar pelas autoridades sanitárias, de modo a impedir a disseminação do vírus na população.

Encontramos, em todos os países desenvolvidos e em vias de desenvolvimento, Institutos de Saúde Pública cuja estrutura orgânica insere um serviço laboratorial suficientemente apetrechado, de modo a poder fazer face aos problemas das infecções causadas por vírus entéricos.

Não nos parece necessário continuar a demonstrar a importância e a justificar a existência de tais laboratórios como serviços complementares e essenciais nos sistemas de saúde, uma vez que o seguimento do nosso trabalho evidenciará cabalmente o papel relevante de tais laboratórios, muito especial-

mente pelo que será exposto acerca da «Vigilância epidemiológica» função que consideramos como uma das principais do laboratório de saúde pública.

### Funções do laboratório

1 — No momento presente, o laboratório não poderá funcionar sem serviços de rotina, de modo a corresponder às necessidades dos serviços de saúde locais, e a qualquer pedido de ajuda solicitado por clínicos ou serviços hospitalares não integrados na saúde;

2 — O laboratório terá procedimento idêntico em relação aos laboratórios distritais na sua dependência, enquanto estes não organizarem os seus próprios serviços, ou enquanto não dispuserem de pessoal treinado em técnicas virológicas, em número suficiente, de modo a poderem dedicar-se a elas convenientemente. Para tal, o laboratório deverá prestar aos laboratórios distritais todo o apoio técnico, fornecendo-lhes os meios de cultura e os reagentes necessários, e em quantidade correspondente ao volume de trabalho ali executado.

3 — Serviços de referência, tais como:

- a) Identificação das estirpes de vírus isoladas nos diferentes laboratórios do País, que o não tenham conseguido através das técnicas habituais;
- b) Preparação e padronização dos antígenos para diagnóstico;
- c) Manutenção das estirpes padrão e sua distribuição pelos diferentes laboratórios do País, de modo a serem usadas como estirpes de referência;
- d) Orientação e prestação de assistência técnica em caso de epidemias;
- e) Servir de consultor a outros laboratórios;
- f) Proceder ao estudo das características genéticas das estirpes de vírus de poliomielite isoladas no País;
- g) Preparação de pessoal destinado a trabalhar nos laboratórios de saúde;

4 — Vigilância epidemiológica

#### 4.1 — Conceito

Em 1969, a Organização Mundial de Saúde organizou um Seminário sobre «Métodos de vigilância de doenças transmissíveis» e nele se definiu a vigilância epidemiológica nos seguintes termos: «Estudo epidemiológico duma doença considerada como um processo dinâmico, onde intervêm a ecologia do agente infeccioso, hospedeiro, reservatório, vectores e o meio, assim como os mecanismos complexos que influenciam a extensão da infecção e a dimensão dessa infecção.»

No caso específico das doenças causadas pelos vírus entéricos poderemos afirmar que a vigilância consiste em «seguir a marcha das doenças e das infecções específicas observando a evolução da morbilidade e da mortalidade no espaço e no tempo assim como, em rastrear o agente etiológico circulante».

#### 4.2 — Importância das técnicas laboratoriais na evolução da vigilância epidemiológica

A vigilância epidemiológica progrediu e acentuou-se, à medida que iam surgindo novas técnicas laboratoriais, por meio das quais era possível isolar vírus, identificá-los e avaliar o estado imunitário do indivíduo ou das populações.

Também o estudo epidemiológico da poliomielite, só ficou completamente esclarecido quando se conseguiram isolar os vírus responsáveis por meio de técnicas laboratoriais.

Wickman, ao estudar a epidemia da poliomielite surgida em várias cidades suecas em 1905, emite a hipótese de que as infecções inaparentes deveriam, provavelmente, contribuir em grande parte para a propagação da poliomielite na população, o que na realidade veio a ser demonstrado cientificamente, mais tarde, pelas técnicas laboratoriais, contribuindo assim o laboratório para que o nome de Wickman pudesse e, com justiça, ficar ligado para sempre à história da poliomielite.

A partir do momento em que Enders e colaboradores (\*) conseguiram fazer crescer o vírus da poliomielite em cultura de células de vários tecidos, até à preparação da vacina, foi tudo questão de poucos anos e todos nós reconhecemos o valor extraordinário desta medida profiláctica, como arma de combate a uma doença que frequentemente deixava tristemente assinalada a sua presença nas populações.

#### 4.3 — Elementos de vigilância epidemiológica

Podemos mencionar alguns dos principais cuja contribuição para a vigilância epidemiológica é de extraordinária importância.

##### 4.3.1 Estudo das infecções inaparentes —

A vigilância epidemiológica poderá ser feita à custa do estudo das infecções inaparentes, muito frequentes, entre as infecções causadas pelos vírus entéricos.

O conceito de infecção inaparente desempenha papel de extraordinária importância na compreensão epidemiológica destas doenças, em que as formas subclínicas são, muitas vezes, em número superior ao de casos francos de doença. Só o laboratório, por meio das técnicas de isolamento ou serológicas de que dispõe, pode diagnosticar estes casos e fornecer elementos indispensáveis para o conhecimento da disseminação dos vírus na população e dos grupos etários em que eles predominam. Destes conhecimentos, resulta para a saúde pública achega valiosa, uma vez que a aplicação de qualquer vacina como medida profiláctica, só poderá ter eficácia quando aplicada em indivíduos com idade inferior à do grupo etário em que se verifica o maior número de infecções. Referimo-nos especificamente à vacina antipoliomielítica, a única de que dispomos como arma de combate contra infecções por enterovírus. Na realidade, são as infecções causadas pelos vírus da poliomielite as que constituem maior problema no âmbito da saúde das populações pela gravidade de que se podem revestir.

As infecções inaparentes constituem problemas de saúde pública na medida em que os indivíduos infectados são tão ou mais contagiantes do que os dos casos clínicos, com a agravante de não serem controlados, constituindo deste modo verdadeiros reservatórios de vírus. Dando origem a anticorpos específicos representam factores de grande importância na determinação dos indivíduos susceptíveis às infecções por vírus entéricos.

---

(\*) Não queremos deixar de fazer referência a Enders, Weller e Robbins (1949) pela contribuição que deram aos conhecimentos da ciência virológica, uma vez que foi, especialmente, a partir das suas investigações que os métodos de cultura de células se tornou largamente usado por todos os virologistas causando verdadeira revolução no estudo de vírus e dos problemas a eles ligados.

Como medida de vigilância epidemiológica, o laboratório deverá manter o «contrôle» das infecções inaparentes de modo a detectar qualquer situação que possa representar ou vir a representar perigo para a saúde dos indivíduos.

Para tal, poderá proceder à pesquisa de vírus em amostras de fezes de crianças com menos de 5 anos de idade por constituírem os principais reservatórios.

As amostras serão colhidas semanalmente ao longo do ano e corresponderão a diferentes áreas geográficas do País e em número representativo dessa população infantil. Serão excluídas as áreas geográficas onde recentemente se tenha procedido em larga escala à vacina contra a poliomielite.

**4.3.2 Estudo das águas residuais** — O isolamento dos vírus da poliomielite, a partir das águas residuais, tem coincido muitas vezes com o aparecimento na população de formas paralíticas de doença, o que explica perfeitamente o estudo sistemático das águas residuais como medida de saúde pública, além de constituir um método indirecto de avaliação da prevalência dos enterovírus na população, estudo este que, entre nós, não foi ainda possível realizar.

No entanto, pela importância de que se reveste, este assunto deverá constituir programa de trabalho a levar avante com a imprescindível colaboração dos laboratórios distritais e concelhios.

**4.3.3 Inquéritos serológicos** — Os inquéritos serológicos, como elementos de vigilância epidemiológica nas doenças causadas por vírus entéricos, são de extrema utilidade.

Assim, a campanha nacional de vacinação antipoliomielítica, a que já nos referimos, e iniciada em Outubro de 1965, foi precedida de inquérito serológico visando o estudo da distribuição dos anticorpos específicos na população portuguesa. Baseados nos resultados obtidos, puderam os responsáveis pela organização da campanha decidir em bases racionais quais os grupos etários a vacinar, isto é, quais os indivíduos em maior risco de infecção (3 meses aos 9 anos de idade).

O estado imunitário da população resultante de campanhas de vacinação é avaliado por meio de inquéritos serológicos constituindo medida de grande interesse em programas de saúde, pois que dos resultados obtidos dependerá o prosseguimento ou a alteração dos esquemas de vacinação adoptados no País.

É ainda através de inquéritos serológicos que poderemos ficar a conhecer a presença das infecções antigas e das recentes na população, adquirindo para a saúde pública portuguesa um interesse especial, na medida em que os conhecimentos relativos à morbilidade da maioria destas infecções são extremamente limitadas.

#### *4.4 — A vigilância no caso especial da poliomielite*

A semelhança do que acontece em muitos países, as estirpes selvagens do vírus da poliomielite continuam a circular na população, apesar das campanhas de vacinação. Nem sempre é o vírus polio o responsável por infecções paralíticas, que podem ser causados por outros, tais como o vírus cosackie A7. Interessante, portanto, que o laboratório proceda ao diagnóstico de modo a não comprometer a vacina e ficar demonstrada a sua eficácia e inocuidade.

A vigilância da poliomielite dever ser preocupação constante das autoridades sanitárias e actividade permanente do laboratório de saúde pública, para o que reputamos imprescindível que os surtos epidémicos sejam rapidamente localizados, o vírus responsável isolado, identificado e estudado quanto às características genéticas (estirpe selvagem ou vacinal). A população será submetida a exames serológicos de modo a detectar os indivíduos não imunizados e os subimunizados.

Nas infecções pelo vírus da poliomielite, a relação das formas clínicas para os inaparentes é da ordem de 1:100, ou mesmo 1:1000, verificando-se assim que a vigilância epidemiológica baseada em informações clínicas não é suficiente, só o laboratório, com as possibilidades técnicas de que dispõe, pode ajudar as autoridades sanitárias nos programas de vigilância nacional. Para tal, deverá proceder à pesquisa de vírus sempre que surja um ou mais casos e continuar com este tipo de inquéritos nos períodos interepidémicos, o que terá a vantagem de rastrear vírus polio e todos os outros vírus entéricos circulantes na população.

O risco de infecção pelo vírus da poliomielite é de admitir, mesmo em países onde se conseguiu erradicar, quase completamente, a doença, e como tal, os clínicos deverão em casos de paralisia aguda, meningite asséptica

e encefalite, enviarem ao laboratório as amostras necessárias (sangue, líquido céfalo-raquidiano e fezes) de modo a tentar-se esclarecer a etiologia da doença.

## 5 — Avaliação dos serviços laboratoriais

A avaliação dos serviços laboratoriais faz parte das funções que devem ser atribuídas a laboratório com a categoria de central. Deverá, portanto, proceder à apreciação da qualidade dos resultados obtidos nos diferentes laboratórios na sua dependência.

### 5.1 — Avaliação do volume de trabalho

Referimos o volume de trabalho como aspecto particular da avaliação dos serviços laboratoriais. O volume de trabalho dependerá, evidentemente, de vários factores tais como:

- a) Maior ou menor número de indivíduos que utilizam os serviços do laboratório;
- b) Interesse dos médicos pelos exames laboratoriais;
- c) Pessoal do laboratório (número e qualificações);
- d) Condições de trabalho.

O volume de trabalho tem aumentado em todos os laboratórios mundiais e estão previstos aumentos médios anuais da ordem dos 20%, excluindo-se nesta estimativa os laboratórios que sistematicamente usam técnicas de automatização.

O rendimento de trabalho por técnico (\*) e, por mês, está calculado em cerca de 1000 análises, independentemente da sua natureza.

Este valor foi baseado em estudos feitos pelos serviços de saúde dos Estados Unidos não constituindo, no entanto, norma geral apenas poderá servir como referência em estudos comparativos.

O volume de trabalho, como não poderá deixar de ser, encontra-se ligado ao número de técnicos e respectivas qualificações e ainda às condições em que se processa o trabalho, factor bastante importante e a ser levado em consideração pelos que tiverem responsabilidade na orgânica de serviços laboratoriais.

### 5.2 — Eficácia do laboratório

Desde há muito tempo, se tenta encontrar métodos práticos, eficazes e de confiança por meio dos quais se possa avaliar a eficácia do laboratório.

Indicaremos alguns dos mais utilizados.

**5.2.1 Inquéritos de confiança** — O laboratório enviará aos diferentes laboratórios periféricos, amostras desconhecidas cuja composição só será conhecida pelo laboratório central. Estes inquéritos têm interesse não só quando elaborados à escala nacional, mas também quando são organizados em colaboração voluntária com laboratórios estrangeiros. Uma das dificuldades deste tipo de inquéritos é o envio das amostras que deverão chegar aos diferentes laboratórios em idênticas condições, o que se consegue facilmente em caso de amostras de soros que poderão ser enviadas liofilizadas.

No entanto, as dificuldades são enormes com certo tipo de produtos tais como líquidos céfalo-raquidianos. Quando o laboratório central se propõe fazer inquéritos desta natureza terá que elaborar o seu «modus faciendi», fixando o número de laboratórios que nele colaborarão, o número de amostras a enviar e a frequência de envio.

Quando estes inquéritos são feitos num só laboratório, os resultados obtidos são incomparavelmente mais fáceis de interpretar, pelo facto de serem executados na maior parte dos casos pelo mesmo indivíduo e em condições uniformes de trabalho, o que não acontece quando são vários os laboratórios que tomam parte no inquérito.

**5.2.2 «Contrôle» de qualidade** — O laboratório central deverá proceder à avaliação da qualidade, enviando aos diferentes laboratórios periféricos amostras testemunhas. Este tipo de inquérito, difere fundamentalmente, do inquérito de confiança, a que nos referimos pelo facto do laboratório ou laboratórios desconhecerem em absoluto que as amostras enviadas são amostras testemunhas.

Para tal, deverão ser-lhes remetidas com aspecto semelhante ao de qualquer outra amostra. O laboratório central imaginará pro-

(\*) Por técnico compreende-se o licenciado, o técnico de laboratório e o preparador. É excluído o chefe do laboratório.

cesso de conseguir entrar na posse dos resultados, correspondentes às amostra que enviou.

Como boa norma de trabalho, recomenda-se que todo e qualquer laboratório proceda ao seu próprio «contrôle» de qualidade («contrôle» interno), introduzindo nos testes a executar elementos de referência que lhe garantam a boa qualidade do trabalho executado.

5.2.3 «*Contrôle*» «*in loco*» — É o tipo de «contrôle» que está indicado no caso dos laboratórios pouco supervisionados pelo laboratório central, ou nos quais o «contrôle» do trabalho dos técnicos não possa ser feito em boas condições, dado o reduzido número de pessoal responsável (médico ou paramédico). Desta forma, deve ser o laboratório central a organizar uma equipa de técnicos especializados e de reconhecida competência que fará deslocar a esses laboratórios, onde serão executadas pelo respectivo pessoal, as análises das amostras seleccionadas e transportadas por essa equipa de «contrôle».

Dos resultados obtidos, poder-se-á avaliar não só a qualidade das análises executadas mas também a competência técnica de quem as executa.

Haverá toda a vantagem em associar aos membros da equipa um indivíduo entendido em aparelhagem de laboratório que seria por o/e verificada e reparada em caso de necessidade.

Há quem considere estas visitas extremamente úteis, recomendando-se, no entanto, que a atitude da equipa de inspecção e do pessoal inspecionado deva ser de «cooperação, respeito mútuo e de interesse no intercâmbio de dados».

Os objectivos atingidos, com esta forma de actuação, costumam ser muito mais rendosos do que os obtidos com vigilâncias ou inspecções demasiadamente autoritárias.

5.2.4 *Questionários* — A eficácia do laboratório pode ainda avaliar-se por método indirecto, que consiste na elaboração de questionários muito simples a enviar às autoridades sanitárias, serviços hospitalares, médicos, etc., inquirindo da eficácia dos serviços laboratoriais (concordância de diagnósticos, clínico e laboratorial, morosidade das respostas, etc.).

Estes questionários teriam ainda a finalidade de colher sugestões que pudessem contribuir para a melhoria da orgânica dos serviços. São sempre de grande utilidade, especialmente em alturas de reorganização laboratorial. Do con-

junto de sugestões apresentadas, algumas haverá que poderão contribuir para a melhoria dos serviços, prestígio do laboratório e benefício dos indivíduos que os utilizam.

## 6 — Investigação

É errado pensar que apenas os laboratórios de grandes recursos, em pessoal técnico especializado e em aparelhagem adequada, poderão fazer investigação. Na realidade, são eles os que se encontram em condições, mais favoráveis, de a fazer em grande escala, mas qualquer outro laboratório de categoria diferente com menores disponibilidades técnicas poderá e, diremos mesmo, deverá dedicar algum tempo das suas actividades à investigação orientando-a para a resolução dos problemas de saúde locais. Os ensinamentos a que pode conduzir trazem certamente benefícios aos indivíduos e evitam aos serviços de saúde, gastos inúteis de verbas cuja aplicação poderá ser desviada para medidas sanitárias mais concordantes com as necessidades prioritárias no campo da saúde pública, tornando-se, por isso, muito mais proveitosas e acertadas.

A investigação estimula o interesse pelo trabalho e valoriza quem a ela se dedica. É sempre agradável chegar a conclusões válidas e de interesse prático mesmo que isso tenha sido conseguido à custa de longos anos de trabalho e de sacrifício pessoal. Não esqueçamos que muitas das técnicas laboratoriais manejadas diariamente com um à vontade impressionante resultaram do esforço e da dedicação de muitos investigadores que as modificaram e aplicaram vezes sem conto, antes que pudessem ter sido convertidas em técnicas de uso corrente em qualquer laboratório.

## Pessoal

Dum modo geral, o pessoal do laboratório é constituído por licenciados em Medicina, Farmácia, Veterinária, Biologia, etc., constituindo no seu conjunto o que vulgarmente se denomina «Pessoal científico».

Além deste, o laboratório deverá poder dispor de Técnicos de laboratório, Preparadores, Auxiliares, Ajudantes e Pessoal Administrativo.

A chefia do laboratório deve pertencer a um médico que aliará aos conhecimentos virológicos experiência laboratorial e noções, embora elementares, de «Administração».



Encontrar indivíduos nestas condições é tarefa, assaz, difícil. Razões especiais e discutíveis, não entusiasmam os médicos em relação aos laboratórios de saúde pública. Como consequência, há muitas vezes necessidade de recorrer a pessoal não médico, de reconhecida competência, para os substituir na chefia do laboratório. É evidente que a resolução dos problemas de carácter administrativo ocupa ao chefe de laboratório grande parte do tempo que poderia usar em actividades laboratoriais das quais não será conveniente afastar-se completamente, sob pena de se prejudicar pessoalmente e de contribuir para a perturbação do serviço laboratorial pelo qual é responsável. Poderá, no entanto, solucionar em parte, esta situação se decidir distribuir tarefas pelos seus colaboradores.

### **Funções do pessoal**

#### *a) Pessoal científico*

Poderá encarregar-se de trabalhos de carácter administrativo, além de supervisionar todo o trabalho dos técnicos seus subordinados.

#### *b) Técnicos de laboratório*

De formação secundária ou universitária, de preferência, executarão trabalhos de rotina e outros mais complexos, de acordo com os seus conhecimentos e aptidão técnica.

#### *c) Preparadores*

No seu conjunto, são dos elementos mais fundamentais na orgânica do serviço laboratorial. Da sua formação e preparação técnica depende, em grande parte, a qualidade do trabalho executado. Deverão ter estudos de nível secundário. O sistema de formação de preparadores varia bastante de país para país. Entre nós, é costume fazê-lo por meio de cursos teóricos-práticos seguidos de estágio no laboratório, cuja utilidade é indiscutível. É neste período de tempo, que haverá possibilidade de apreciar os indivíduos quanto aos conhecimentos adquiridos no curso, aptidão técnica e qualidades pessoais.

O número de preparadores que deve existir no laboratório, depende evidentemente, do volume do trabalho e da possibilidade de se poder dispor de preparadores estagiários.

Quanto ao seu grau de especialização, é evidente que embora o laboratório tenha grande necessidade da colaboração de preparadores especializados não pode, de modo algum, prescindir de preparadores não especializados, capazes de executarem qualquer tipo de trabalho de modo a poderem substituir rapidamente pessoal doente, em férias ou afastado do laboratório por exigências do serviço.

#### *d) Ajudantes e auxiliares*

Terão estudos primários, sendo a sua presença nos laboratórios indispensável. Podem ser encarregados de tarefas simples de tipo repetitivo.

Lavagem, esterilização e preparação de material, são exemplos de actividades que estes elementos poderão executar em boas condições.

#### *e) Pessoal administrativo*

Aos conhecimentos próprios e exigidos pelo seu cargo deverá possuir alguns, referentes a problemas laboratoriais, uma vez que habitualmente são estes os indivíduos que recebem os produtos para análise muitas vezes chegados ao laboratório em péssimas condições de acondicionamento constituindo para quem os manipula fonte de infecção evitável, no entanto, se forem conhecedores dos cuidados necessários a ter, em tais situações. Registrar os produtos entrados, enviar resultados, organizar ficheiro e arquivo são algumas das funções destes elementos de trabalho e, a fim de que elas sejam executadas com eficiência e rapidez, haverá vantagem em administrar a este pessoal algumas noções de terminologia laboratorial.

\*

Será exigido a todo o indivíduo integrado na equipa de trabalho do laboratório, qualquer que seja o seu nível cultural e de experiência, dedicação ao serviço, integridade pessoal, diligência e espírito de iniciativa.

São, ainda os peritos da Organização Mundial de Saúde quem, ao referir-se à formação do pessoal técnico dos laboratórios afirma:

«Não será demasiado acentuar que a eficácia dum serviço laboratorial depende acima de tudo da qualidade do seu pessoal. Os melhores meios materiais não podem substituir estes elementos.»



## **Estrutura e arquitectura internas**

### **1 — Dimensões**

O laboratório deve ser previsto com uma certa largueza. Terá vantagem em adoptar a construção modulada para facilitar a instalação de novas unidades de trabalho de reconhecido interesse para o serviço, evitando alterações internas dispendiosas e a consequente perturbação do trabalho diário.

### **2 — Pavimentos**

Devem ser fabricados em material sólido e resistente, de modo a permitirem lavagem fácil e suportarem a acção de desinfectantes. Nas saias de lavagem e de esterilização estará indicado o uso de mosaico.

### **6 — Gás de iluminação e outros**

O gás de iluminação será o da distribuição geral local, recomendando-se a sua substituição pela energia eléctrica, embora mais dispendiosa, no aquecimento de banhos-maria, autoclaves e destiladores.

A existência de outros gases, tais como azoto e anidrido carbónico, exigida pela prática de determinadas técnicas é assegurada pela compra de «garrafas», que serão mantidas no laboratório em condições de segurança e manejadas por indivíduos familiarizados com a técnica do seu funcionamento.

### **7 — Vácuo**

Pode ser obtido por meio de bombas eléctricas individuais que substituem as instalações centrais, de montagem bastante dispendiosa e nem sempre acessíveis a todos os laboratórios.

### **8 — Electricidade**

As tomadas de corrente serão em número suficiente, e de modelo adequado, de modo a que cada aparelho tenha a que lhe compete.

Há quem recomende como medida de economia de espaço, reservar uma bancada a todos os aparelhos eléctricos, existentes nesse local de trabalho.

## **9 — Comunicações internas**

Os locais de trabalho que se encontrem individualizados em instalações próprios, deverão poder comunicar entre si e com os restantes serviços, por meio de telefones internos ou de intercomunicadores. Sempre que as distâncias o justifiquem e o laboratório possa fazer face às despesas de montagem, o uso do «tubo pneumático» é de grande utilidade prática no transporte de produtos para análise e no envio dos resultados obtidos. No entanto, o seu uso só se justifica em laboratórios de grande dimensão e movimento.

### **3 — Paredes**

A superfície das paredes deverá ser dura, impermeável, resistente aos produtos químicos e de fácil limpeza. Devem apresentar aspecto agradável, sem rugosidades que retenham as poeiras, e não deverão ser demasiado brilhantes. Não está indicado revesti-las de azulejos, a não ser em locais onde haja grande produção de vapor de água, tal como acontece nas salas de esterilização e de lavagem.

### **4 — Tectos**

Devem ser pintados com tintas a óleo ou germicidas, de cores suaves.

### **5 — Portas**

O elemento mais importante é certamente a dimensão (largura), dependente do local a que se destinam. Assim, para as salas de lavagens, depósito de material, máquinas e de animais recomenda-se a largura mínima de 1,40 m e para as restantes 1,00 m.

Deve-se dar preferência às portas de correr por originarem menos correntes de ar, factor a considerar em laboratórios de virologia.

### **6 — Janelas**

Devem ser fabricadas em material resistente, terem vidros duplos de modo a evitar ruído e de lavagem fácil. A situação das janelas depende dos factores geográficos e climáticos predominantes da região onde se situa o laboratório.

Em climas, como o nosso, em que o sol brilha durante bastantes horas, será necessário provê-las de persianas, exteriores de preferência, de modo a moderar a intensidade da luz solar. Se as janelas não forem do tipo «guilhotina» há toda a vantagem em que abram para o exterior.

Modernamente, há tendência para construir laboratórios sem janelas, mas grande número de indivíduos não consegue adaptar-se a tais condições de trabalho, embora o arejamento, climatização e outros requisitos tenham sido objecto de particular atenção por parte das comissões de instalação.

## **Instalações técnicas de ambiente**

### **1 — Iluminação**

A iluminação do laboratório deverá ser feita à custa da luz natural. Quando for necessário recorrer à luz artificial, preconiza-se o uso de lâmpadas de incandescência ou de fluorescência, colocadas acima do nível dos olhos e, de tal modo, que não haja reflexos irradiados da superfície do tecto e das paredes.

### **2 — Ventilação**

Se a ventilação for inadequada criar-se-á um ambiente desconfortável, com temperatura baixa ou elevada, excesso de humidade relativa e concentração de cheiros. No entanto, deve ser feita de tal modo que estes não se propaguem a todo o laboratório.

### **3 — Aquecimento**

O sistema de aquecimento depende das condições locais. Recorre-se vulgarmente ao sistema da água quente, distribuída através de tecto ou do pavimento. Este sistema tem vantagens por ser o que provoca menos correntes de ar e conseguir temperaturas mais uniformes.

No entanto, o aquecimento por meio de irradiadores eléctricos de tipo a óleo dá bom efeito e apresentam a vantagem de fácil manejo.

### **4 — Climatização**

A temperatura ideal parece ser de 18-20° C, com 30 a 65% de humidade relativa.

## **5 — Água**

A distribuição de águas correntes, quente e fria, deve estar assegurada em todos os locais de trabalho.

## **Equipamento interno**

### **1 — Mobiliário**

#### **1.1 — Bancadas**

As bancadas do laboratório podem estar dispostas ao longo das paredes ou na sua perpendicular. Se o espaço o permitir a existência de uma bancada central será vantajosa. Quanto às dimensões, estas dependem da sua disposição no laboratório.

Assim para as laterais não se recomenda largura superior a 0,75 m, mas já se admitem valores de 1,40 m para as centrais. Quanto à altura as medidas recomendadas dependem do tipo de trabalho: sentado ou de pé. No primeiro caso a bancada deve medir 0,75 m e no segundo 0,85 m.

A parte superior das bancadas pode ser de vários materiais. Nos laboratórios ingleses encontramos vulgarmente a madeira, enquanto os nórdicos preferem usar o aço inoxidável. O emprego da ardósia está praticamente posto de parte, pelo aspecto pouco atraente que apresenta ao fim de alguns anos de uso.

O revestimento ideal deve ser liso, plano, resistente ao calor, aos desinfectantes e não muito caro. São muito usados os revestimentos tipo «fórmica», por corresponderem em grande parte aos requisitos apontados, além de resistirem bastante aos efeitos das pancadas e conferirem ao laboratório aspecto agradável.

Quanto ao aço inoxidável, poderia parecer à primeira vista, o material de eleição a adoptar por todos os laboratórios. A prática, no entanto, veio demonstrar que por apresentar determinados inconvenientes não pode ser considerado como tal. Assim, não consegue resistir completamente à acção dos hipocloritos e, o contacto prolongado com ácidos acaba por o atacar, desvantagem de pouca importância no caso especial de laboratórios de virologia em que o manejo de ácidos é muito reduzido.

Além destes inconvenientes apresenta o de se dilatar por acção do calor irradiado pelos bicos de Bunsen, quando acesos durante muí-

tas horas, deixando a bancada de ser plana, não conseguindo retomar a forma inicial, pelo arrefecimento.

A parte inferior das bancadas deve ter alguns espaços livres para permitirem aos técnicos a execução do trabalho, sentados. Os espaços restantes serão aproveitados na instalação de gavetas e de armários com portas corrediças, de preferência.

### 1.2 — Bancos e cadeiras

Devem ser sempre de altura regulável de modo a adaptarem-se à estatura de quem os utiliza. O requisito principal é o de garantirem estabilidade e conforto permanente, evitando posições viciadas que possam conduzir a alterações da coluna vertebral.

### 1.3 — Armários

Excluindo os existentes na parte inferior das bancadas a que já nos referimos, poderemos situá-los contra as paredes, nos seus espaços livres ou suspendê-los. Todos estes arranjos dependem, evidentemente, das necessidades e da disponibilidade de espaço.

Deverão ter portas corrediças e podem utilizar-se para guardar reagentes, produtos e material de uso corrente.

## 2 — Material

### 2.1 — Material de vidro

#### Balões

Câmaras de Neubauer ou similares

Copos de precipitação \*

Funis \*

Frascos de vários tipos (soros, cultura de células, meios, etc.)

Pipetas (graduadas e volumétricas)

Pipetas Pasteur, ou vidro para as fazer

Placas «Perspex»

Provetas \*

Seringas \*

Tubos (centrífuga, ensaio, serologia)

Varetas

Vidros de relógio

etc.

### 2.2 — Outro material

Caixas para animais

» » esterilização de pipetas

Cestos para » de tubos

Escovilhões

Espátulas de madeira

Espátulas metálicas

Esterilizadores

Lamelas

Lâminas

Luvas de borracha

Panelas para transporte de material

Infestado

Placas de Petri

Suportes metálicos para observação de tubos ao microscópio

Suportes para material (sala de lavagem)

» para tubos (em madeira e metálicos)

Tabuleiros metálicos

Tampas metálicas para tubos

Tetinas de borracha

etc.

### 2.3 — Aparelhos

Autoclaves

Balanças (analítica e «Roberval»)

Banhos-maria

Bicos de Bunsen

Centrífugas com e sem refrigeração

Congeladores

Desionizadores

Destiladores

Estufas

Filtros tipo Seitz ou Millipore

Frigoríficos

Homogeneizadores de tecidos

Lâmpadas de raios ultravioletas

Liofilizador

Microscópios binoculares

Panelas de pressão

etc.

---

(\*) Convém adquirir algumas unidades em plástico.

### 2.3.1 — Aparelhos especiais

Aagitadores magnéticos  
Estufa de incubação com atmosfera de CO<sub>2</sub>  
Seringas tipo «Cornwall»  
Tambores rolantes  
etc.

### 2.4 — Instrumentos

Bisturis  
Pinças de pontas finas  
» » » redondas  
Tesouras curvas  
» rectas  
etc.

*Nota:* Sempre que possível, procurar-se-á equipar o laboratório com material e aparelhos normalizados.

### Unidades técnicas especializadas

#### 1 — Virologia geral

Funções:

- Tratamento de produtos para inoculação;
- Inoculação em cultura de tecidos;
- Inoculação em animais;
- Identificação dos vírus isolados.

#### 2 — Virologia especial

Funções:

- Purificação de vírus pelo método das placas;
- Purificação de vírus pelo método das diluições terminais;
- Estado das características antigénicas das estirpes de vírus;
- Isolamento de vírus a partir de águas residuais;
- Diferenciação das estirpes de vírus da poliomielite (vacinal ou selvagem);
- Montagem de novas técnicas;  
etc.

### 3 — Serologia

Funções:

- Diagnóstico clínico;
- Inquéritos epidemiológicos;
- Avaliação da eficácia da vacina anti-poliomielítica;  
etc.

### 4 — Preparação de antígenos e soros específicos

Funções:

- Manutenção das estirpes padrão;
- Preparação de antígenos para a reacção de fixação de complemento;
- Preparação de antígenos para a reacção de neutralização;
- Preparação de soros específicos;
- Preparação das «pools» de soros prontos a serem utilizados na identificação das estirpes de vírus;
- Estudo comparativo dos esquemas de preparação de soros específicos:  
Tipo de animal  
Via de inoculação  
Número de inoculações, etc.
- Liofilização dos soros e antígenos preparados;  
etc.

### Locais técnicos complementares

#### 1 — Colheita de produtos

A grande maioria dos produtos entra no laboratório depois de ter sido colhida em locais estranhos ao serviço. Mesmo nestas circunstâncias, haverá necessidade de instalar uma sala de colheitas bem apetrechada e apta a obter os produtos para análise dentro das condições exigidas pelas técnicas virológicas, o que, aliás, nem sempre acontece, especialmente, quando as colheitas são feitas fora do laboratório, por indivíduos recentemente iniciados nessa prática.

A sala de colheitas deve ser precedida duma dependência que sirva de sala de espera. Ambas se situarão à entrada do serviço de

modo a evitar ao doente percorrer corredores ou entrar em laboratórios com todos os inconvenientes que daí possam advir.

As colheitas poderão ficar a cargo de preparadores devidamente habilitados e com larga experiência reservando-se a pessoal médico a punção das veias jugular e femoral.

O material para colheitas, tanto quanto possível não recuperável, será cuidadosamente arrumado e ordenado de modo a contribuir para a rapidez e eficiência da colheita.

A sala deverá estar sempre limpa e em ordem, evitando-se a todo o custo o aspecto desagradável dos algodões sujos misturados com seringas por lavar.

Como boa norma recomenda-se a obrigatoriedade da substituição *diária* do material usado, por outro idêntico, em número e qualidade, tarefa que ficará a cargo do responsável pela manutenção da sala de colheitas.

## 2 — Recepção de produtos

Relativamente ao funcionamento da chamada «Recepção de produtos» quase nos atrevemos a afirmar, que ela constitui uma das pedras basilares da orgânica geral dos serviços laboratoriais.

Há alguns anos atrás, este local era considerado de interesse secundário, conceito que hoje em dia se encontra completamente modificado, uma vez que todos os laboratórios reconheceram por experiência própria a repercussão que pode ter nos resultados laboratoriais uma recepção de produtos e operações a ela ligados processados em condições de deficiência.

Em nossa opinião, haverá vantagem em instalar a «Recepção» em local anexo ao do «Ficheiro e Arquivo». O pessoal será comum embora com funções definidas, individualizadas e sujeitas a regime rotativo, de modo a poder substituir-se em caso de necessidade.

Qualquer produto que dê entrada no laboratório terá de ser registado convenientemente. Assim, desde o momento da sua entrada, até à chegada à unidade de trabalho onde virá a ser analisado, haverá necessidade de inscrever em livro especial os seguintes elementos:

- a) Data de entrada do produto
- b) Número de entrada
- c) Natureza do produto (sangue, líquido céfalo-raquidiano, etc.)
- d) Nome do doente

- e) Nome do médico
- f) Hospital
- g) Exame pedido

Seguidamente, o produto receberá a referência laboratorial correspondente à da sua ficha clínica (ver «Ficheiro e Arquivo»).

Por fim, o produto convenientemente identificado e acompanhado dos dados clínicos necessários à orientação dos exames a efectuar, dará entrada numa das unidades de trabalho de acordo com o tipo de exame requerido.

Todas estas operações são meticulosas e de grande responsabilidade, exigindo-se, por isso mesmo, a quem as executa larga experiência e perfeito conhecimento da importante tarefa que lhe compete executar com o máximo de zelo profissional.

O pessoal da «Recepção» deverá informar rapidamente o requisitante sempre que um produto chegue ao laboratório em condições que impossibilitem a execução do exame pedido, de modo a poder ser repetida a colheita ao doente, se isso se justificar.

Serão ainda atribuídas a este pessoal as seguintes funções:

- a) Pedir o envio de amostras de sangue colhidas 2-3 semanas após o início da doença;
- b) Pedir o preenchimento dum questionário (folha de inquérito) — juntamos o modelo usado no serviço de Virologia do Instituto Nacional de Saúde — constituído por elementos necessários à orientação do exame laboratorial. Para maior eficiência deverão ser distribuídas, previamente, pelos diferentes serviços hospitalares, as referidas «folhas de inquérito» que o médico poderá enviar ao laboratório já preenchidas e a acompanhar o produto;
- c) O pessoal deverá estar apto — em condições normais — a responder capazmente, a qualquer informação que lhe seja solicitada respeitante aos produtos a colher, e quais as condições do seu envio ao laboratório.

Obtido o resultado do exame laboratorial, passará este ao «Ficheiro e Arquivo» onde será feita uma fotocópia destinada ao médico ou entidade requisitante, ficando o original agraçado à ficha clínica do doente e a constituir pertença do arquivo do laboratório.

## FOLHA DE INQUÉRITO

HOSPITAL.....

NOME DO MÉDICO.....

MORADA.....

NOME DO DOENTE.....

IDADE.....(data do nascimento).....

MORADA.....

DATA DO INÍCIO DA DOENÇA.....

DIAGNÓSTICO CLÍNICO.....

PRINCIPAIS SINTOMAS E DADOS DE OBSERVAÇÃO.....

OUTROS CASOS NA FAMÍLIA OU VIZINHANÇA?.....

VIAGENS RECENTES?.....

VACINAÇÕES RECENTES?.....

PRODUTOS ENVIADOS.....

DATA DA COLHEITA.....

TEMPERATURA NO DIA DA COLHEITA.....

EXAMES PEDIDOS.....

TERAPÊUTICA (e data em que foi iniciada).....

### 3 — Ficheiro e arquivo

Nenhum serviço laboratorial poderá prescindir destes elementos, os quais deverão estar sempre actualizados e ordenados de modo a permitirem a sua rápida consulta.

O ficheiro será constituído por fichas onde apenas figure o nome do doente e a referência laboratorial que lhe corresponde e será ordenado por ordem alfabética.

Quanto ao Arquivo terá fichas especiais (Ficha clínica) com dados importantes e necessários à orientação dos exames laboratoriais. Embora possamos encontrar, para o mesmo fim, vários modelos de fichas apresentaremos a que tem vindo a ser usada no Laboratório de Virologia do Instituto Nacional de Saúde e que está actualmente em estudo, para possível remodelação.

#### FICHA CLÍNICA

|                           |  |    |             |   |              |    |                                                       |                |                |  |  |  |  |     |
|---------------------------|--|----|-------------|---|--------------|----|-------------------------------------------------------|----------------|----------------|--|--|--|--|-----|
|                           |  | Va | P           | I | Pa           | LP | Polio<br>Cox                                          | E <sub>1</sub> | E <sub>2</sub> |  |  |  |  | N.º |
| DOENTE                    |  |    |             |   |              |    | MÉDICO                                                |                |                |  |  |  |  |     |
| NOME                      |  |    | APELLIDO    |   |              |    | NOME                                                  |                |                |  |  |  |  |     |
| MORADA                    |  |    | IDADE       |   |              |    | <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F |                | MORADA         |  |  |  |  |     |
| (HOSPITAL, SERVIÇO, CAMA) |  |    |             |   |              |    | DIAGNÓSTICO (Dados clínicos no verso)                 |                |                |  |  |  |  |     |
| DATA DO INÍCIO DA DOENÇA: |  |    |             |   |              |    | EXAME PEDIDO                                          |                |                |  |  |  |  |     |
| MATERIAL RECEBIDO         |  |    | COIHIDO EM: |   | RECEBIDO EM: |    | EXAME FEITO                                           |                |                |  |  |  |  |     |
|                           |  |    |             |   |              |    | RESULTADO                                             |                |                |  |  |  |  |     |
| CONGELAÇÃO                |  |    |             |   |              |    |                                                       |                |                |  |  |  |  |     |

A referência laboratorial servirá de base à sua ordenação (ordenação cronológica).

É importante que o serviço de fichas e arquivo funcione eficientemente de modo a permitir que os resultados dos exames feitos sejam rapidamente comunicados, factor a considerar pela influência que pode ter na boa ou má reputação dos serviços laboratoriais. A sua frequente consulta para outros fins, tais como recolha de dados, estatística, etc., reforça a necessidade de se encontrarem sempre em ordem.

A arrumação de ficheiros e arquivos constitui problema para a maior parte dos laboratórios. Há quem preconize conservá-los durante 5-10 anos, findos os quais, se recorrerá a um registo em microfilmes solucionando-se deste modo o problema da falta de espaço, por vezes de resolução nada fácil e agravado com o decorrer dos anos.

### 4 — Esterilização

A sala de esterilização do material infectado deve funcionar o mais próximo possível da sala destinada à lavagem.

O material infectado será recolhido dos diferentes locais de trabalho em recipientes apropriados, de modo a entrarem directamente nos autoclaves.

O restante material usado, mas não infectado, será colocado em tabuleiros e seguirá directamente para a sala de lavagem, poupando-se deste modo uma esterilização desnecessária.

O material será recolhido, diariamente, ao fim da tarde, de modo a causar o mínimo de perturbação nos trabalhos em curso.

Os autoclaves, de capacidades diferentes, serão equipados com todos os requisitos de

segurança e de eficácia da esterilização, tais como: termómetro de registo automático, esterímetro, manómetro, etc.

Todos estes registos deverão ser verificados diariamente pela pessoa encarregada desta operação, que recorrerá, ainda, para maior segurança, ao uso dos «índices de cor» muito usados pela sua facilidade de manejo, eficácia e economia.

Os autoclaves receberão assistência periódica por parte de técnicos especializados, de modo a garantir-se o seu bom funcionamento e a evitar-se acidentes de trabalho.

## 5 — Lavagem

As condições de trabalho na sala de lavagem são sempre de molde a não permitirem dimensões reduzidas. Se outras razões não houvesse, bastaria pensarmos na reserva de espaço atendendo a uma possível aquisição de máquinas automáticas tão recomendadas para a grande maioria dos laboratórios, se bem que, nos de virologia, o problema seja diferente. A cultura de células além de ser imprescindível é exigente e ao encontrarmos uma boa técnica de lavagem, é prática recomendável o seu uso sistemático. A mudança de um simples detergente pode ser suficiente para fazer perigar a sobrevivência das linhas de células existentes no laboratório e inibir as que tentarmos cultivar.

Tubos e frascos usados como suporte do crescimento celular, exigem lavagem individual com escovilhão eléctrico.

De momento apenas poderemos reservar às vulgares máquinas de lavagem automática determinado tipo de material. Nestas circunstâncias não nos parece justificável a obrigatoriedade da sua aquisição.

Recomendamos, no entanto, a compra de aparelhos especiais para lavagem automática de pipetas.

## 6 — Preparação e esterilização de material

Esta dependência deverá estar equipada com estufas de secagem e fornos de esterilização, havendo vantagem em ficar ligada à sala de lavagem, donde receberá o material pronto a dar entrada nas estufas de secagem, finda a qual será preparado para a esterilização, operação esta que deverá ser sempre controlada pelos processos habituais tais como «índices de cor» a que já nos referimos.

O reduzido número de material que pela sua composição não possa sofrer a esterilização pelo calor seco sê-lo-á recorrendo aos autoclaves da sala da preparação de meios de cultura. Não nos parece justificável a instalação de um autoclave destinado exclusivamente a ele, até pela circunstância de que se deve evitar a acumulação de vapor de água nesta dependência. Anexo haverá um depósito, para «stock» de material, pronto a ser usado em caso de emergência, sendo o restante distribuído diariamente pelas diferentes unidades de trabalho, parecendo-nos de toda a vantagem que essa tarefa pudesse ser feita *antes* do início dos trabalhos laboratoriais.

## 7 — Preparação de meios de cultura

Para tornar mais funcional esta dependência e facilitar o trabalho aos que tiverem como tarefa preparar os meios de cultura necessários a todo o laboratório, deve esta estar equipada com balanças (analítica e «Roberval»), material, produtos químicos, frigoríficos, deslizador, sistema de vácuo, etc.

A existência duma pequena câmara asséptica é necessária, de modo a proceder-se à distribuição dos meios cuja esterilização foi feita através de membranas filtrantes.

Anexo a esta sala haverá um pequeno local onde serão instalados os autoclaves necessários à esterilização dos meios preparados. As vulgares panelas de pressão são bastante úteis quando se pretende esterilizar rapidamente pequenos volumes de meios.

A preparação de meios de cultura é operação de extraordinária importância, requerendo da parte de quem a executa conhecimento absoluto dos cuidados a ter, dado o efeito desfavorável no trabalho do laboratório, das faltas cometidas.

## 8 — Cultura de tecidos

Para poder corresponder às exigências dum laboratório como o nosso, as funções da «Cultura de tecidos» devem ser as seguintes:

- a) Tripsinização de rim de macaco;
- b) Tripsinização de amnios humano;
- c) Manutenção das células de linha contínua (HEp-2, KB e outras);
- d) Conservação de células pelo frio;



- e) «Contrôle» dos meios de cultura;
- f) Fornecimento de tubos com cultura de células, prontos a serem usados e em número suficiente de acordo com as necessidades do trabalho do laboratório.

As instalações destinadas à «Cultura de tecidos» devem estar equipadas com todo o material e meios necessários de modo a reduzir-se ao mínimo as entradas e as saídas do pessoal.

Será imprescindível a existência duma câmara asséptica onde sejam processadas as técnicas os tripsinização, e outras, que exijam rigorosos cuidados de assépsia.

Como norma a adoptar será interdita a entrada, neste local, a qualquer pessoa estranha aos trabalhos ali processados.

### 9 — Câmaras frigoríficas

Dado que a sua montagem é sempre dispendiosa, nem todos os laboratórios estão em condições de poderem dispor delas.

São substituíveis, no entanto, pela aquisição de frigoríficos de uso corrente e congeladores com que possamos atingir temperaturas que oscilam geralmente entre  $-20^{\circ}$  a  $-90^{\circ}$  C.

Deverão estar munidos com sistema de alarme de modo a serem tomadas medidas apropriadas em caso de avaria mecânica ou interrupção da corrente eléctrica.

Será também extremamente útil um congelador de azoto líquido ( $-196^{\circ}$ ) para conservação das linhas celulares existentes no laboratório.

### 10 — Câmaras a $37^{\circ}$ C

Se a substituição das câmaras frigoríficas pode ser feita à custa de congeladores, sem grande prejuízo, já o mesmo não se pode dizer no que respeita às câmaras a  $37^{\circ}$ , indispensáveis num laboratório deste tipo, em que há necessidade de dispormos de cultura de células em tubos e frascos em número tão elevado que só muito dificilmente poderíamos substituí-las por estufas vulgares a espalhar por locais de trabalho e por corredores, prática nada recomendável. No entanto, não podemos prescindir dum certo número de estufas deste tipo de modo a conseguirmos outras temperaturas necessárias a determinadas técnicas em uso no laboratório.

### 11 — Sala de reuniões

Todos os laboratórios carecem de uma sala onde o pessoal se possa reunir, de modo a discutir assuntos de interesse para o serviço. Poderão ainda destinar-se a fins didácticos, aplicação absolutamente justificável em laboratórios centrais em que uma das suas funções é a da preparação de pessoal técnico. Além dos cursos previstos e programados em todos os laboratórios, respeitantes à formação dos técnicos e preparadores, parece-nos haver vantagem em se organizarem pequenas reuniões destinadas a pessoal auxiliar em que os assuntos fossem tratados em linguagem o mais simples possível de acordo com a preparação dos indivíduos a quem se destinam. Visa-se com esta tentativa conseguir que as actividades por eles praticadas passem a sê-lo dum modo mais racional e talvez mais eficiente.

Estas reuniões poderiam ficar a cargo de preparadores e seriam assistidas por técnicos de laboratório, que avaliariam o grau de interesse com que cada um deles desempenhava a missão que lhe fora destinada. Seria ainda um processo, indirecto, da sua própria promoção científica.

As reuniões científicas, ou apenas destinadas à resolução de problemas laboratoriais têm todo o interesse quando planeadas e conduzidas de modo a não ultrapassarem o tempo previsto, evitando-se, desta maneira, perturbações no serviço e na vida particular de cada um.

A sala de reuniões terá ainda a vantagem de representar reserva de superfície no caso de ser absolutamente imprescindível a instalação duma nova unidade de trabalho.

Anexa a esta sala, poderá haver uma outra de dimensões reduzidas onde se possa preparar uma bebida quente que aqui será tomada em muito melhores condições de higiene do que aquelas em que se processa habitualmente o «café a meio da manhã», prática que entrou nos usos e costumes de todos os laboratórios e para a qual deve ser estabelecido um tempo limite.

### 12 — Gabinete de trabalho

O chefe do laboratório terá ao seu dispor um gabinete, mesmo pequeno, onde se isole de modo a poder ler, planear e redigir traba-

lhos, longe do bulício do laboratório, para o qual contribuem as pessoas e ruídos de aparelhos em funcionamento.

### **13 — Biblioteca**

Como qualquer outro, o serviço laboratorial deverá possuir instalações destinadas a uma pequena biblioteca, onde livros, revistas e outras publicações da especialidade possam ser facilmente consultados pelo pessoal do laboratório, ou outro que assim o desejar.

O pessoal do laboratório será compelido à sua promoção científica ao exigir-se-lhe leitura frequente, discussões e a resolução de problemas teórico-práticos para o qual seja necessária a consulta bibliográfica.

### **Dependências anexas**

#### **1 — Animais de laboratório**

Os animais para uso do laboratório deverão ser requisitados a biotério de toda a confiança e permanecerem em observação nas dependências do laboratório durante 48 horas, após as quais, poderão ou não ser utilizados.

A instalação dos animais é assunto que levanta certos problemas. Nem sempre é fácil eliminar completamente os cheiros e os ruídos que lhes são próprios.

Há certos laboratórios que preferem mantê-los em locais afastados, embora com transtorno para quem os tenha que inocular e vigiar diariamente durante semanas. Deverão ser colocados em caixas especiais, para as quais encontramos modelos vários, práticos e eficientes.

Nas dependências que lhes serão destinadas (com separação dos inoculados e não inoculados) deverá haver aquecimento, humidade e ventilação apropriadas, requerendo a humidade cuidados especiais, não devendo ser demasiada de modo a evitar-lhes infecções respiratórias, que, a consumarem-se, trariam, sem dúvida, contratempos e atrasos aos trabalhos laboratoriais em curso.

As caixas com os animais, deverão estar colocadas em prateleiras ligeiramente inclinadas, de modo a facilitarem a limpeza por meio de jactos de água. Serão esterilizadas após

utilização, assim como todos os utensílios que serviram à sua alimentação durante o período de inoculados.

Anexa a esta dependência deverá existir uma sala de autópsia.

#### **2 — Depósitos de material e de produtos químicos**

O laboratório deverá conseguir pequenos «stocks» de material e de produtos químicos, de modo a poder usá-los em caso de emergência, evitando que as actividades laboratoriais cessem ou diminuam de ritmo pelo facto das requisições referentes aos mesmos não serem satisfeitas pelas casas fornecedoras, no período de tempo previsto, situação que não é invulgar entre nós.

#### **3 — Depósitos para produtos inflamáveis e substâncias perigosas**

O uso de produtos inflamáveis, num laboratório de virologia, é tão limitado, que não implica a existência obrigatória de instalações especiais.

Apenas se tomarão medidas de segurança para as instalações destinadas a acondicionarem as «botijas» de anidrido carbónico e azoto, cujo deficiente manuseamento poderia originar acidentes de certa gravidade.

#### **4 — Primeiros socorros e protecção contra incêndios**

O laboratório deverá estar equipado com determinados medicamentos, antissépticos, pensos, ligaduras, etc., necessários a um primeiro socorro em caso de acidente de trabalho.

Ao pessoal serão administrados ensinamentos relativos aos riscos que correm durante a execução das suas tarefas, como evitá-los e como tratá-los no caso deles se verificarem.

O laboratório terá extintores, que todos saberão manejar em caso de incêndio, e, periodicamente, todo o pessoal será submetido a exercícios de salvamento, prática já há muito em uso em determinados laboratórios e que deverá ser adoptada por todos os nossos.

## 5 — Vestiários

Cada indivíduo deverá poder dispor dum local próprio e exclusivo onde possa guardar a bata e sapatos destinados a serem usados no laboratório. Estes poderão ser do tipo «socos» à semelhança dos usados nos laboratórios nórdicos e noutros países da Europa.

Cada indivíduo deve possuir batas em número suficiente de modo a dispor de uma,

sempre que se infecte ou que a de serviço se encontre demasiado suja.

## 6 — Depósitos para batas, toalhas, etc.

A sua existência no laboratório é indispensável e devem ter dimensões tais, que as roupas não tomem o aspecto de amarratadas.

As batas deverão ter botões especiais que se retirarão no momento do seu envio para a lavagem automática.

## BIBLIOGRAFIA

- Ayres, L. e Teixeira, I. — Importância das infecções inaparentes na epidemiologia das doenças a vírus. *Arquivos do Instituto Nacional de Saúde*, 1:261, 1972.
- Davies, R. e Macaulay, H. M. C. — Organisation et Administration des Hopitaux. WHO, 1969.
- Decreto-Lei n.º 413/71 — Diário do Governo n.º 228, 1.ª Série, de 27 de Setembro, 1971.
- Ferreira, F. A. G. — Moderna Saúde Pública. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 2.ª ed. 1971.
- Ferreira, F. A. G. — Política de Saúde em Portugal. Lisboa, 1972.
- Howard, L. B. — Programas para el mejoramiento de laboratorios clínicos y de salud pública en los Estados Unidos. *Bol. Of. San. Panam.*, 67 — 4:315, 1969.
- Informe Final del Seminario Regional de Servicios de Laboratorios de Salud. *Bol. Of. San. Panam.* 65 — 5:259, 1968.
- Juricic, B. — La salud publica en el año 2000. *Bol. Of. San. Panam.* 72 — 5:419, 1972.
- Laboratórios de Saúde Pública — *Observador*, 94:149, 1972.
- Le Laboratoire. Monographies de Techniques Hospitalières — Masson & Cie, Paris, 1969.
- Lennett, H. E. e Schmidt, N. J. — Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Infections. American Public Health Association, Inc., New York, 1969.
- Les Methodes de Surveillance des Maladies Transmissibles — Rapport sur un Seminaire. WHO, 1969.
- Maxcy-Rosenau — Medicina Preventiva e Saúde Pública. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1969.
- Org. Mond. Santé Ser. Rapp. Techn., 128, 1957.
- » » » » » » 161, 1959.
- » » » » » » 215, 1961.
- » » » » » » 236, 1962.
- » » » » » » 345, 1966.
- » » » » » » 491, 1972.
- Paul, J. — Cell and Tissue Culture. E. & Livingstons Ltd, Edinburgh and London, 1961.
- Planification Sanitaire et Organisation des Soins Médicaux. La Santé Public en Europe. 1 WHO, 1972.
- Sonis, A. e col. — Medicina Sanitaria y Administration de Salud. El Ateneo, Buenos Aires, 1971.
- The Work of WHO Virus Reference Centres and the Services they Provide. WHO, 1968.
- Zeller, M. L. van, Castro Soares, A. B., Sampaio, A., Melo Caeiro, F. e Cayolla da Motta, L. — Programa Nacional de Vacinação (P. N. V.). *Boletim dos Serviços de Saúde*, 15 — 2:7, 1968.



## ORGANIZAÇÃO DO SERVIÇO DE MICROBIOLOGIA DOS ALIMENTOS NO INSA

*Ricardina Dantas<sup>1</sup>*

### 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

#### 1.1 Alimentos e Saúde Pública

Segundo Hilleboe (1965) Saúde Pública é a ciência e a arte que permitem pôr em acção os conhecimentos e técnicas fornecidos pelas ciências médicas e pelas disciplinas aparentadas num esforço colectivo e coordenado para manter e melhorar a saúde dos grupos de indivíduos. A vida requer renovação celular e esta exige absorção e síntese de substâncias essenciais realizadas através do metabolismo celular a partir de outras que se encontram nos alimentos. Estes constituem assim excelentes meios para permitir a vida de microrganismos, entre os quais se incluem os agentes provocadores de doença no homem e nos animais. Os alimentos podem, por conseguinte, ser veículo desses germes.

Após a última Grande Guerra verificou-se um acentuado desenvolvimento científico e técnico extensivo às ciências e técnicas relacionadas com a prevenção e combate à doença. Os problemas de Saúde Pública passaram a ser considerados mais importantes e surgiram as organizações que procuraram coordenar os diversos esforços de solução. Formam-se assim organizações a nível nacional e, como organização de cúpula, a Organização Mundial de Saúde, criada pela Carta das Nações Unidas

(1945). Em consequência, aparece uma programação dirigida no sentido de promoção de saúde onde estão incluídos alimentos e o seu controlo higiénico.

A necessidade de armazenamento, problema já muito antigo, viu-se facilitada por novas aquisições técnicas e veio permitir novas possibilidades no campo industrial. A indústria desenvolve-se e por sua vez cria outras necessidades, acelerando o progresso.

O comércio amplia as suas transacções e os alimentos passam a circular entre países, tornando premente um controlo eficaz da parte dos organismos responsáveis pela Saúde Pública. Aparecem normas e a necessidade de acordos entre países e organizações económicas como a do Mercado Comum.

#### 1.2 Contaminação e alteração dos alimentos por acção microbiana

A grande maioria dos alimentos, exceptuando as formas exsiccadas, fortemente açucaradas ou demasiado ácidas, constitui excelente meio de cultura para a multiplicação microbiana. A sua composição é geralmente rica em elementos nutritivos, energéticos, factores de crescimento e oligo-elementos. A água livre «aw» existente apresenta quase sempre valores favoráveis a essa multiplicação. As fontes de

<sup>1</sup> Técnico especialista, Laboratório de Bacteriologia, Instituto Nacional de Saúde — Lisboa.

contaminação microbiana são inúmeras tanto na matéria-prima, como na manipulação, nas condições higiénicas de ambiente, no processo de embalagem, etc. No produto final pode encontrar-se uma flora mais ou menos abundante, constituída na maior parte das vezes por microrganismos saprófitas, embora frequentemente possam também estar presentes germes patogénicos, alguns dos quais elaboram potentes toxinas.

A alteração deve-se a causas químicas ou biológicas, incluindo nestas a acção enzimática, microbiana e de insectos. Os limites que separam os conceitos de alterado, *próprio para consumo* e *impróprio para consumo* nem sempre são fáceis de definir e os juízos que presidem à delimitação estão na dependência de factores variados. Frazier (1967), cita a este respeito alguns alimentos muito apreciados por determinados povos e considerados impróprios para consumo por outros. Em França, durante a passada Guerra Mundial, a produção de queijos Camembert numa época perdeu-se, porque os militares americanos, ao fiscalizarem as câmaras de maturação, a consideraram imprópria para consumo atendendo ao odor desagradável do ambiente.

O conceito de alteração é pouco preciso para definir o estado do alimento relativamente ao efeito sobre a saúde. Mais rigoroso será designar o alimento como impróprio para consumo quando tal se verifique.

Sob o ponto de vista de saúde, um alimento deve ser considerado impróprio para consumo, quando a alteração por causas químicas ou biológicas o torna nocivo.

#### *Factores de alteração:*

- a) presença de flora abundante em fase de intensa multiplicação;
- b) modificação das características químicas por acção enzimática ou química;
- c) modificação das características físicas por acção de agentes físicos: congelação, aquecimento, secagem, pressão, etc.;
- d) acção de parasitas e insectos.

Quanto à estabilidade, os alimentos podem considerar-se com tendência para:

- a) inalteráveis;
- b) semi-alteráveis;
- c) alteráveis.

Além do açúcar, raros são os alimentos que se podem incluir na alínea a). Mesmo as conservas são susceptíveis de alteração quando a tecnologia empregada não for correcta. Estas podem não suportar temperaturas suficientemente elevadas para a destruição total de esporos de *Bacillus* termófilos ou outros que possam estar presentes. Os esporos que resistem ao tratamento térmico podem dar lugar a formas vegetativas quando as condições ambientais o permitam, provocando a alteração do alimento. Constituem exemplos destas alterações:

— «flat-sour», alteração provocada por bactérias esporuladas termófilas. Ocorre nos alimentos enlatados pouco ácidos e é causada por espécies do género *Bacillus*. As formas termófilas obrigatórias, como *Bacillus stearothermophilus*, só dão lugar a alteração quando a temperatura atinge valores entre 40°C e 55°C, caso dos climas tropicais. Os termófilos facultativos provocam alteração mesmo à temperatura normal. A contaminação por estas bactérias processa-se através da embalagem e por certos ingredientes, como o açúcar e o amido, previamente sujeitos a tratamento térmico na sua preparação.

— alteração produzida por *Clostridium thermosaccharolyticum*, anaeróbio termófilo obrigatório que não produz H<sub>2</sub>S e fermenta o açúcar com acidificação e produção de gás (CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>) nos alimentos pouco ácidos, tornando as latas opadas.

— alteração sulfídrica causada por *Clostridium nigrificans* em alimentos pouco ácidos como cereais, ervilhas, etc. Os esporos desta espécie são menos termo-resistentes do que os das espécies que originam «flat-sour» e por isso a sua presença indica deficiente preparação.

Os alimentos exsiccados são considerados semi-alteráveis. Há autores que incluem neste grupo os alimentos congelados quando não observadas com rigor as condições de temperatura de conservação.

Uma grande parte dos produtos alimentares, exceptuando os muito ácidos, são instáveis tais como: carne, peixe, leite, vegetais, frutos, etc.

### 1.3 Microrganismos relacionados com a contaminação de alimentos

Sendo a alimentação humana de origem predominantemente vegetal e animal, é necessário conhecer os tipos de flora habitual nesses produtos no seu estado natural para se poder inferir da probabilidade e qualidade de contaminação no produto alimentar final.

Os géneros *Salmonella*, *Shigella*, *Brucella* são patogénicos. Os géneros *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Clostridium* e *Bacillus* incluem espécies patogénicas e não patogénicas e algumas toxinogénicas. Os bolores contaminantes são frequentes nos alimentos pela sua diminuta exigência em condições de desenvolvimento e pelos extensos limites de tolerância térmica que apre-

QUADRO 1

Microrganismos mais frequentemente relacionados com a contaminação de alimentos

|                                           | Famílias             | Géneros                                                                               |
|-------------------------------------------|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| B<br>A<br>C<br>T<br>É<br>R<br>I<br>A<br>S | Pseudomonadaceae     | Pseudomonas<br>Acetobacter                                                            |
|                                           | Achromobacteriaceae  | Alcaligenes<br>Achromobacter<br>Flavobacterium                                        |
|                                           | Enterobacteriaceae   | Escherichia<br>Aerobacter<br>Erwinia<br>Serratia<br>Proteus<br>Salmonella<br>Shigella |
|                                           | Brucellaceae         | Brucella                                                                              |
|                                           | Brevibacteriaceae    | Kurthia                                                                               |
|                                           | Lactobacillaceae     | Streptococcus      piogénico<br>do Grupo D (Enterococos)<br>lactico<br>viridans       |
|                                           |                      | Leuconostoc<br>Lactobacillus                                                          |
|                                           | Corynebacteriaceae   | Microbacterium<br>Corynebacterium                                                     |
|                                           | Bacillaceae          | Bacillus<br>Clostridium                                                               |
| FUNGOS                                    | Leveduras<br>Bolores |                                                                                       |

sentam. Os seus esporos têm grande capacidade de sobrevivência. Os géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* e *Rhizopus* são os mais incriminados na alteração de alimentos, principalmente, vegetais. Algumas espécies do género *Aspergillus* são toxinogénicas, sendo de grande importância o problema relacionado com a presença das suas toxinas nos alimentos destinados ao homem e aos animais.

Leveduras — sob o ponto de vista de saúde, estes microrganismos não representam um problema alimentar. Muitos géneros são mes-

mo utilizados na preparação industrial de certos alimentos cuja tecnologia emprega processos de fermentação. No entanto, a sua presença injustificada em número elevado nos restantes alimentos pode representar um índice de qualidade higiénica deficiente, porque são microrganismos relacionados com ambientes mal higienizados. A contaminação de produtos alimentares açucarados conduz à alteração destes, uma vez que o processo metabólico das leveduras utiliza o açúcar como substrato nutritivo.

Embora com menor incidência, certos alimentos podem estar contaminados com microrganismos patogênicos transmissíveis ao homem, como:

a) *Rickettsia* ou *Coxiella burnetii* (agente da febre Q)

Em alguns países a percentagem de gado infectado com *Coxiella burnetii* não é pequena. Nos Estados Unidos, os respectivos inquéritos epidemiológicos revelaram uma positividade em 65% das herdades e em Los Angeles, o inquérito serológico denunciou infecção em 10% das vacas inspeccionadas. O leite proveniente destes animais estava contaminado. O processo de pasteurização convencional, efectuado durante 30 minutos a temperatura compreendida entre 63°C e 65°C, não assegura a destruição total destes germes que, segundo certos autores, podem tolerar uma temperatura de 70°C durante alguns minutos.

b) *Mycobacterium tuberculosis*

Actualmente, pode dizer-se que a transmissão por via alimentar de *Mycobacterium tuberculosis* deixou de ser problema devido à prevenção da tuberculose bovina e à pasteurização do leite e natas. Podem, no entanto, verificar-se casos de veiculação alimentar devido a manipuladores doentes.

c) Vírus

A escassez de conhecimentos quanto ao papel etiológico dos vírus ainda persiste; no entanto, Joseph J. M. (1965) considera que o grupo dos vírus entéricos possui um conjunto de características que levam a admitir a sua importância no sector alimentar. Tais características são: (1) acesso ao homem por via oral; (2) excreção por via fecal em quantidades maciças; (3) grande número de portadores; (4) grande resistência aos agentes físicos e químicos.

O maior número de referências diz respeito aos vírus da poliomielite e da hepatite infecciosa. Esta é a doença devida a vírus cuja etiologia alimentar tem sido mais bem estudada, porque a sua sintomatologia característica facilita o diagnóstico e o inquérito epidemiológico. Cliver (1967), numa revisão de casos verificados num período de 20 anos,

notou a ocorrência de mais de 3000 relacionados com alimentos com predominância de mariscos crus, embora leite cru, cremes e carnes frias, fossem também incriminados. Excepcionalmente os casos dos mariscos, cuja etiologia assentava em águas poluídas por esgotos, a via mais frequente de contaminação dos alimentos devia-se a manipuladores doentes ou convalescentes de hepatite infecciosa.

d) Protozoários

A título de referência mencionam-se alguns protozoários que podem ser transmitidos ao homem através dos alimentos. São organismos unicelulares. Encontram-se no tracto intestinal do homem e de muitos animais sendo disseminados na natureza pelas fezes em solos ricos de matéria orgânica, na água do mar e água doce.

*Entamoeba histolytica*, protozoário rizópodo, parasita do tracto intestinal do homem e dos animais, é o agente causal da disenteria amebiana. Os quistos transmitem-se ao homem através da água e vegetais crus ou através dos portadores. Eliminam-se pelas fezes.

*Giardia intestinalis*, protozoário flagelado, é transmitido ao homem através dos quistos que contaminam os alimentos.

#### 1.4 Fontes de contaminação dos alimentos

Todos os produtos naturais ou preparados utilizados como alimentos estão sujeitos desde a origem até à ingestão, a inúmeras contaminações que podem ser ligeiras ou maciças. A natureza dos microrganismos contaminantes é variada e está na dependência das possíveis fontes de contaminação. Estas constituem elementos dum ciclo complexo como se verifica pela sua apreciação na relação que se segue:

**SOLO** — Pode considerar-se o mais importante reservatório de microrganismos, que dele partem e a ele chegam continuamente das mais variadas origens, estabelecendo-se um movimento contínuo, em que as espécies mais resistentes e as formas esporuladas persistem, por vezes longamente, enquanto que as espécies mais exigentes e consequentemente mais frágeis, se destroem ou renovem os seus ciclos de vida, através de substratos apropriados que passam a contaminar.



**ÁGUA** — Importante fonte de contaminação de alimentos. A sua flora é em parte idêntica à do solo, dada a íntima relação existente entre os dois elementos. No entanto, um ciclo de intensa contaminação derivada de animais, plantas e sobretudo esgotos, faz com que essa flora seja muito variada, incluindo espécies saprófitas e patogénicas. Estas espécies permanecem durante períodos maiores ou menores, dependentes da riqueza da água em matéria orgânica e da presença ou ausência de produtos químicos variados ou desinfectantes que condicionam a viabilidade dos germes presentes. A água é elemento fundamental da alimentação quer como bebida quer empregada na preparação de alimentos ou ainda na lavagem, motivo por que as suas características higiénicas são muito importantes. Além de bactérias pode conter bolores que normalmente se encontram no meio ambiente. As leveduras não são frequentes na água e, se existem, são em número diminuto.

**PLANTAS E FRUTOS** — O solo e a água constituem as fontes primárias de contaminação das plantas. No entanto há predominância de determinado tipo de flora natural. A contagem de bactérias por  $\text{cm}^2$  é muito variável e, como está relacionada com o meio ambiente, pode estar compreendida entre limites da ordem das centenas ou atingir valores da ordem de  $10^4$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ . A distribuição é irregular. Considerando os vegetais e alguns frutos directamente em contacto com o solo, é nas partes mais expostas e mais próximas deste, que encontramos maiores contagens de toda a flora do solo e das águas das regas, por vezes muito poluídas podendo conter em abundância germes patogénicos de origem entérica, como *Salmonella*, *V. cholera*, *E. coli* enteropatogénicos e outros. Na parte mais interna das folhas, pouco exposta ao exterior, a flora é semelhante à natural do solo e encontra-se em menor número, não excedendo normalmente os limites de  $10^4$  ou  $10^5$ .

Os frutos apresentam igualmente germes à sua superfície, embora em número mais reduzido, e a contaminação processa-se pelas vias habituais com predomínio de microrganismos transportados pelo ar, poeiras, insectos, etc. No seu interior também se encontram, algumas vezes, germes viáveis. Em tomates sem alteração, a análise dos seus tecidos revelou *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *coliformes*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, etc.

**AR** — A flora do ar inclui as espécies saprófitas comuns a todas as fontes naturais e ainda uma flora patogénica variada, em grande parte específica das vias respiratórias, que o homem continuamente projecta no meio exterior através da tosse, espirros, fala, riso, etc. Os alimentos, nos seus diferentes estádios de preparação e mesmo depois de confeccionados permanecem expostos ao contacto do ar durante períodos de tempo mais ou menos longos o que pode ocasionar o aumento da sua flora por sedimentação das partículas infectantes existentes no ar ou mediante correntes de ar, muitas vezes provocadas por aparelhos de ventilação. Entre a flora assim transmitida, são de considerar os germes esporulados: *Clostridium*, *Bacillus* e fungos. O número de germes por  $\text{cm}^3$  de ar e a sua natureza variam entre limites muito grandes e dependem de inúmeros factores, tais como: altitude, humidade, ambiente, temperatura, localidade, predominância de ventos, etc. Em condições semelhantes, o ar húmido revela menos poluição microbiana do que o ar seco.

**ANIMAIS** — Constituem uma das mais importantes fontes de contaminação. Uma flora microbiana variada e numerosa recobre a superfície dos corpos, principalmente, a pele, pêlos, cascos ou patas, caudas, etc. Nos animais sãos, essa flora é essencialmente constituída pelas espécies próprias do ambiente onde vivem. Os animais doentes ou portadores de germes patogénicos disseminam-nos na natureza e transmitem-nos a outros animais e ao homem. Essa flora é múltipla e interessa à bacteriologia, micologia, parasitologia e virologia. Os dejectos dos animais vivos, as carcaças e vísceras dos animais mortos que permanecem nos terrenos constituem focos de infecção se há flora patogénica; são um dos factores responsáveis pela disseminação de *Salmonella*, processada através de farinhas de peixe e de osso utilizadas na alimentação animal e na fertilização de solos.

**ESGOTOS OU ÁGUAS RESIDUAIS** — São constituídos por resíduos de várias origens: líquidos, semi-líquidos e sólidos, arrastados pela água. Contendo dejectos, substâncias orgânicas variadas e uma flora abundante, que inclui parasitas e germes de origem patogénica, representam um factor importante do ponto de vista higieno-sanitário. As redes de esgoto conduzidas, geralmente, para cursos de água, mar ou solo, com ou sem tratamento

prévio, contribuem sempre para o aumento da poluição microbiana desses elementos e consequente contaminação da respectiva fauna e flora.

**HOMEM** — Transporta uma variada flora comensal e por vezes patogénica influenciada pelo meio que ele habita. Através do ar expirado, das fezes e de outras secreções esta flora é disseminada no meio ambiente.

É considerado portador todo o indivíduo que não apresentando sintomas de doença alberga e transmite germes patogénicos contra os quais possui imunidade. A disseminação pode atingir os alimentos, principalmente, através dos manipuladores. Os alimentos contaminados tornam-se potencialmente susceptíveis de provocar surtos de toxi-infecção alimentar, segundo se trate de germes patogénicos ou toxinogénicos (quadro n.º 2).

**QUADRO 2**

**Fontes e flora mais frequentemente associada**

| Géneros         | Fontes |      |         |    |         |        |         |        |       |
|-----------------|--------|------|---------|----|---------|--------|---------|--------|-------|
|                 | Solo   | Água | Plantas | Ar | Animais | Peixes | Marisco | Esgoto | Homem |
| Pseudomonas     | +      | +    | +       |    | +       | +      | +       |        | +     |
| Acetobacter     |        |      | +       |    |         |        |         |        |       |
| Alcaligenes     | +      | +    | +       |    |         | +      |         | +      |       |
| Achromobacter   | +      | +    | +       |    | +       | +      | +       |        |       |
| Flavobacterium  | +      | +    | +       |    |         | +      |         |        |       |
| Escherichia     | +      | +    |         |    | +       |        |         |        | +     |
| Aerobacter      | +      | +    | +       |    | +       |        |         |        | +     |
| Erwinia         |        |      | +       |    |         |        |         |        |       |
| Serratia        | +      | +    | +       |    |         |        |         |        |       |
| Proteus         | +      | +    |         |    | +       | +      |         | +      | +     |
| Salmonella      | +      | +    |         |    | +       | +      | +       | +      | +     |
| Shigalla        |        | +    |         |    |         |        |         |        | +     |
| Brucella        |        |      |         |    | +       |        |         |        | +     |
| Micrococcus     | +      | +    | +       | +  | +       | +      |         |        | +     |
| Staphylococcus  |        |      |         |    | +       |        |         |        | +     |
| Kurthia         |        |      | +       |    | +       |        |         |        |       |
| Streptococcus   | +      | +    | +       |    | +       |        |         |        | +     |
| Leuconostoc     | +      |      | +       |    | +       |        |         |        |       |
| Lactobacillus   | +      |      | +       |    | +       |        |         |        |       |
| Microbacterium  | +      |      |         |    |         |        |         |        |       |
| Corynebacterium | +      |      | +       |    |         | +      |         |        | +     |
| Bacillus        | +      | +    | +       | +  | +       | +      | +       |        |       |
| Clostridium     | +      | +    | +       |    | +       | +      |         | +      | +     |

### 1.5 Factores condicionantes da multiplicação microbiana nos alimentos

Para que se mantenha o equilíbrio entre o produto alimentar, nas suas características organolépticas e higiénicas, e a flora que o

contamina é necessário que a taxa de multiplicação desta seja mínima. Essa finalidade pode conseguir-se artificialmente na confecção dos alimentos mediante mecanismos de defesa à semelhança dos mecanismos de defesa naturais que permitem esse mesmo equilíbrio nos tecidos vegetais e animais.

Os mecanismos de defesa naturais são obtidos a partir de:

pH — Para valores de  $\text{pH} < 4$  os alimentos apresentam normalmente boas características higiénicas. Fazem parte destes produtos frutos, sumos de frutos, vinhos, vinagres, conservas de ananás, etc. Apenas bolores e leveduras conduzem à sua alteração, devido à capacidade destes germes se multiplicarem em meio ácido.

HUMIDADE — Os microrganismos, como qualquer célula viva, necessitam de água para se multiplicarem. Essa necessidade é expressa pela «actividade de água» ou «água livre» ( $a_w$ ) do meio ambiente e define-se pela razão entre a pressão de vapor de água do substrato alimentar e a pressão do vapor de água pura à mesma temperatura:

$$a_w = p/p_0$$

A maior parte da flora de alteração requer  $a_w > 0,91$ , mas os bolores e algumas leveduras são menos exigentes, podendo multiplicar-se mesmo com valores de  $a_w < 0,80$ . Exemplos de limites mínimos de  $a_w$  tolerados por alguns microrganismos de grande interesse na contaminação de alimentos:

|                                                     |              |
|-----------------------------------------------------|--------------|
| <i>E. coli</i> .....                                | $a_w = 0,96$ |
| <i>Cl. botulinum</i> .....                          | $a_w = 0,95$ |
| <i>Staphylococcus</i> produtores de coagulase ..... | $a_w = 0,86$ |
| bactérias halófitas .....                           | $a_w = 0,75$ |
| a maioria das leveduras .....                       | $a_w = 0,88$ |
| a maioria dos bolores .....                         | $a_w = 0,80$ |
| bolores xerófilos .....                             | $a_w = 0,65$ |
| leveduras osmófilas .....                           | $a_w = 0,60$ |

(Segundo JAY, M. James — Modern Food Microbiology).

POTENCIAL DE OXIDAÇÃO/REDUÇÃO — A expressão

$$-\Delta F = RT \log \frac{\text{Ox}}{\text{Red}} - RT \log k$$

representa a energia posta em jogo numa reacção de oxidação/redução quando um substrato reduzido é oxidado e pode exprimir-se em unidades eléctricas.  $RT \log k$  é a constante

de equilíbrio da reacção e permite calcular teoricamente o potencial da oxidação/redução (Eh). A diferença de potencial entre dois substratos origina a transferência de electrões do substrato de potencial negativo para o de potencial positivo. O potencial de oxidação/redução significa a maior ou menor facilidade de se estabelecer o fluxo electrónico.

A probabilidade da multiplicação dos microrganismos nos alimentos depende da tensão de oxigénio e do potencial de oxidação/redução. Segundo FRAZIER, esse potencial é determinado:

- 1 — pelo potencial de O/R característico do alimento original
- 2 — pela «poising capacity», ou seja, a resistência do alimento à mudança de potencial
- 3 — pela tensão de oxigénio da atmosfera onde se encontra o alimento
- 4 — pela facilidade de acesso da atmosfera ao alimento.

Os valores de Eh positivos são essenciais ao desenvolvimento de microrganismos aeróbios enquanto que os microrganismos anaeróbios requerem valores de Eh negativos. O género *Clostridium* exige um Eh cerca de  $-200$  mv para iniciar o seu crescimento. Certos germes microaerófilos exigem determinados limites de tensão de oxigénio; outros, aeróbios-anaeróbios, suportam igualmente condições de aerobiose e anaerobiose. O conhecimento dos limites do potencial de oxidação/redução dos alimentos de origem vegetal e animal permite uma avaliação aproximada dos tipos de flora presente. Enquanto que os alimentos de origem vegetal, cujos valores de Eh oscilam entre  $+300$  e  $+400$  mv, têm uma flora bacteriana predominantemente aeróbia, as carnes, cujos valores de Eh são mais baixos e até negativos no interior do músculo, são contaminadas muitas vezes por flora anaeróbia o mesmo acontecendo com os queijos e outros produtos. BARNES e INGRAM (1955 e 1956) estudaram os valores de Eh das carnes imediatamente após a morte dos animais e passados períodos de tempo mais ou menos longos relacionando-os com o tipo de flora correspondente. Verificaram que os valores de Eh na primeira fase eram altos, cerca de  $+200$  e  $+250$  mv e a flora era essen-

cialmente aeróbia, e que em fases subsequentes apresentavam valores de  $-130$ ,  $-250$  mv, etc., revelando uma flora predominantemente anaeróbia.

**CONSTITUINTES** — Os alimentos, pela sua natureza e consequente composição, condicionam o desenvolvimento da flora contaminante, seleccionando-a, até certo ponto, segundo a sua capacidade de síntese. Assim, enquanto que a maioria das bactérias gram positivas, para se multiplicarem, exigem a presença de determinados factores de crescimento (aminoácidos, certas vitaminas, etc.), os bolores e as bactérias gram negativas são menos exigentes em relação a estes factores, porque possuem maior poder de síntese.

A presença de certas substâncias naturais antimicrobianas, como as lactaninas e o factor anticólliforme do leite fresco ou a fase lipídica da manteiga, são moderadores do desenvolvimento da flora contaminante, contribuindo para a estabilidade dos alimentos. No entanto, alguns microrganismos utilizam os lípidos como fontes de energia.

**ESTRUTURAS BIOLÓGICAS** — Certas estruturas de protecção natural como a casca de frutos e dos ovos, a pele de peixe e de carne são elementos de protecção contra o desenvolvimento da flora contaminante.

Os mecanismos artificiais de defesa (conservação) são obtidos a partir de:

1) adição de produtos conservantes tais como: antibióticos, nitratos, nitritos, açúcares, ácido benzóico, anidrido sulfuroso, etc.

2) desidratação, processo baseado na subacção de água aos alimentos. Os microrganismos exigem determinados valores de «aw» para se manterem activos. Quando esses valores se tornam inferiores aos limites mínimos tolerados, a actividade enzimática e celular cessa. Os microrganismos mantêm-se, no entanto, viáveis, na maioria dos casos, sendo revivificados no acto da hidratação.

3) salga e salmoura, dois processos de conservação muito antigos. A salga baseia-se na acção conservante do cloreto de sódio. A salmoura, baseia-se principalmente na acção conservante do cloreto de sódio, açúcar, nitrato de sódio e nitrito de sódio. Os dois processos determinam uma diminuição de «aw» do produto e simultaneamente, contribuem

para o paladar característico do mesmo. O nitrato de sódio e nitrito de sódio têm, em meio ácido, uma certa acção bacteriostática sobre a flora anaeróbia e desempenham papel importante no processo da cura.

4) fumagem — esta técnica contribui, não só para a conservação do alimento, mediante impregnação superficial deste por substâncias químicas do fumo adjuvadas pela acção simultânea de aquecimento e secagem, como também, para o paladar e para o aspecto, tanto superficial como interior, do produto

5) emprego do calor e do frio — os microrganismos, conforme o valor das temperaturas a que forem sujeitos, têm comportamentos diferentes. Para valores superiores a  $60^{\circ}\text{C}$ , as formas vegetativas podem ser destruídas por valores de temperatura dependentes do tempo de exposição, natureza dos germes, do substrato alimentar e da humidade. Para valores inferiores a  $-5^{\circ}\text{C}$ , as formas vegetativas podem ser inibidas no seu crescimento, dependendo as temperaturas da natureza do germe

6) emprego de radiações — este processo baseia-se no poder destruidor de certas radiações:

— luz ultra-violeta — radiação de comprimento de onda muito pequeno ( $40$  a  $4000 \text{ \AA}$ ). Actua sobre os ácidos nucleicos produzindo mutações que podem ser letais para a célula. O seu fraco poder penetrante restringe o seu emprego na conservação de alimentos.

— raios beta — corrente de electrões emitidos por substâncias radioactivas, ou pelo cátodo de dispositivos apropriados. Os raios catódicos mais usados na conservação de alimentos, são os emitidos por aceleradores lineares.

— raios gama — radiações electromagnéticas ( $0,002$  a  $2,5 \text{ \AA}$ ). São muito penetrantes e constituem um dos mais eficazes e menos dispendiosos processos de conservação de alimentos por radiação.

— raios X — radiações penetrantes ( $0,01$  a  $350 \text{ \AA}$ ).

— micro-ondas — energia que se manifesta como efeito calorífico, derivada da fricção intermolecular induzida nos alimentos colocados sob a acção de um campo electromagnético. Processo utilizado na destruição de bolores no pão, na pasteurização da cerveja e esterilização do vinho.

As técnicas que utilizam o emprego de radiações (Gama ou Beta) na conservação de alimentos podem conduzir a um estado de:

a) «esterilidade comercial» — «radappertization» —, processo considerado com muito interesse na destruição de esporos e toxinas de *Clostridium botulinum*.

b) pasteurização, que pode corresponder a dois graus:

— «radicidation»: equivalente à pasteurização do leite, conduz à redução da flora patogénica não esporulada, de maneira que esta não possa ser detectada por qualquer método «standard».

— «radurization»: processo equivalente à pasteurização. Visa a destruição da maioria da flora viável de contaminação, implicada na alteração dos alimentos. Se a dose de radiação e as condições de aplicação forem as adequadas, o principal inconveniente da sua aplicação — a todos os alimentos — reside na possível alteração da cor e odor que pode originar em alguns. Estas alterações têm-se revelado pouco importantes no tratamento de presunto, o que leva muitos autores a aconselhá-la neste caso.

Para o peixe e mariscos, vegetais e frutos, tem-se revelado eficaz o tratamento por radurização, muito activo sobre a maioria da flora Gram negativa não esporulada, a qual constitui uma importante carga na contaminação destes produtos (JAY).

## 1.6 Toxi-infecções alimentares

Sob esta designação englobam-se as síndromas de gastroenterite aguda, de carácter tóxico ou infeccioso, que surgem, mais ou menos bruscamente, devido à ingestão de alimentos contaminados. Podem apresentar forma epidémica (colectiva ou familiar) ou esporádica. São devidas à presença, no alimento ingerido, de: a) toxina pré-formada durante a multiplicação da espécie bacteriana contaminante; b) bactérias patogénicas, aparentemente não toxigenéticas; c) contaminação maciça por certos germes habitualmente não patogénicos. O botulismo é incluído nas toxi-infecções alimentares, embora seja uma doença com fraca sintomatologia digestiva, em que a toxina produzida por *Clostridium botulinum* origina paralisia muscular grave, por bloqueio dos estímulos nervosos.

Na actualidade, a incidência de surtos de toxi-infecção alimentar continua a ser um importante problema de saúde pública em todo o mundo, com implicações, de ordem económica, consideráveis.

As exigências da vida actual, nos grandes centros populacionais, tornam cada vez mais necessário o recurso à alimentação colectiva que se vai tornando habitual, sobretudo, da população trabalhadora e estudantil. A expansão deste tipo de refeições, partilhadas simultaneamente por numerosas pessoas, contribui para uma maior frequência de surtos de toxi-infecção alimentar.

Com efeito, a grande quantidade de alimentos preparados, o grande número de refeições servidas e o numeroso e variado pessoal empregado na sua confecção e distribuição, aumentam a probabilidade da contaminação acidental e facilitam a sua rápida disseminação.

Os factores concorrentes para a multiplicação bacteriana nos diferentes substratos alimentares, a possibilidade de produção de toxina, a descoberta de métodos rápidos, práticos e eficientes para a sua identificação e a consequente adaptação de técnicas, são objecto de estudo contínuo e progressivo que muito concorre para a diminuição de ocorrência das toxi-infecções alimentares.

### 1.6.1 Intoxicação estafilocócica

**Síndrome** — O quadro clínico manifesta-se com sintomatologia de gastroenterite aguda, dor na região epigástrica, vómitos e diarreia profusa e estado de grande abatimento. Os sintomas surgem num período de tempo relativamente curto (mais ou menos 2 a 4 horas após a ingestão) dependente da dose ingerida e do estado de resistência do indivíduo.

**Agente causal** — A intoxicação é provocada por enterotoxinas extracelulares produzidas por estirpes de *Staphylococcus* toxigenéticas durante o período da multiplicação no alimento. Não tem sido possível encontrar características especificamente distintivas destas estirpes, apesar dos numerosos estudos realizados nesse sentido. Apenas a produção de toxina tem permitido detectá-las com rigor. Na maioria são coagulase positiva, mas nem todas as que produzem coagulase libertam toxina e OMORI et al (1960) BERGDOLL (1967) referem estirpes coagulase negativa como agentes etiológicos desta síndrome. Neste

caso, deve-se investigar a capacidade dessas estirpes para produzirem lisozima que parece ser um factor de patogenese. Só quando, por multiplicação celular no alimento, o número de estafilococos atinge valores superiores a  $10^5$  ou  $10^6$ , a toxina produzida é suficiente para originar intoxicação. No entanto, CASMAN (1965) refere casos de sintomatologia característica resultantes da multiplicação de estirpes enterotoxinogénicas no tracto intestinal.

*Factores condicionantes da multiplicação nos alimentos* — Não é muito exigente em factores de crescimento, mas requer aminoácidos como fonte de azoto, ácido nicotínico e tiamina. É grande a capacidade de resistência destes germes às condições do meio ambiente e pode ser favorecida pela natureza do substrato alimentar, no qual a presença de lípidos exerce uma acção protectora contra a temperatura de pasteurização.

1) temperatura — o crescimento óptimo verifica-se para valores de  $37^\circ\text{C}$ , mas em certos alimentos pode haver multiplicação a  $6,7^\circ\text{C}$ , facto a considerar no problema da conservação em frigoríficos vulgares.

2) pH — tolera uma grande variação de amplitude nos valores de pH (2 a 10) sendo mais favoráveis os da zona neutra.

*Enterotoxinas* — Os factores que condicionam a produção de enterotoxinas são o motivo de aturada investigação na actualidade. Segundo as estirpes e as condições em que se multiplicam, a produção da toxina não decorre da mesma maneira. Alguns autores relatam o seu início durante a fase logarítmica de crescimento (aproximadamente 6 horas de cultura) aumentando a produção durante a fase estacionária. Outros, trabalhando com a estirpe  $S_6$ , verificaram que 95% de enterotoxina B se produzia durante a última parte da fase logarítmica de crescimento e demonstraram a possibilidade da formação desta enterotoxina em células que não estavam em multiplicação. Com a mesma estirpe, MORSE et al (1969) atribuíram à fase post-exponencial a maior produção de toxina, relacionando-a com a síntese de proteína total e verificaram que o cloranfenicol, inibindo a produção de enterotoxinas, reforçava a hipótese desta estar dependente da síntese proteica. Estudos realizados ainda sobre a sua formação em presuntos e outras carnes curadas relacionando-a, por um lado com a percentagem de  $\text{ClNa}$ ,  $\text{NaNO}_2$  e  $\text{NaNO}_3$  e por outro lado, com o pH do meio,

temperatura e tipo de cultura (aeróbia ou anaeróbia), levaram a considerá-la na dependência da natureza do alimento, da temperatura de conservação deste, do seu pH, da presença de inibidores e das características da estirpe. A acção inibidora do  $\text{ClNa}$  depende dos valores de pH do alimento e da temperatura de conservação. Para maiores concentrações deste sal, a multiplicação de estafilococos exige valores de pH mais altos. Duma maneira geral, os autores consideram que a produção de enterotoxina é favorecida pelas condições óptimas de crescimento das estirpes em causa.

Já referimos o homem como uma importante fonte de contaminação dos alimentos e neste caso ele constitui a principal via de disseminação. Portador de estirpes patogénicas de estafilococos que transporta na nasofaringe, pele, braços, mãos, vestuário, facilmente as transmite aos alimentos, não sendo possível erradicar estes focos de contaminação.

#### 1.6.2 Intoxicação botulínica

*Síndrome* — É uma das formas mais graves de intoxicação de origem bacteriana, provocada pela ingestão de alimentos. Os sintomas são essencialmente de carácter neurológico e caracterizam-se por fadiga, dores de cabeça, náusea e vômitos, obstipação, secura de pele, boca e garganta, temperatura normal ou ligeira hipotermia, pulso acelerado, diplopia e paralisia muscular progressiva que atinge o sistema respiratório ou o coração originando a morte. Nas formas menos graves só aparecem perturbações oculares e secretórias. O período de incubação depende do tipo serológico, da dose de toxina ingerida e da resistência do indivíduo. Varia entre 2 e 36 horas, após a ingestão, mas pode atingir de 6 a 10 dias. A taxa de mortalidade varia de 30% a 65%.

*Agente causal* — A intoxicação botulínica deve-se à formação de exotoxina solúvel muito tóxica, no decurso da multiplicação de *Clostridium botulinum* no alimento. Há seis tipos diferentes de *Clostridium botulinum* (A, B, C, D, E, e F) responsáveis pela formação de toxinas serologicamente específicas. Os tipos A, B, E e F provocam doença no homem, sendo a maioria dos casos conhecidos, atribuídos aos tipos A e B. O tipo C causa botulismo em certos animais (gado e aves) e o tipo D encontra-se frequentemente na alimentação destinada a animais.

### *Factores condicionantes da multiplicação nos alimentos*

1) temperatura — a temperatura óptima de crescimento é de 37° C para os tipos A e B, mas podem multiplicar-se a 12,5° C, e é de 30° C para o tipo E que, segundo alguns autores (SCHMIDT et al 1961), pode crescer e produzir toxina a 3,3° C.

2) pH — o valor de pH considerado limite para a multiplicação de *Clostridium botulinum* tem sido 4,5, no entanto, este valor depende da composição do substrato alimentar e da presença de outros germes. MEYER et GUNNISON (1929) relatam que a presença de leveduras torna possível a multiplicação e produção de toxina em alimentos cujo valor de pH é igual a 4. Isto pode talvez atribuir-se à produção de factores de crescimento que neutralizam o efeito de pH.

*Distribuição* — O estudo da distribuição ecológica dos tipos serológicos de *Clostridium botulinum* tem conduzido a resultados interessantes. Os tipos A e B são mais frequentes no solo e estrume, passando destes à água. O tipo E encontra-se com mais frequência na água do mar e nos peixes. Estudos feitos por PEDERSON (1955) no porto de Copenhague em amostras de vasa, revelaram uma positividade de 84% do tipo E, enquanto que em amostras do solo era apenas de 26%; BOTT et al (1966) encontraram esporos do tipo E em 9% do peixe pescado no lago Michigan e em 57% do peixe apanhado em Green Bay. PACE et al (1967) relataram uma incidência de 21% do tipo E em tanques de salmoura.

Os alimentos mais incriminados como causadores deste tipo de intoxicação, são as conservas e semiconservas principalmente de preparação caseira, que favorecem as condições de anaerobiose necessárias à germinação dos esporos de *Clostridium botulinum* e consequente multiplicação das formas vegetativas. Também as empadas preparadas com carnes variadas fumadas e frescas, como presunto, fiambre, enchidos, carne de galináceos e de porco são responsáveis por muitos casos graves de botulismo.

#### *1.6.3 Toxi-infecções por Clostridium perfringens (welchii)*

*Síndrome* — É caracterizado por gastroenterite aguda, com dores abdominais, diarreia, náusea, raramente vômitos e estado febril. Os

sintomas surgem num período de cerca de 10 a 20 horas após a ingestão do alimento contaminado, geralmente não apresentam aspecto grave a não ser em casos de pessoas fisicamente depauperadas. A recuperação verifica-se num curto espaço de tempo, mais ou menos um dia.

*Agente causal* — *Clostridium perfringens* — As estirpes mais frequentemente associadas a toxi-infecções alimentares pertencem, na grande maioria, ao tipo A, havendo raros casos associados ao tipo F.

Segundo os autores ingleses (HOBBS et al), as estirpes do tipo A implicadas em casos de toxi-infecção alimentar, distinguem-se das responsáveis da gangrena gasosa, em produzirem apenas leves vestígios de toxina  $\alpha$  (lecitinase), não produzirem toxina  $\theta$  e ainda, pela termo-resistência dos seus esporos. Neste aspecto há uma certa divergência entre as características atribuídas a estas estirpes pelos autores ingleses e americanos. ANGELOTTI et al (1962) estudando 83 estirpes, 30 isoladas no continente europeu e na Ásia, 28 isoladas nos Estados Unidos e 25 provenientes de outras fontes, todas implicadas em casos de gastroenterite, concluíram que as estirpes de intoxicações alimentares, isoladas na América, apresentavam características variáveis, não se restringindo ao critério de apreciação estabelecido na Inglaterra.

As estirpes responsáveis por casos de toxi-infecção alimentar pertencentes ao tipo F, diferem das outras estirpes deste tipo por não produzirem toxina  $\beta$ .

### *Factores condicionantes da multiplicação nos alimentos*

1) temperatura — os limites tolerados situam-se entre +20° C e +50° C e a temperatura óptima de crescimento, entre 37° C e 46° C. Quanto à sobrevivência a temperaturas negativas, estudos feitos por STRONG e CANADA (1964) permitiram-lhes concluir que apenas cerca de 4% das formas vegetativas se mantinham viáveis após 180 dias de permanência a -17,7° C, enquanto que para os esporos exsicados nas mesmas condições de conservação a taxa de sobrevivência era de 40%, quando o período de conservação era de 90 dias e de 11%, quando o período de conservação era de 180 dias.

2) pH — os valores limites admitidos pelas estirpes estudadas são de 5,5 e 8,0.



3) potencial de O/R — apesar de se tratar duma bactéria anaeróbia, pouco exigente em condições redutoras, o crescimento processa-se sem aumento da fase de latência para valores de Eh iguais ou inferiores a -45 mV; para valores de Eh mais positivos verifica-se um aumento da latência.

**Distribuição** — As estirpes capazes de produzir intoxicação alimentar encontram-se na natureza em abundância: no solo, na água, nos esgotos, na poeira e no tracto intestinal do homem e dos animais. A sua presença nas carnes é muito frequente, dando-se a contaminação ou directamente após a morte, por bacteriémia, ou no próprio matadouro e através de instrumentos e manipulação. Nos frangos e outras aves de capoeira, a contaminação dá-se geralmente após a evisceração. A contagem dos esporos no suco das carnes é por vezes elevada.

Os alimentos mais frequentemente contaminados são pratos de carne e com molho de carne, em geral, preparados de véspera, especiarias, vegetais, bifes mal passados e frangos grelhados. Entre nós, é frequente também em cozinhados de bacalhau. A contaminação dos alimentos nem sempre se processa através dos produtos de origem. Algumas vezes deve-se a ambientes impróprios para confecção culinária. Foi possível constatar esse facto, numa série de ocorrências, pouco intervaladas, de toxi-infecção alimentar numa instituição de ensino, cujas análises, realizadas por nós, revelaram *Clostridium perfringens* como agente responsável. Nos diversos surtos estudados, os alimentos eram variados, mas todos, incluindo sopas e peixe frito, estavam contaminados por *Clostridium perfringens*. Comunicado o resultado das análises aos serviços de higiene da Direcção-Geral de Saúde e expondo-se-lhes as nossas apreciações, foi efectuada uma visita ao local. Verificou-se que devido a obras internas que abrangiam o refectório e a cozinha, estes passaram a funcionar no quintal, onde o vento disseminava poeiras e detritos resultantes do trabalho dos operários.

Muitos produtos alimentares analisados no nosso laboratório revelam a presença de *Clostridium perfringens* e dos seus esporos, embora em contagem não alarmante. JAY (1970) refere que as toxi-infecções alimentares devidas a *Clostridium perfringens* devem ocupar o segundo ou, quando muito, o terceiro lugar na América. Com efeito, WOODWARD et al (1968) atribuem 16% das intoxicações alimentares

ocorridas em 1967 em 37 estados a *Clostridium perfringens*, sendo a carne o alimento mais incriminado. Nestes últimos anos muitos trabalhos entre os quais os de SEBALD et CASSIER (1970) tentam abrir novos caminhos para o estudo e interpretação dos mecanismos de termo-resistência e germinação dos esporos das estirpes de *Clostridium perfringens* isoladas de toxi-infecções alimentares.

A partir de trabalhos de HOBBS, consideram-se duas variantes de *Clostridium perfringens* do tipo A:

- 1) as estirpes clássicas produtoras de toxina  $\alpha$  e de esporos de termo-resistência fraca.
- 2) as estirpes atípicas isoladas de toxi-infecções alimentares que não produzem ou só produzem traços de toxina  $\alpha$  e dão origem a esporos de grande termo-resistência. No entanto, se o meio de contagem de esporos for adicionado de lisozima, a diferença de termo-resistência entre as estirpes clássicas e atípicas diminui consideravelmente. Essa diferença parece assentar numa lisozima-dependência dos esporos das estirpes clássicas que, pela acção do aquecimento, sofreram lesões no cortex, com possível destruição de enzimas interferentes no processo de germinação; eles permanecem dormentes, mas viáveis. A termo-resistência das estirpes atípicas é independente da presença ou ausência de lisozima. No entanto, segundo alguns autores, as estirpes clássicas podem também originar toxi-infecções alimentares. MANSCHILD (1968) considera para as estirpes termo-sensíveis Lzd+:

- nem todas produzem toxina  $\alpha$
- podem ser responsáveis por toxi-infecções alimentares
- as estirpes atípicas podem produzir toxina  $\alpha$  e precisar de lisozima para germinarem.

Os estudos continuam em busca do verdadeiro mecanismo de actuação destas estirpes. Por enquanto, o melhor processo de as identificar consiste em evidenciar, in vivo, o poder enterotóxico recorrendo à prova de «l'anse ligaturée».

Na grande maioria dos alimentos em cuja constituição entra carne, analisados no laboratório de Microbiologia Alimentar do INSA, a presença de *Clostridium perfringens* é positiva em um grama de produto. Mas numa apre-



ciável percentagem de amostras só se consegue isolar clostrídios, a partir de sementelras efectuadas no meio de Rosenow, sendo a contagem de esporos sulfito-redutores geralmente baixa e até negativa.

#### 1.6.4 Toxi-infecções alimentares por *Bacillus Cereus*

**Síndrome** — A sintomatologia aparece cerca de 12 a 13 horas após a ingestão e a duração não excede geralmente 6 a 12 horas, excepto quando se trata de pessoas com defesas diminuídas. Caracteriza-se por ausência de febre, náusea, que raramente condz a vômitos, dores abdominais e diarreia líquida. MOSSEL et al (1967) consideram necessária uma densidade bacteriana de  $10^7/g$ , para causar sintomas, excepto quando se trata de crianças, pessoas idosas ou doentes para os quais é suficiente  $10^6/g$ .

**Agente causal** — *Bacillus cereus*. Desde 1947 que PLAZIKOWSKY o considerou associado a toxi-infecções alimentares na Europa. Nos Estados Unidos a incidência parece mais diminuta. O grau de patogenicidade deste microrganismo é pequeno. No entanto, DACK (1956) refere vários surtos de toxi-infecção na Noruega, associados a farinha e cereais.

Os alimentos mais incriminados são: cereais, puré de batata, vegetais, pratos de arroz, pudim e sopas (MOSSEL 1967). Não se conhece nenhuma toxina solúvel. Apesar disso, NYGREN (1962) atribui às estirpes de toxi-infecções alimentares, a produção de fosfolipase C.

#### 1.6.5 Toxi-infecções alimentares por *Enterococos*

**Síndrome** — Apresenta características semelhantes às provocadas por *Clostridium perfringens* e *Bacillus cereus*. O período de incubação varia de 3 a 18 horas, após a ingestão de alimentos contaminados, sendo a média de 10 horas. A recuperação é rápida. A verdadeira incidência não é bem conhecida, porque tratando-se duma toxi-infecção de sintomas pouco alarmantes, geralmente, não é comunicada e a maioria dos casos permanece ignorada.

**Agente causal** — *Enterococos*. São bactérias muito resistentes aos meios hostis e as condições que afectam o crescimento variam

com as espécies e as estirpes. Toleram variações grandes de temperatura, de pH, de aw e suportam uma concentração de ClNa de 6.5% ou maior, assim como concentrações de bilis de 40%. Esta tolerância às condições adversas é aproveitada para a sua caracterização. ANGELOTTI et al (1963) estudaram o efeito da permanência a temperaturas de refrigeração e a temperaturas elevadas sobre a sobrevivência e multiplicação de *Enterococos* em alimentos variados. Verificaram que a tolerância era grande, mas que a multiplicação celular era condicionada pela natureza do alimento e temperatura de conservação. Sobrevivem às temperaturas de pasteurização do leite e de certos enlatados (presunto). O tempo necessário para os eliminar, quando submetidos a temperatura adequada, varia com a natureza do alimento. São raros os alimentos analisados na rotina diária que não revelem a presença de enterococos em 1 grama.

A distribuição das espécies e estirpes, não nos parece electiva em relação ao substrato alimentar. *Streptococcus faecalis*, *faecium* e *durans* são encontrados indiferentemente. Da espécie *Streptococcus faecalis* predomina a variedade *liquefaciens*. Temos isolado *Enterococos* na grande maioria dos alimentos analisados, desde os leites em pó, às carnes bem e mal passadas, aves cozinhadas, enlatados pasteurizados, doces, queijo, cremes, etc. São necessárias contagens de germes da ordem de algumas centenas de milhão para que a ingestão do alimento contaminado determine uma sintomatologia característica.

#### 1.6.6 Aflatoxinas

São micotoxinas muito tóxicas produzidas por *Aspergillus flavus*. Têm efeitos hepatocinogénios. Os animais mais sensíveis à sua acção são os patinhos machos.

A sua presença foi revelada em amendoim de proveniência africana e americana, que pode contribuir para transmitir as aflatoxinas aos produtos derivados, como manteiga de amendoim. Resistem à temperatura de esterilização, mas são afectadas pelo NaOCl. Vários autores assinalam a sua possível presença em arroz, diversos cereais e batata doce devido ao desenvolvimento do fungo nestes produtos. A sua produção está relacionada com a temperatura e a humidade. Não foi ainda demonstrada a sua toxicidade para o homem.

### 1.6.7 Infecção por *Salmonella*

**Síndrome** — É de gravidade variável dependente da espécie, do número de bactérias ingeridas e da susceptibilidade individual. A taxa de mortalidade é de 4,1%, variando de 5,8% durante o primeiro ano de vida a 2% entre o primeiro e o quinquagésimo, atingindo 15% em pessoas com mais de cinquenta anos (PROST e RIEMANN, 1967). Caracteriza-se por náusea, vômitos, dores abdominais geralmente menos intensas que as correspondentes à intoxicação por *Staphylococcus*, diarreia, febre, prostração e cefaleia. Estes sintomas persistem durante 2 a 5 dias e são motivados pela ingestão de um alimento onde tenha havido intensa multiplicação do serotipo ou serotipos contaminantes. A densidade bacteriana só é significativa quando atinge e ultrapassa valores de  $10^6$ . O mecanismo de acção atribui-se à endotoxina libertada pela acção de proteases e da acidez do suco gástrico. Cerca de 5% dos doentes permanecem portadores após a cura por períodos de tempo variáveis, contribuindo para a disseminação.

**Agente causal** — Pertence ao género *Salmonella*. Este género inclui um grande número de espécies patogénicas para o homem ou animais e, geralmente para ambos. Há três formas distintas de salmonelose no homem:

- febres entéricas
- septicémias
- gastroenterites agudas.

As febres entéricas são causadas pela ingestão de alimentos ou água contaminados por *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B* e *S. paratyphi C*. O período de incubação varia entre 7 e 14 dias. Apresenta-se sob uma forma mais grave a febre entérica provocada por *S. typhi*.

As septicémias devidas a *Salmonella*, aparentemente não envolvem o tracto intestinal. São, em geral, provocadas por *S. choleraesuis*.

As gastroenterites agudas são doenças provocadas pela ingestão de alimentos ou água, contaminados por serotipos de *Salmonella* que afectam principalmente o tracto intestinal. O período de incubação é muito mais curto que o das febres entéricas (12 a 24 h.) podendo ser maior ou menor.

**Distribuição** — Na actualidade, as salmonelas encontram-se largamente distribuídas por todos os continentes. O seu habitat é o tracto intestinal do homem e dos animais. Excretadas pelas fezes e urina, regressam ao homem e animais através das fontes de contaminação. Neste ciclo representam papel importante os insectos, os roedores, a água, os alimentos crus ou cozinhados e as rações animais. Os alimentos são contaminados pelos manipuladores e pelos produtos que entram na sua composição, tais como: carne infectada após a matança dos animais, durante a evisceração ou pelo ambiente do matadouro, os ovos e seus derivados, cuja percentagem de contaminação é de 2,6% a 7,0 (PROST e RIEMANN, 1967), a água e vegetais mal lavados.

A presença de *Salmonella* também pode verificar-se no baço, fígado, gânglios linfáticos e mesentéricos, etc. Os gânglios linfáticos são os de maior incidência (KAMPELMACHER, 1963). SADLER e CORSTVET (1965) referem uma taxa de 3 a 5% em frangos a seguir à matança. No estudo do rumen de gado saudável após a matança, GRAU e BROWNLIE (1968) encontraram salmonelas em 45% dos casos e em 57% de amostras colhidas no ambiente que constituía o trânsito para o matadouro. Nos ovos, principalmente os de pata, é frequente a presença de *S. typhimurium*. Os alimentos confeccionados com estes, devem ser sujeitos a um tratamento térmico que assegure a destruição destes germes. Tal não se verifica com certos cremes, mousse de chocolate, cobertura de doces, etc. JAY (1970) refere um diagrama sobre o número e percentagem de salmonelas isoladas de algumas fontes, excepto a humana, nos E. U. A. em 1966 (quadro n.º 3). Em geral verifica-se paralelismo entre a incidência dos mesmos serotipos nos alimentos e no homem e animais.

O quadro número 4 apresenta uma série de alimentos e de farinhas de peixe, todos relacionados com o isolamento de salmonelas efectuado no Instituto Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge de 1950 a 1971 (FIGUEIREDO). Os alimentos destinados à alimentação humana foram enviados por Delegações de Saúde de Lisboa e de outras regiões do País e ainda por organismos particulares, para esclarecimento de surtos de toxi-infecção alimentar. Não se apresentam percentagens por não se considerarem significativas, dada a variedade e o pequeno número de produtos analisados, correspondendo alguns isolamentos a elementos

de um mesmo surto (casos de queijo fresco e de pão de ló). A pesquisa efectuada nas finhas de peixe corresponde a análises de controlo de produção.

É de notar, o pequeno número de casos de toxi-infecções alimentares suspeitos de salmonelose comunicados aos serviços de saúde durante o período de vinte anos referido.

### QUADRO 3

**Número e percentagens de isolamentos de *Salmonella* spp das fontes referidas, nos E.U.A.**

| Fontes                                             | N.º de casos isolados | Percentagem |
|----------------------------------------------------|-----------------------|-------------|
| Perús                                              | 1860                  | 24,1%       |
| Frangos                                            | 1403                  | 18,2%       |
| Rações animais                                     | 1274                  | 16,5%       |
| Porcos                                             | 584                   | 7,6%        |
| Produtos glandulares isolados de animais e outros  | 467                   | 6,0%        |
| Ovos                                               | 409                   | 5,3%        |
| Gado                                               | 346                   | 4,5%        |
| Outros animais domésticos e selvagens              | 297                   | 3,9%        |
| Leite em pó                                        | 271                   | 3,5%        |
| Outros alimentos humanos                           | 247                   | 3,2%        |
| Água, incluindo 93 isolamentos a partir de esgotos | 196                   | 2,5%        |
| Vertebrados de sangue frio                         | 361                   | 2,1%        |
| Outras aves domésticas e selvagens                 | 192                   | 2,5%        |

#### *Factores condicionantes da multiplicação*

A maioria dos alimentos destinados à alimentação humana permite, pela sua natureza nutritiva, a multiplicação de salmonelas. Alguns, por falta de elementos necessários ao crescimento, mantêm-nas apenas viáveis, constituindo vias de disseminação.

1) Temperatura — são bactérias mesófilas com uma temperatura óptima de crescimento de 37° C. Certos tipos serológicos podem multiplicar-se a temperaturas baixas (5,3° C) como *S. heidelberg* e outros a 45° C. Este valor re-

presenta o limite máximo tolerado como temperatura de multiplicação. A temperatura de 43° C permite um crescimento normal e é utilizada como processo selectivo de cultura, na pesquisa de salmonelas nos produtos alimentares. São facilmente destruídas por pasteurização, mas a temperatura e o tempo de actuação necessários estão na dependência de outros factores, entre os quais, salientamos:

- natureza do substrato alimentar
- serotipo contaminante
- número de salmonelas presentes.

### QUADRO 4

**Alimentos e farinhas de peixe contaminados com *Salmonella*, analisados no Instituto Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge \* nos anos de 1950 a 1971**

| Fontes                              | N.º de casos isolados |
|-------------------------------------|-----------------------|
| Patos                               | 6                     |
| Carne de galinha                    | 1                     |
| Carne de galinha exsiccada          | 1                     |
| Carne de borrego crua               | 1                     |
| Fígado de vaca cru                  | 1                     |
| Pescada congelada crua              | 1                     |
| Enchidos                            | 3                     |
| Presunto cru                        | 1                     |
| Mariscos crus (berbigão e mexilhão) | 15                    |
| Ovos em pó                          | 2                     |
| Ovos de galinha                     | 1                     |
| Ovos de pata                        | 1                     |
| Pratos cozinhados                   | 9                     |
| Maionese                            | 3                     |
| Queijo tipo serra                   | 7                     |
| Queijo fresco                       | 38                    |
| Morangos                            | 1                     |
| Fios de ovos                        | 1                     |
| Bolo recheado com ovos moles        | 1                     |
| Mousse de chocolate                 | 1                     |
| Pão de ló                           | 11                    |
| Arroz doce                          | 2                     |
| Farinhas de peixe                   | 69                    |
| Total                               | 177                   |

\* Actual Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

*Salmonella senftenberg* 775 W é considerada por SHRIMPTON et al (1962) como o serotipo mais termo-resistente. Apresenta maior sensibilidade ao tratamento térmico durante a fase logarítmica de crescimento. O conhecimento desta termo-resistência tem grande interesse e deve ser considerado no processo tecnológico de obtenção de derivados de ovos. Os alimentos sujeitos a temperaturas de 100° C durante o seu processamento podem considerar-se isentos de salmonelas excepto se sofrerem recontaminação após o tratamento térmico.

2) pH — o valor de pH adequado ao crescimento situa-se na zona neutra.

3) aw — como acontece com a maioria dos germes patogénicos, os valores de aw e de pH têm grande influência no processo da multiplicação das salmonelas. Se o pH se situa na zona ácida, mas dentro de limites que permitem o crescimento, este requer valores de aw mais elevados.

As salmonelas não toleram a presença de sal em elevada concentração. Tem sido considerada bactericida uma concentração de ClNa superior a 9%. Também o nitrito exerce acção nociva sobre estes germes, reforçada por valores de pH baixos.

#### 1.6.8 Toxi-infecção por Arizona

*Arizona* — enterobacteriácea com características muito próximas das do género *Salmonella*, foi incluída nele por LE MINOR. Pode encontrar-se no tracto intestinal do homem, de animais e em plantas e tem sido reconhecida como agente etiológico de surtos de toxi-infecção alimentar. A ocorrência dum surto num colégio de 1500 alunos, evidenciou uma taxa de 50% de casos. O alimento incriminado foi peru cuja análise revelou a presença de *Arizona* em contagem de 10<sup>7</sup>/g. Estas ocorrências demonstram a importância da flora gram negativa como contaminante alimentar. Quando os níveis atingidos por essa flora são da ordem de 10<sup>6</sup>/g ou superiores, existe, em potência, a possibilidade de surgirem surtos de toxi-infecção alimentar mesmo que não seja revelada a presença de germes mais frequentemente incriminados.

#### 1.6.9 Toxi-infecção por *E. coli* enteropatogénico

É provável que a possibilidade destes tipos serológicos produzirem surtos de toxi-infecção alimentar seja algumas vezes negligenciada, podendo ser a causa de muitos casos de toxi-infecção alimentar cujo agente etiológico fica por identificar. Um estudo feito sobre a incidência destes serotipos em 219 manipuladores de alimentos revelou 6,4% de portadores (HALL e HAUSER, 1966). Um outro estudo demonstrou que a presença de *E. coli* enteropatogénico nas fezes de adultos e crianças saudáveis era de 1,8 a 15,1%, percentagem mais elevada que a correspondente a salmonelas.

## 2. SERVIÇO DE MICROBIOLOGIA DOS ALIMENTOS

### 2.1 Importância

O bom estado sanitário dos alimentos é indispensável para a manutenção da saúde da população que os consome. Os alimentos, nas diversas fases do ciclo de produção e consumo, são fortemente afectados no seu estado de conservação pelas condições de higiene em que são produzidos e condições de ambiente em que são conservados. Um serviço de microbiologia dos alimentos tem por objectivo o esclarecimento das características microbiológicas que influenciam ou condicionam a deterioração, sob o ponto de vista higiénico e sanitário dos alimentos.

Ressalta, assim, a importância deste serviço ao terem-se em conta as considerações feitas nas páginas anteriores em que vimos a forma variada de alteração dos alimentos e a frequência com que estes são atingidos, podendo pôr em perigo a saúde do consumidor.

Sob o ponto de vista económico também essa importância é de salientar, atendendo aos elevados prejuízos materiais ocasionados pela deterioração microbiológica dos alimentos, que pode levar à sua inutilização total ou à diminuição das suas qualidades nutritivas e higiénicas. Na verdade, são os estudos laboratoriais que revelam a natureza e a intensidade dos factores determinantes da deterioração e, consequentemente, podem ajudar a evitá-la ou remediá-la.

## 2.2 Objectivos

A actividade do serviço visa dois objectivos essenciais:

1 — prestar apoio ao controlo permanente, a executar pelas autoridades sanitárias, das características higiénicas dos alimentos à disposição da população;

2 — prestar apoio à indústria para que se consiga uma produção com boas características higiénicas e um bom estado de conservação para os alimentos, e investigar os meios de tornar esse apoio eficaz.

Para a realização do primeiro objectivo há a considerar as três fases seguintes:

a) colheitas na origem e no comércio, efectuadas com a colaboração de técnicos dos Serviços de Saúde; análise laboratorial. Conforme a finalidade, a análise pode ser dirigida no sentido de:

- determinação dos índices higiénicos para avaliar se o produto é próprio para consumo, contribuindo ainda para a normalização, através do conhecimento dos valores médios desses índices;
- pesquisa dos germes patogénicos conduzindo ao conhecimento da sua incidência nos diferentes tipos de produtos alimentares, com o fim de evitar casos de doença transmitida por alimentos e diminuir a ocorrência de toxí-infecções. Neste aspecto é importante a prospecção de salmonelas nos alimentos existentes nos mercados, aviários, peixarias, talhos, «snacks», cantinas, etc. Idêntica pesquisa deve ser feita para estafilococos, sobretudo nas pastelarias;
- pesquisa microbiológica de conservantes nos alimentos.

Os resultados obtidos e consequentes conclusões servem não só para a elaboração de estatísticas úteis para a realização deste objectivo como para a orientação de possíveis planos de estudo;

b) colaboração na educação sanitária da população. A maioria das pessoas ignoram ou esquecem a existência do mundo

microbiano que as rodeia. Esse desconhecimento é responsável pela falta de hábitos de higiene o que contribui em larga escala para a contaminação dos alimentos. Justifica-se deste modo a contribuição do serviço na divulgação de conceitos de higiene dos alimentos e em cursos de formação de técnicos que colaborem na educação alimentar e sirvam na indústria;

c) Investigação. Deve ser dirigida, por um lado, ao estudo de técnicas laboratoriais que necessitem de aperfeiçoamento e ainda à criação de novos métodos de trabalho. A título de exemplo, refere-se a necessidade de estudar um método mais simples do que aquele de que se dispõe actualmente, para a detecção de toxinas estafilocócicas nos alimentos. Por outro lado, pode ainda ser dirigida:

- num sentido epidemiológico — por exemplo, o estudo da incidência da distribuição ecológica de germes patogénicos, tais como os diferentes tipos serológicos de *Clostridium botulinum*, relacionando essa incidência com o reduzido número de casos de botulismo em Portugal;
- ao estudo de problemas relacionados com a alimentação que se vão apresentando de novo, como a avaliação da importância das toxinas fúngicas em saúde pública.

Para a realização do segundo objectivo temos a considerar:

a) na fase de projecto da industrialização de um alimento, o serviço pode aconselhar e auxiliar a indústria, baseando-se no conhecimento da matéria-prima e das técnicas mais favoráveis para se conseguir boa qualidade da produção. As análises de controlo durante as várias fases do processamento permitem detectar as quebras de qualidade higiénica que devem ser consideradas para efeito da correcção do processo. O controlo do produto acabado permite a apreciação global de fabrico e das características higiénicas finais. O armazenamento consequente deve ser controlado periodicamente em intervalos mais ou menos espaçados, de acordo com a natureza

do alimento, a fim de se verificar se as condições de conservação são apropriadas;

- b) pode ainda um serviço de microbiologia dos alimentos colaborar na verificação das condições sanitárias dos locais de produção e conservação dos alimentos, e, mesmo, funcionar como organismo consultor;
- c) contribuição para o estabelecimento de normas que orientem a produção, indicando-lhe limites para os índices de higiene admissíveis sem prejuízo para a saúde e que permitam a apreciação dos produtos expostos no mercado.
- d) contribuição para o estabelecimento de datas limites de consumo para apanhas embalagens.

### 2.3 Orientação

As actividades propostas têm em conta as atribuições e responsabilidades de um serviço especializado de microbiologia dos alimentos integrado no actual Instituto Nacional de Saúde.

Necessita este serviço de coordenação com organismos de outros departamentos interessados nestes estudos, incluindo os de normalização, serviços de investigação tecnológica ligados à indústria alimentar e, por outro lado, de trabalhar em ligação com as autoridades sanitárias, incluindo Laboratórios de Saúde Pública, e outras entidades oficiais e particulares ligadas ao consumo. Esta coordenação visa uma melhor informação e melhor aproveitamento de recursos evitando desnecessárias duplicações de serviços. O seu funcionamento implica uma orgânica de serviços internos compreendendo a execução de tarefas ligadas à bacteriologia, micologia, parasitologia, virulogia e epidemiologia. Como todos estes serviços existem individualizados num Instituto Nacional de Saúde Pública, a criação de secções independentes especializadas, justifica-se pela natureza própria e volumosa do trabalho a executar e ainda, pela necessidade de especialização do pessoal técnico envolvido nas respectivas tarefas. Isto significa que há necessidade de organizar meios de trabalho adequados no sector da microbiologia alimentar à medida que as exigências, cada vez maiores de dados laboratoriais no fabrico e vigilância dos alimentos se tornam imperativas. Na verdade, é o grau de soli-

citação de trabalho em cada um dos sectores referidos que justifica ou não a sua individualização, compreendendo-se que para um número pequeno de casos se possa recorrer ao serviço geral respectivo do Instituto e não se justifique a existência de secções independentes.

## 3. ESTRUTURAÇÃO DO SERVIÇO

Admitindo que o serviço é constituído por todas as secções indicadas — bacteriologia, micologia, parasitologia, virulogia e epidemiologia — a sua instalação e arranjo funcional deverão obedecer a critérios de aproveitamento de espaço e de facilidade de trabalho.

O exemplo de serviço que é dado a seguir comporta apenas a secção de bacteriologia sob a forma de laboratório completo, com capacidade para analisar cerca de 3000 a 4000 produtos por ano.

### 3.1 Instalação

O laboratório, situado em local com boa higiene exterior, estabelecerá as ligações convenientes com a recepção, de maneira que o trânsito dos alimentos a analisar seja fácil e o menos possível sujeito a contaminações.

Os produtos alimentares a analisar, não devem estar expostos, no laboratório, a condições que favoreçam a sua alteração, o que pode conseguir-se por meio de ambiente climatizado com renovação de ar filtrado, sem turbulência e esterilizável — por meio de radiações ultra-violetas, por exemplo.

O laboratório de bacteriologia será constituído por quatro divisões:

- laboratório para pesquisa e estudo de bactérias aeróbias;
- laboratório para pesquisa e estudo de bactérias anaeróbias;
- gabinete para estudo permitindo trabalho laboratorial;
- gabinete para secretaria, ficheiro e arquivo.

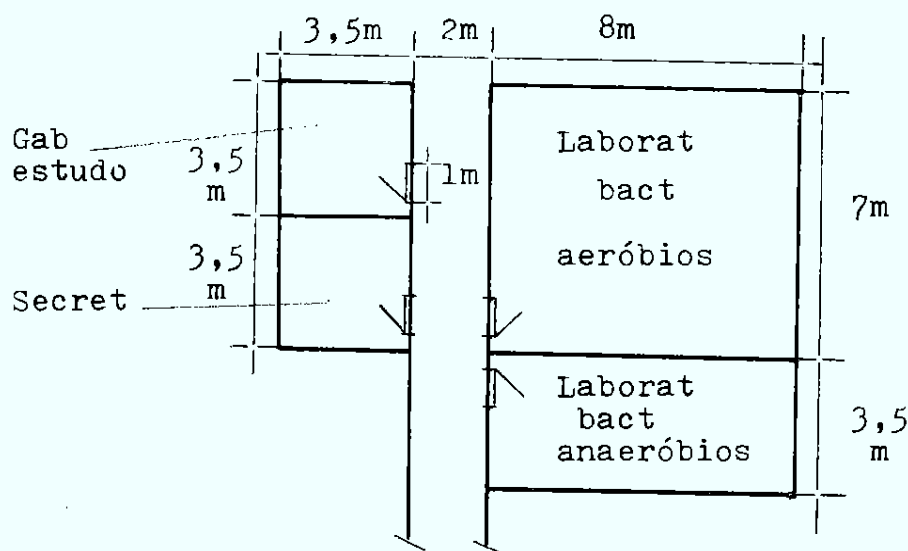
A divisão correspondente ao laboratório de bactérias aeróbias será a de maior dimensão, atendendo ao maior volume de trabalho, necessidade de mais equipamento e de mais pes-

soal. Poderá ter uma área de  $56 \text{ m}^2$ , aproximadamente.

A divisão correspondente ao laboratório de bactérias anaeróbias, geralmente com menos trabalho do que o de aeróbias, poderá ter uma área de  $28 \text{ m}^2$ , mais ou menos.

Cada gabinete poderá ter cerca de  $12 \text{ m}^2$  de área.

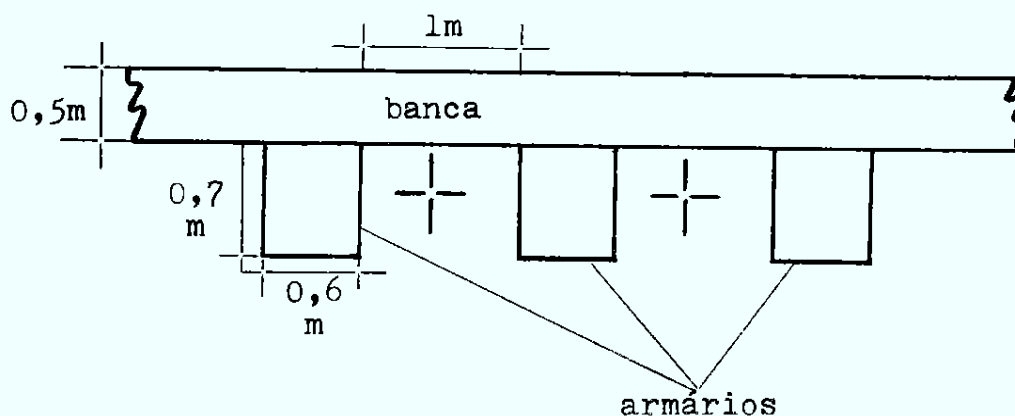
A seguir indicamos, esquematicamente em planta, uma posição relativa dos espaços correspondentes aos laboratórios e gabinetes com as respectivas dimensões.



A banca pode ser compartimentada por forma a que cada operador fique com o seu

espaço de trabalho sem interferências. A divisão poderá ser feita com armários.

Em esquema apresentamos um pormenor da banca



### 3.2 Equipamento

O material necessário ao pleno funcionamento de um laboratório de microbiologia alimentar, não difere em muito do habitual em laboratórios de microbiologia. Contudo, necessita de ser acrescido com alguma aparelhagem adequada à análise de alimentos, que torne as

técnicas mais simples, económicas, rápidas e permita a execução em boas condições de assépsia. Assim, no caso do Laboratório de bacteriologia, para além do equipamento usual, torna-se necessária a aquisição de:

- Câmaras assépticas para manipulações em condições de esterilidade;

- homogeneizadores (tipo Virtis 45 ou outros similares), com sistema de refrigeração e dispondo de material facilmente lavável e esterilizável. O número de peças sobresselentes será calculado a partir do valor médio de análises a efectuar por dia, com utilização do homogeneizador;
- sistema de vácuo, de preferência central. Se este for impossível, o sistema Milipor ou outros idênticos, satisfazem. O número de rampas de filtração com os respectivos suportes de filtros e correspondentes elementos de filtração (Büchner) deverá assegurar a necessidade diária habitual no laboratório. A potência da bomba de pressão e vácuo deve ser adequada ao trabalho que, em média, é necessário realizar por dia;
- aparelho eléctrico para avaliação da «aw» dos alimentos industrializados.
- sistema eléctrico para abertura asséptica de latas (conservas, semiconservas ou quaisquer outros produtos enlatados de capacidade variável);
- faca serrilhada, eléctrica, esterilizável, para cortar carnes e outros alimentos;
- dispositivos manométricos destinados a avaliar a pressão nos enlatados;
- agitadores eléctricos (tipo Mixomat) de preferência munidos de pedal, que permitam uma rápida uniformização das suspensões a partir de amostras mais ou menos compactas. Isto torna-se indispensável na obtenção de diluições correctas destinadas à sementeira de meios de cultura para contagem de colónias;
- termómetro de mostrador circular e haste metálica longa.

Há ainda a considerar a necessidade de uma série de pequenos instrumentos destinados à colheita, corte e fragmentação da amostra, como:

- bisturis; facas serrilhadas de dimensões variáveis; garfos de cabo longo; colheres de diferentes capacidades e de cabo longo; pinças normais e maiores (cerca de 20 a 25 cm de comprimento); abrelatas esterilizáveis, para diferentes tipos de latas.

Características necessárias em algum material de vidro:

- tubos de vidro neutro de boa qualidade aferidos de maneira a indicar os dois níveis volumétricos a atingir com o diluente, antes e após a esterilização. As rolhas de rosca esterilizáveis deverão permitir a vedação total ou parcial a fim de se poder esterilizar o conjunto, diminuindo-se a probabilidade de contaminação accidental;
- as pipetas devem ser bem calibradas e ter um diâmetro interno que facilite a circulação de suspensões, por vezes um tanto espessas (diluições a 1/5 e a 1/10). A sua marcação, assim como a de todo o material de vidro graduado, deverá ser perfeitamente nítida e fixa, para se manter visível após os processos de lavagem, por vezes agressivos, a que é necessário recorrer para se conseguir a eliminação total dos produtos alimentares que contiveram;
- os balões, frascos, tubos de ensaio ou qualquer recipiente de vidro que necessite ser tapado no decurso das análises, deverão ter cápsulas de metal (liga de alumínio) ou de plástico esterilizáveis e munidas de arestas internas que permitam a circulação de vapor ou ar quente durante o processo da esterilização, e a vedação perfeita após esta. A rolha de algodão cardado, continua a ser um processo de oclusão muito usado em material de vidro destinado a culturas microbiológicas, por ser barato e permitir o acesso de ar filtrado através da própria rolha. Contudo, em microbiologia dos alimentos, a valorização da flora esporulada não patogénica, abundante no ambiente (*Bacillus* spp e fungos) torna a rolha de algodão cardado imprópria por constituir, em potência, um foco de contaminação accidental durante o processo de manipulação;
- as placas de Petri, devem ser de vidro neutro e com o fundo bem plano. Seria preferível a utilização de placas de plástico esterilizadas em embalagem própria e destinadas a serem usadas uma só vez sendo rejeitadas após a análise. Têm o inconveniente de se tratar de material demasiado caro para emprego em rotina diária.



Segue-se, em lista sumária, o restante material necessário a um laboratório de bacteriologia.

*Laboratório de bacteriologia de aeróbios:*

Estufas — 55° C  
— 43° C  
— 37° C  
— 30° C  
— 22° C

Frigoríficos

Congeladores

Câmara de contagem automática de colónias

Tina automática de coloração

Banhos-maria sensíveis

Centrífugas

Balanças automáticas de precisão

Microscópios — um equipado para contagem de bolores pelo método de HOWARD e outro com contraste de fase

Lupas manuais — ampliação  $\times 6$

Óculos para protecção de radiações UV

*Laboratório de bacteriologia de anaeróbios:*

Estufas — 55° C  
— 37° C

Frigoríficos

Congeladores

Microscópio

Lupa binocular

Jarras de anaerobiose (Gaspak)

Banhos-maria ferventes com dispositivo para tubos de ensaio

Banhos-maria sensíveis.

**Breve apontamento sobre automatização e mecanização em bacteriologia alimentar**

A análise bacteriológica fundamenta-se essencialmente na pesquisa, contagem e identificação de germes. Pela sua natureza, trata-se de um trabalho cujas técnicas são morosas o que origina um retardamento na saída dos resultados.

Na última década, têm-se feito muitas tentativas para a consecução de métodos que permitam um rendimento útil mais elevado, mediante um melhor aproveitamento do tempo de laboração e do pessoal.

A automatização e mecanização, já largamente adoptadas em outros ramos de saúde pública onde se têm revelado muito eficientes,

surgiram também no domínio da bacteriologia como promessa de resolução de inúmeros problemas ligados ao elevado número de análises que terão de ser executadas diariamente, recorrendo a técnicas trabalhosas e demoradas.

O emprego destes processos tem sido estudado em laboratórios de grandes centros de saúde pública, em laboratórios hospitalares e universitários e ainda em centros de investigação ligados à indústria, laboratórios onde a quantidade de análises justifica a sua aplicação.

No INSA, o recurso à automatização e mecanização, já aplicado no laboratório de química clínica, revelou-se de grande utilidade e eficiência.

Nos laboratórios de bacteriologia, a aplicação destes processos ainda põe alguns problemas, principalmente no sector da automatização. No entanto, o seu emprego começa a estender-se sobretudo a operações morosas e frequentes, como por exemplo, a contagem de microrganismos numa dada suspensão, a contagem de colónias, as técnicas de coloração, etc.

Na contagem de microrganismos numa dada suspensão, o aparelho determina o número e o tamanho relativo de partículas em suspensão num fluido, condutor eléctrico que flui de um tubo para uma tina — o tubo está contido nesta. A suspensão microbiana passa através de um orifício na superfície do tubo que separa dois electrodos (um contido no tubo e o outro na tina). Ao passarem no orifício as partículas alteram a resistência entre os electrodos. Originam-se assim impulsos de altura proporcional às dimensões da partícula. Desta maneira, as partículas a que correspondem impulsos de altura determinada podem ser destacadas e contadas. Porém, a forma da partícula não é tida em conta e as formas cocoides (esféricas) ou as bacilares são contadas fazendo uma equivalência esférica de dimensões.

Quando usado para pequenas partículas, por exemplo bactérias, as interferências falseiam as leituras. Mudando de local o aparelho ou realizando uma protecção, atenuam-se as interferências.

As suspensões têm de ser preparadas evitando a penetração de partículas estranhas. Usam-se recipientes muito bem lavados, fechados com cápsulas de alumínio ou rolhas de borracha, para evitar a presença de fibras que poderiam bloquear o orifício ou dar origem a erros de contagem.

Além dos erros inerentes ao próprio processo electrónico há ainda a considerar outros inconvenientes: não permitir a distinção entre germes vivos e mortos, a diferenciação entre germes e outras partículas em suspensão e entre agregados bacterianos e bactérias isoladas.

Um processo com mais possibilidades, mas necessitando ainda de aperfeiçoamento é o método desenvolvido por Bowman, Blume e Vurek (1967).

A cultura bacteriana é adicionada a agar especialmente preparado e fundido e o conjunto, bem homogeneizado. Mergulha-se a extremidade de um tubo capilar de 150  $\mu$ l de capacidade, o qual se enche por capilaridade. Selam-se as duas extremidades e deixa-se solidificar o agar. Um feixe luminoso focado por uma lente incide no tubo. Uma objectiva recolhe a luz difundida através do tubo e fá-la incidir pontualmente num fotomultiplicador. O instrumento conta electronicamente os impulsos luminosos provocados pelas colónias em formação. O tubo é iluminado periodicamente e as microcolónias em crescimento produzem novos ou maiores impulsos do que os obtidos com a iluminação anterior. Aos pontos que não têm nenhum crescimento correspondem impulsos constantes. O número mínimo de organismos que formam uma microcolónia identificável é da ordem de 20.

Este método permite detectar o crescimento em poucas horas, constituindo assim um meio de obter alguns resultados de testes bacteriológicos no mesmo dia em que a amostra foi enviada ao laboratório.

Neste método a gelose tem de ser transparente e, meios opacos, como a gelose de sangue, não podem ser usados.

Outros processos utilizáveis em bacteriologia existem já em fase de aplicação e aperfeiçoamento.

A contagem de colónias pode ser feita num aparelho que utiliza um sistema VIDICON acoplado a um contador digital que permite a contagem com grande precisão em menos de um segundo. Recebe todas as caixas de petri até 100 mm de diâmetro e um utilizador não treinado pode contar até 500 caixas por hora. Um discriminador electrónico ajustável torna possível eliminar da contagem as imperfeições do meio de cultura e com um amplificador consegue-se a contagem de colónias pouco con-

trastadas. Este aparelho permite a distinção de colónias separadas por um espaço mínimo de 0,5 mm.

O aparelho automático de coloração realiza, por processos mecânicos a sequência de operações que constituem a técnica de coloração a executar. Serve para a coloração de GRAM e para outras de rotina que requerem cerca de sete imersões separadas, de igual ou desigual duração, em múltiplos de um minuto. Para coloração de GRAM ou outras de rotina com igual tempo de imersão pode ter uma laboração contínua.

Todos estes métodos apresentam vantagens e inconvenientes. Para a sua adopção estes dois aspectos têm de ser ponderados.

Os processos de mecanização, de grande utilidade na preparação de meios de cultura, tornam possível um melhor rendimento mediante uma maior prontidão no abastecimento de meios ao laboratório.

### 3.3 Pessoal

O pessoal necessário é calculado em função do trabalho a executar pelo laboratório e terá essencialmente duas tarefas:

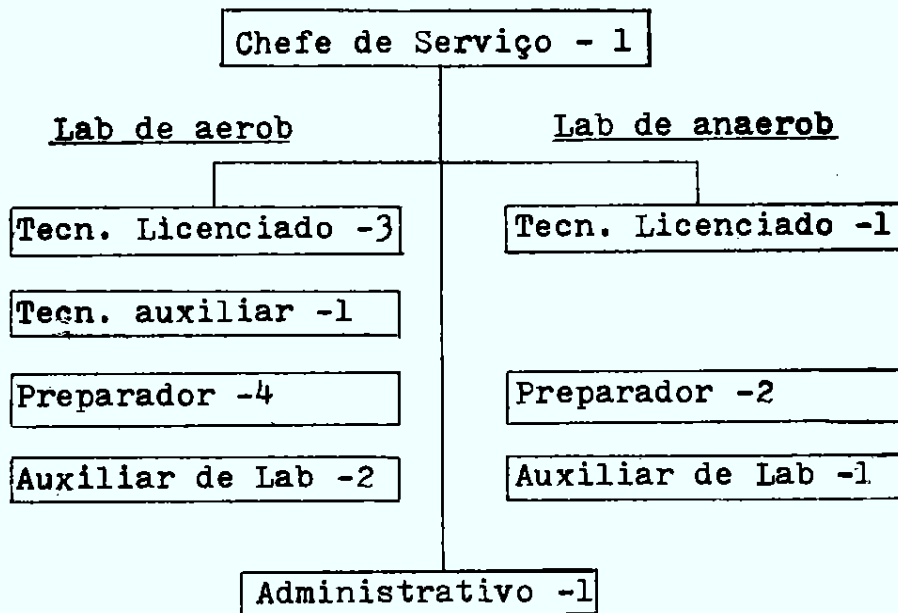
- de rotina;
- de pesquisa e investigação.

O tempo útil terá de ser repartido dando a maior parte à rotina e destinando às actividades de investigação, cerca de um terço a um quinto do total.

O pessoal necessário para estas tarefas deverá compreender as categorias de:

- chefe de Serviço;
- técnico licenciado;
- técnico auxiliar;
- preparador;
- auxiliar de laboratório.

O número de unidades de cada categoria para o laboratório a que nos estamos a referir consta do esquema seguinte:



#### 4. CONCLUSÃO

A necessidade e a importância crescente na nossa época de serviços de microbiologia alimentar resultam do incremento rápido da indústria dos alimentos e da alimentação colectiva, acompanhadas do lançamento no mercado dos mais diversos tipos de alimentos, incluindo os modificados, dietéticos, especializados, etc., com a consequente diversificação dos circuitos comerciais, que criam condições de risco permanente e fácil contaminação ou simples conspurcação por bactérias, parasitas, fungos e vírus, provenientes do ambiente, dos animais ou do homem, em qualquer das fases do seu fabrico ou preparação.

Estes riscos e as consequências para a saúde dos consumidores, pelo aparecimento de doenças e perturbações funcionais, e para a economia, pela inutilização, baixa de qualidade ou outras perdas, obrigaram a estudos de esclarecimento das causas e mecanismos responsáveis.

Por se tratar de problema de saúde pública de primeiro plano, independentemente dos aspectos económicos, as autoridades sanitárias têm procurado estabelecer meios de vigilância e de controlo dos alimentos, completando os

meios de diagnóstico habituais de índole laboratorial relacionados com os indivíduos doentes. Do aperfeiçoamento destes meios resultou a individualização progressiva nos Institutos de Saúde Pública de sectores de trabalho encarregados da análise microbiológica dos alimentos, com técnicas próprias e crescente especialização de funções e pessoal.

Compreende-se que o sector a adquirir maior importância tenha sido o da bacteriologia, pois são as bactérias patogénicas ou da simples flora banal os factores responsáveis pela grande maioria dos casos de doença produzidos por alimentos e pela deterioração destes antes do consumo. Todos os outros factores indicados representam, em termos de frequência, papel muito menor.

A descrição feita neste trabalho de um Serviço de Microbiologia Alimentar exemplifica as fases que julgamos serem de considerar na sua organização, a partir de serviços laboratoriais gerais próprios de um Instituto Nacional de Saúde.

Para a primeira fase, constituída por um laboratório de bacteriologia alimentar, são indicadas a orientação de trabalho e a estruturação, com referência a instalações, pessoal e funcionamento.

## BIBLIOGRAFIA

- Baillie, Ann e Gilbert, R. J. — Automation, Mechanization and Data Handling in Microbiology, London-New York, 1970.
- Barnes, E. M. e Ingram, M. — J. Appl. Microbiol., 1956, 19.
- Brumpt, L. e Brumpt, V. — Parasitologia Practica, Barcelona, 1969.
- Buttianx, R. e Moriametz, J. — Utilité et Role des Laboratoires de Bacteriologie Alimentaire — Revue d'hygiene et médecine sociale, 1954, 2, n.º 4.
- Cassier, Ann et Ryler, Antoinette — Sur un mutant de *Cl. perfringens* donnant des spores sans tuniques a germination lysozime-dépendante — Annales de l'Institut Pasteur, 1971, 121, n.º 6.
- Davis; Dulbecco; Eisen; Ginsberg; Wood — Microbiology, New York, 1967.
- Figueiredo, Adriana — Serotipos de Salmonella identificados no Instituto Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge de 1950 a 1971 — Arquivos do Instituto Nacional de Saúde, 1, Lisboa, 1972.
- Frazier, Carrol Willam — Food Microbiology, second edition, New York, 1958.
- Genigeorgis, C. H. Riemann and W. W. Sadler — J. Food Sci. 1969, 34.
- Gonçalves Ferreira, F. A. — Moderna Saúde Pública, Lisboa.
- Grau, F. H. and Brownlie, L. E. — J. Appl. Bacteriology, 1968, 31.
- Jay, M. James — Modern Food Microbiology, New York, 1970.
- Hanschid, A. H. W., L. Nilo and Dorward, W. J. — Canadian Journal of Microbiology, 1971, 17, n.º 7.
- Longrée, Karla — Quantity Food Sanitation, New York, 1967.
- Pederson, H. O. — On type E botulism — J. appl. Bacteriology, 1955, 18.
- Sebald, M. et Cassier, M. — Bulletin de l'Institut Pasteur, 1970, 68, n.º 1.
- Wilson, G. S. and Miles, A. A. — Principles of Bacteriology and Imunity, London, 1929, 1 e 2.
- Série de Rapports Techniques — Organisation Mondiale de la Santé:
- Planification, Organisation et Administration d'un Service National de Laboratoires de la Santé, 1962, n.º 236.
- Planification et Organisation d'un Service de Laboratoires de Santé Publique, 1972, n. 491.

# ORGANIZAÇÃO DO SERVIÇO DE QUÍMICA CLÍNICA DO INSA

*Maria do Carmo Cavalheiro Morais Martins<sup>1</sup>*

## I

### Química Clínica e Saúde Pública

#### 1. Química Clínica

A química clínica compreende o desenvolvimento e a execução de análises químicas especificamente com fins de diagnóstico, de «contrôle» de tratamento e de investigação em ordem à pesquisa de novas doenças.

Está intimamente relacionada com a patologia, a hematologia, a imunologia e a microbiologia, fundamenta-se na bioquímica e na fisiologia, sendo simultaneamente ciência médica e química.

#### 2. Evolução da Química Clínica

Tem origem que se pode reportar a Hipócrates e, todavia, só neste século experimenta particular desenvolvimento. Confinou-se durante anos e anos a determinações de carácter qualitativo sobre produtos facilmente obtíveis, como urina e fezes; começou a afirmar-se ao poderem efectuar-se determinações quantitativas que um ou outro cientista, de quando

em vez, sem continuidade, estudava quer na execução quer na relação com problemas clínicos. É particularmente interessante para nós recordar, neste momento, pelo simbolismo de que se revestem, os trabalhos de Schmidt e Sahli. Na realidade, Schmidt, em 1850, durante uma epidemia de cólera, fazendo determinações de electrolitos (sódio, potássio, cálcio, magnésio, cloretos, bicarbonatos, sulfatos e fosfatos) nos doentes e nos sãos, obteve valores sobreponíveis aos que hoje encontramos e foi precursor, portanto, da utilização da química clínica em problemas de carácter epidemiológico. Sahli, em 1894, reconheceu a enorme importância do laboratório e procurou dar desenvolvimento a alguns métodos. Se estes, os métodos, não são, é evidente, o objectivo mas antes o instrumento da química clínica, a verdade é que esta só se pôde constituir auxiliar valioso no melhor conhecimento da diabetes mellitus, de insuficiências renais e hepáticas, do reumatismo, ao introduzirem-se, durante a primeira vintena deste século, os métodos de determinação, com apreciável exactidão e reprodutibilidade da glucose, da ureia, da bilirrubina e do ácido úrico no sangue.

E foram ainda os métodos, permitindo trabalhar sobre quantidades de produto cada vez menores e o aperfeiçoamento dos aparelhos, na primeira linha dos quais os que começa-

<sup>1</sup> Técnico especialista, Laboratório de Química Clínica, Instituto Nacional de Saúde -- Lisboa.

ram a utilizar a célula fotoelétrica ao serviço da colorimetria, que possibilitaram espectacular avanço.

Hoje, apoiando-se nos progressos extraordinários da bioquímica, nomeadamente nos mais recentemente adquiridos no campo da enzimologia, das vitaminas, das hormonas, da imunquímica, usando novos instrumentos de trabalho como sejam a cromatografia, a electroforese, os isótopos, a química clínica desenvolve-se de tal forma que são praticamente infinitas as suas possibilidades.

### **3. A Química Clínica ao serviço da Saúde Pública**

Com base no progresso da ciência e da tecnologia, a química clínica sofre, todavia, a influência de factores que lhe são externos.

Na realidade, o indivíduo e as nações dão-se conta de que a saúde constitui, individual e colectivamente considerada, o maior de todos os bens. E assim as pessoas mentalizam-se no sentido de desejarem e mesmo de exigirem que o diagnóstico das doenças seja cada vez mais rápido e preciso, os doentes mais efectivamente tratados e seguidos e as autarquias locais e os governos das nações despendem, progressivamente, maiores quantias com planos de saúde, com hospitais e instituições de Saúde Pública e respectivos equipamentos.

Depois, as doenças de carácter infeccioso, mormente as capazes de originarem epidemias, deixaram de ter a importância de que se revestiam, enquanto ganham relevo as crónico-degenerativas. Contribuíram para tal o desenvolvimento da Higiene e Saúde Públicas, assentes nos progressos da microbiologia, parasitologia, imunologia e epidemiologia, as modernas possibilidades terapêuticas com os antibióticos e quimioterápicos e ainda a prevenção pela ministração de soros e vacinas. Por outro lado, com responsabilidade na maior incidências das doenças crónico-degenerativas, estão a tensão nervosa a que obriga o viver nos nossos tempos, a melhoria nas condições económicas com alimentação excessivamente rica relativamente ao desgaste energético, progressivamente menor porque a vida se torna mais sedentária.

Precisamente para o estudo destas doenças crónico-degenerativas na sua real etiolo-

gia, na sua evolução e epidemiologia e por forma a serem melhor conduzidas quer a profilaxia quer o tratamento e este seguindo um diagnóstico precoce, vem a química clínica conseguindo, nos últimos anos, determinações cada vez mais específicas e sensíveis do estudo e interpretação das reacções bioquímicas ao nível da célula e das alterações nos tecidos e nas funções orgânicas.

Quer dizer, a química clínica que, até há pouco, servia quase exclusivamente a medicina curativa individual, como auxiliar do médico no diagnóstico e tratamento do doente, entra agora no campo da Saúde Pública para, ao serviço desta, e ao tentar estudar, através de vários parâmetros bioquímicos, o estado das populações, quantificar por um lado a saúde e ajudar, por outro, no estabelecimento de acção preventiva contra a doença.

## **II**

### **Laboratório de Química Clínica em Instituto de Saúde Pública — Objectivos do trabalho a realizar**

Como parcela de maior ou menor importância, consoante as condições de local e projecção do Instituto em que se encontre enquadrado, o Laboratório de Química Clínica dará, é evidente, o seu contributo a uma política nacional de saúde previamente delineada e segundo as directrizes emanadas da Direcção que lhe hão-de estipular as tarefas a realizar em momento determinado e a prioridade da sua execução.

Daquilo que conhecemos preceituado pela Organização Mundial de Saúde e de quanto a Lei determina sobre o assunto no nosso País, cremos poder esquematizar o trabalho a realizar em quatro pontos fundamentais:

- a) — Investigação aplicada no campo da Saúde Pública;
- b) — Atribuições no caso de funcionar como laboratório de referência;
- c) — Apoio aos Serviços de Saúde;
- d) — Actividades inerentes ao funcionamento eficiente do laboratório.

## 1. Investigação aplicada no campo da Saúde Pública

1.1. Por realização de programas de rastreio enquadrados ou não em planos mais latos de provas múltiplas de saúde (\*) e que compreendam, no aspecto que ao Laboratório de Química Clínica interessa, a realização do esquematizado a seguir nos pontos 1.1.1 e 1.1.2.

1.1.1. Distinção entre o estado de saúde (valores normais) e o estado de doença (valores anormais), através de determinações bioquímicas.

Os resultados padrão normal e anormal serão considerados por grupos etários, nos dois sexos e, eventualmente, segundo condicionalismos que venham a parecer convenientes, diferentes hábitos alimentares, diversas actividades profissionais, por exemplo. A eles se chegará por estudo de uma população de centenas, eventualmente de milhares de indivíduos sem doença detectável clinicamente, ou pelo exame retrospectivo dos resultados encontrados não coincidentes com o diagnóstico de qualquer doença ou, ainda, seguindo os dois processos concomitantemente (métodos indutivo, dedutivo ou indutivo-dedutivo).

1.1.2. Estudo dos valores anormais encontrados: repetição das determinações bioquímicas em que se verificou alteração, usando o mesmo e diferentes métodos, execução de outras determinações que possam corroborar, explicitar ou completar os resultados previamente obtidos.

Os indivíduos considerados doentes, efectuadas mesmo provas diagnósticas de outra natureza, serão encaminhados para as instituições próprias e os Serviços de Saúde ficarão melhor esclarecidos sobre o estado das populações e eventual incidência de certas anomalias.

1.2. Por estudo de doenças metabólicas com carácter hereditário e interesse social: diabetes, gota, distrofias musculares, por exemplo, em que os valores da glicémia, uricémia, colinesterase e número de dibucaina podem esclarecer sobre a presença de factores mendelianos recessivos não detectáveis clinicamente.

Estes estudos serão efectuados quer nas famílias consideradas como um todo, quer para certas anomalias, especialmente nas

crianças, logo após o nascimento e poucas semanas depois: fenilcetonúria, actividade da galactose 1 fosfato uridil transferase, em relação com a galactosémia.

1.3. Por estudo da epidemiologia de certas doenças crónicas, procurando averiguar de condicionalismos que possam influir na sua eclosão e consequências. Exemplo: classificação dos estados hiperlipidémicos através de determinações de colesterol, trigliceridos e lipidograma em relação com o regime alimentar e o tipo de vida, por um lado, e por outro a medida em que podem ter influência no desencadear de problemas cardiovasculares.

## 2. Atribuições no caso de funcionar como laboratório de referência

Se, ao laboratório de química clínica no Instituto em que se encontre inserido, a lei conferir responsabilidades de laboratório de referência, incumbir-lhe-á a missão de uniformização e estandardização das técnicas, o «contrôle» dos reagentes que se podem adquirir no mercado, em si mesmos e em ordem ao resultado do processo analítico que servem, a organização de programas de «contrôle» de qualidade a nível interlaboratorial.

## 3. Apoio aos Serviços de Saúde

Trabalho de apoio aos Serviços de Saúde por realização das análises de rotina que pelas várias valências as Instituições de Saúde lhe solicitarem, ou por execução das determinações especializadas que, por quaisquer motivos, convenha centralizar.

---

(a) Constituem modalidade especial deste tipo de programas de rastreio, os chamados rastreios regulares com fins preventivos de que o programa multifásico Kaiser, norte-americano, é o exemplo mais válido. Através de dados colhidos em questionários, ECG, antropometria, radiografia pulmonar, mamografia, pressão sanguínea, acuidade visual, audiometria, questionários do foro psiquiátrico, determinações bioquímicas no sangue e na urina e com auxílio do computador é possível concluir-se pela presença ou ausência de um determinado diagnóstico, isto efectuado regularmente sobre as pessoas abrangidas pelo plano e com a supervisão dos médicos que individualmente as assistam.

#### 4. Actividades inerentes ao funcionamento eficiente do Laboratório

Tarefas que poderemos considerar próprias do laboratório de química clínica com vista a permitirem-lhe actualização e eficiência:

- a) montagem e estudo de novas técnicas;
- b) «contrôle» interno de qualidade respeitando os aparelhos e os processos analíticos e considerando a reprodutibilidade e exactidão dos resultados;
- c) participação em programas de «contrôle» de qualidade a nível internacional ou interlaboratorial (se não for da sua responsabilidade mesmo, como atrás referimos, o organizá-los);
- d) preparação do pessoal mediante a realização de cursos para preparadores, reuniões e colóquios de actualização para pessoal técnico superior.

### III

#### Automatização e Mecanização em Química Clínica — Generalidades

##### 1 Automatização e mecanização. Razões que as impõem. Vantagens e inconvenientes

Para o prosseguimento dos objectivos respeitantes aos programas de rastreio, com o número enorme de determinações que pressupõem e mesmo para execução das análises ditas de rotina, em apoio das várias valências que, nos Serviços de Saúde, as requerem e que, em normal evolução, se prevê cresçam continuamente, surge como necessidade imperiosa a automatização ou, ao menos, como solução intermediária e para menor número de amostras, a mecanização das técnicas.

Aliás, mesmo para um laboratório vulgar com grande movimento e independentemente da missão em Instituto de Saúde Pública, a automatização ou a mecanização impõe-se como resposta aos múltiplos problemas que a evolução explosiva da química clínica origina.

Na realidade:

— por um lado, as análises crescem continuamente em número, obrigando alguns técnicos a repetições seriadas; por outro lado,

em relação a outros técnicos, como a diversidade de determinações é enorme, o trabalho resulta, aparentemente, pouco rendoso porque muito disperso.

— multiplicam-se as tarefas com o «contrôle» dos reagentes, dos aparelhos, dos processos, no esforço contínuo de diminuir as causas de erro, aumentando a precisão e exactidão dos resultados.

— o serviço de organização do laboratório, com identificação das amostras, expressão dos resultados, conferência dos mesmos e arquivo, toma cada vez mais tempo.

Automatizando ou mecanizando as técnicas e o serviço de secretaria, estes problemas ficam solucionados pois, relativamente à execução normal destas tarefas, surgem como vantagens:

- a) maior rendimento: elevado número de análises é executado muito rapidamente, a menor preço, com menos pessoal, sobretudo com menos pessoal especializado que assim fica liberto para outras tarefas;
- b) os resultados são mais exactos e precisos, o seu «contrôle» é facilitado;
- c) o processamento dos resultados e o seu arquivo são rápidos e eficientes.

Como desvantagem, que se nos afigura única, o investimento considerável a que obrigam pois, sobretudo na automatização, os aparelhos custam alguns milhões de escudos.

##### 2. Automatização e mecanização — processamento

Realizam-se em torno de dois pontos fundamentais:

- a) os aparelhos e os métodos;
- b) o computador e o serviço de secretaria.

###### 2.1. Os aparelhos e os métodos

O aperfeiçoamento de uns em função dos outros permite quer a mecanização quer, sobretudo, porque mais completa, a automatização do processo analítico. Melhoram os apa-



relhos servidos pelo avanço da moderna tecnologia, progridem os métodos para execução das várias determinações bioquímicas. E assim, temos hoje inúmeros métodos directos que, apoiados em bons aparelhos, permitem trabalhar em quantidades mínimas de amostra, da ordem dos 10-20 microlitros, pois são extremamente sensíveis e, alguns, muito específicos, sobretudo os enzimáticos a que se recorre sempre que possível.

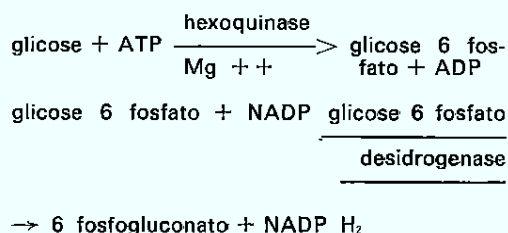
### 2.1.1. Mecanização das técnicas

Entendemos como tal o processo de acelerar a execução das determinações mediante a utilização de aparelhos para esse fim especialmente concebidos e que permitem quer a imitação, mais ou menos exacta da operação ou sequência de operações manuais, quer a simplificação considerável de determinados passos.

Como exemplo:

- utilização de sistemas distribuidores de reagentes ou diluidores substituindo as medições volumétricas por pipeta.
- rapidez nas leituras fotométricas por utilização de cuvettes de escoamento rápido ou recurso a sistemas de deslocação automática destas frente à célula fotoelétrica.
- simplificação nos cálculos de concentrações e actividades enzimáticas mediante o registo gráfico de Transmittâncias ou Extinções.

Consideramos particularmente elucidativo, como exemplo do que acabámos de referir, a determinação da glicose com auxílio das enzimas hexoquinase e glicose 6 fosfato desidrogenase e a reacção NAD



Com auxílio do fotómetro Eppendorf mais registador W + W 4100 e sistema de deslocação automática de 6 cuvettes, em torno

das quais circula água à temperatura desejada, neste caso 37°, efectuamos 6 determinações de glicose em 5 minutos.

Na realidade, em cada uma das cuvettes incluímos o plasma heparinizado, 20  $\mu\text{L}$ , cuja concentração em glicose desejamos conhecer, um reagente que é constituído por sistema tampão que assegura o PH de 7,5, óptimo para o processamento das reacções enzimáticas, por ATP, NADP e o activador  $\text{Mg}^{++}$ . Registamos automaticamente a Extinção de cada amostra,  $E_0$ . Adicionamos depois as enzimas hexoquinase e glicose 6 fosfato desidrogenase. As reacções referidas processam-se em 3 minutos, formando-se  $\text{NADPH}_2$  em quantidade proporcional à glicose presente. Como o  $\text{NADPH}_2$  a 366 nm (comprimento de onda a que operamos) absorve fortemente enquanto que com o NDP tal não sucede, a variação  $\Delta E$ , por registo de uma segunda Extinção  $E_1$  após o processamento das reacções, permite determinar a quantidade de glicose presente no plasma, entrando com o valor da absorcividade molar, o volume da amostra de que se partiu e o volume final do ensaio.

A utilização de uma régua graduada em mgrs de glicose (graduação de acordo com o espaço que, no papel do registador, corresponde à variação de E) e cujo zero se faz coincidir, em cada amostra com  $E_0$ , permite ler, rapidamente, a concentração.

Inserimos gráfico exemplificativo para determinação de glicose com um padrão, «pool» para «contrôle» de qualidade e quatro amostras, 1, 2, 3, 4.

Outro exemplo elucidativo da rapidez que se consegue usando sistema do tipo que referimos e técnicas segundo as directrizes mais modernas da química clínica, é a determinação de enzimas por métodos cinéticos. Na realidade podem fazer-se, por hora, dezenas de determinações.

O registador indicado permite inscrever automaticamente, durante o tempo requerido, as várias Extinções coincidentes com o processamento da reacção enzimática.

No gráfico seguinte exemplifica-se a efectivação de uma determinação de fosfatase alcalina (na realidade podem fazer-se 6 em simultâneo) em que a hidrólise do substracto de paranitrofenilfosfato é catalizada pela enzima em determinação e a descida de Extinção a 406 nm se regista durante 2 a 3 minutos.

A tangente do ângulo  $\alpha$  que a linha de união dos vários pontos de E durante o processamento da reacção faz com a horizontal



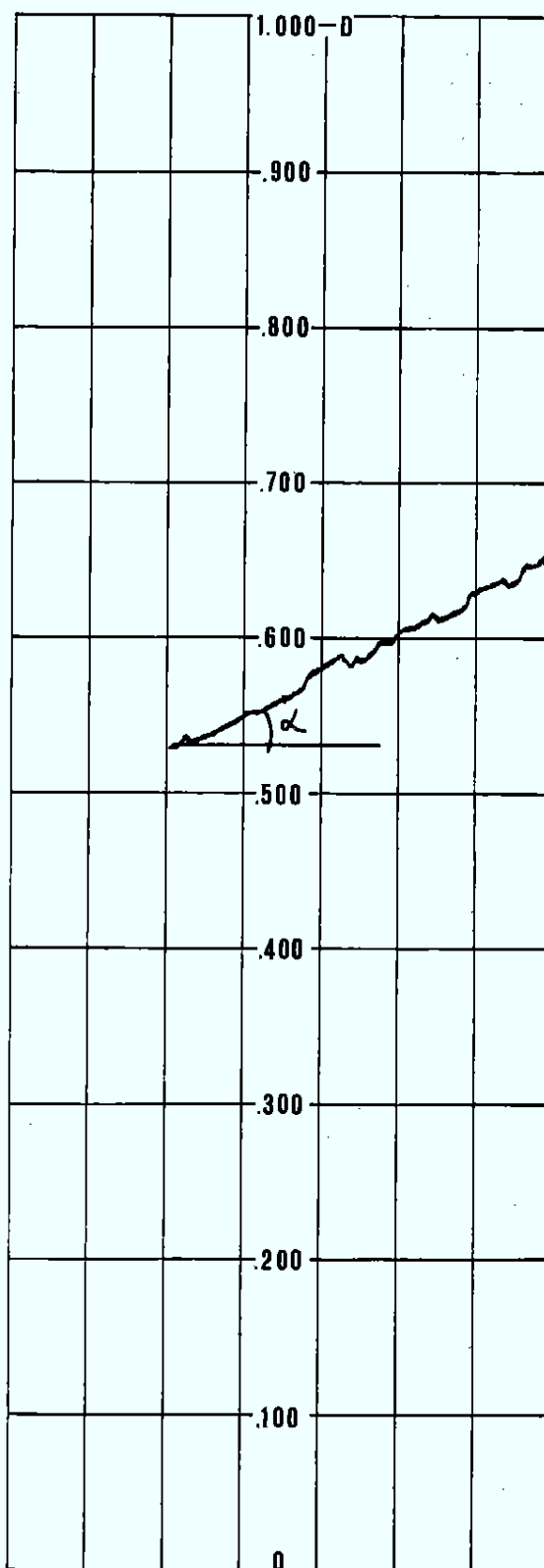
e se demonstra ser igual à variação  $\Delta E$ , multiplicada por um factor, constante em cada método porque função da absorcividade molar, do volume da amostra, do volume final do ensaio, da velocidade de deslocação do papel e do espaço que neste corresponde à variação de E (0-1), exprime imediatamente a actividade enzimática da fosfatase alcalina em Unidades Internacionais.

Vimos, recentemente, aparelhos Eppendorf, LKB, Coleman, Perkin Elmer e Abbott trabalhando ainda mais rapidamente em função da mecanização destas determinações enzimáticas segundo o princípio referido: registam a intervalos de tempo regulares três valores de Extinção durante o processamento da reacção enzimática e, a partir deles, calculam a variação  $\Delta E$  e a actividade enzimática em U.I., fornecendo o resultado impresso.

Em função de um padrão também alguns fotómetros lêem e fazem cálculos. Conhecemos alguns, Beckman e Zeiss, mas achamos com particular interesse o LKB Absorptiometer 7400, precioso auxiliar na mecanização das leituras fotométricas. Na realidade, este aparelho permite 20 leituras/minuto: as cuvettes, numeradas, deslocam-se automaticamente frente à célula fotoelétrica; o aparelho calcula os resultados em função do padrão e exprime-os em número dígitos projectados, ou impressos em fita para leitura vulgar, ou em sistema de perfuração, para o computador, referenciando a cuvette a que se referem.

Conhecemos uma multiplicidade enorme de pequenos aparelhos servindo a mecanização das técnicas: distribuidores manuais de reagentes (temos experiência dos Oxford), diluidores de comando mecânico ou eléctrico e damos especial relevo aos Eppendorf, IL, Dade, Coulter, Auto-Chemist, micropipetas permitindo rápida distribuição das amostras.

Consideramos o processo de mecanização como óptimo na simplificação das técnicas e aumento de rigor dos resultados, com economia de material, de tempo e de pessoal. Em verdade é relativamente barato, permite grande maleabilidade no laboratório, sobretudo se realizado por tantos aparelhos do mesmo tipo quantos os exigidos pelo número e qualidade das análises, utilizando vários e diferentes tipos de acessórios, consoante as técnicas e acoplando ou não sistema de registo. Temos já alguma experiência das possibilidades que o fotómetro Eppendorf oferece em ordem a este esquema de trabalho e vimo-lo,



em laboratório estrangeiro, multiplicado por 12, respondendo às necessidades diárias de cerca de 2000 determinações efectuadas segundo as mais modernas directrizes da química clínica.

Todavia as possibilidades de mecanização das técnicas não são ilimitadas e para número muito grande de amostras em que hajam de determinar-se, em cada dia, muitos parâmetros bioquímicos, cremos mais prudente pensar na automatização que, acreditamo-lo, a moderna tecnologia permite já em razoáveis condições de segurança.

### 2.1.2. *Automatização das técnicas*

Considerada no seu sentido mais lato a automatização deveria compreender a execução das análises em aparelho comandado por via electrónica cujo «cérebro» respondendo à orientação do operador, seleccionaria as determinações a efectuar, asseguraria a execução total do processo analítico com expressão dos resultados, controlaria o funcionamento do aparelho corrigindo-o, se necessário. Ao que julgamos, este último quesito «auto-regulação» ainda não é realizado pelos aparelhos actualmente existentes no mercado e às outras exigências nem todos respondem totalmente. Todavia, de acordo com o que é usual, consideramos como automatização o trabalho realizado pelos grandes auto-analisadores que funcionam segundo duas grandes e diferentes linhas:

- a) em fluxo contínuo, de que os *Technicon* constituem o exemplo mais válido.
- b) em sistema descontínuo, o chamado sistema analítico discreto.

#### 2.1.2.1 *Automatização em fluxo contínuo — Aparelhos Technicon*

Nos aparelhos funcionando sob este sistema as amostras e os reagentes, separados por bolhas de ar, circulam, em fluxo contínuo, por um sistema de canais cujo calibre, em relação com o poder de aspiração de uma bomba que neles os propuliona, assegura a proporção relativa amostra-reagentes preconizada pelas técnicas.

Completam os aparelhos, o sistema circular de distribuição de amostras, dializador permitindo a difusão das substâncias em de-

terminação e retenção das proteínas, interferentes na maioria das determinações segundo os processos usados, banho-maria para que a reacção se processe a temperatura constante, fotómetro com registador e, nos modelos mais recentes, a expressão dos resultados em números dígitos por projecção e impressão, neste caso referenciando-se a amostra pelo respectivo número de identificação previamente apostado nesta em tira perfurada.

Technicon tem autoanalisadores com I, II e III canais aos quais facilmente se pode acoplar fotómetro para o visível, ultravioleta, fluorómetro ou fotómetro de chama, e aparelhos de 6, 12 e 18 canais, respectivamente os SMA 6/60, SMA 12/60 e SMA 18/60, nos quais são possíveis determinações de transaminase glutâmica oxalacética, desidrogenase láctica, fosfatase alcalina, bilirrubina total, ácido úrico, cálcio, fósforo inorgânico, colesterol, proteínas totais, albumina, creatina fosfocinase, creatinina, sódio, potássio, cloretos, CO<sub>2</sub> total, ureia e glicose (métodos colorimétricos e por fotometria de chama).

Modelo mais recente, o SMAC, em estudo, e portanto ainda não lançado no mercado, aumenta o número de resultados/hora, controla e comanda o aparelho por computador, permitindo, pela primeira vez neste sistema de automatização, a selecção das análises a efectuar sobre uma dada amostra, executa 30 diferentes determinações com possibilidade de, no futuro, virem a ser 40; os métodos são mais sensíveis, específicos e de acordo com as modernas directrizes da química clínica.

Não temos qualquer experiência pessoal de utilização destes aparelhos, mas temo-los visto trabalhar e, sobre o seu funcionamento, são inúmeras as opiniões que pudemos colher junto de pessoas de várias nacionalidades, usando-os em diferentes tipos de laboratórios. Cremos poder sintetizá-las nos pontos seguintes:

- o sistema de fluxo contínuo não parece ser o óptimo, pois as amostras sucedendo-se nos tubos umas às outras, separadas por bolhas de ar, contaminam-se frequentemente; o diâmetro dos tubos em que reagentes e produtos são aspirados altera-se com o uso e, como regula a respectiva proporção relativa, as condições de reacção são alteradas.

Trabalho recente sobre «Precisão e Exactidão dos Auto-analisadores Technicon» de J. Pastor e A. M. Pauli em «Organisation, Automatisation des Laboratoires — Biologie prospective — 1970» aborda este assunto especificando: «Quer nos aparelhos de um só canal quer nos SMA 12 os resultados são precisos. Coeficientes de dispersão inferiores a 1. Não são estes resultados, porém, exactos, por força da contaminação.»

Na realidade, esta faz passar o coeficiente de dispersão a 2, 3 e mesmo 4%, o que ainda assim, *diz-se*, é compatível com um exame biológico e as necessidades da clínica.

- Os aparelhos Technicon, aliás cada vez mais aperfeiçoados, sobretudo no que respeita aos sistemas de propulsão, identificação das amostras e expressão dos resultados, são pouco maleáveis. Têm montagem complexa e qualquer método, para ser mudado, obriga a transformações morosas.
- Nos aparelhos presentemente à nossa disposição — o SMAC, como referimos, está apenas em ensaios — os métodos são antigos: as glicémias continuam a fazer-se por redução ( $\text{Cu}^{++}$  e  $\text{Fe}(\text{CN})_6=$ ), e as ureias pela diacetilmonoxime e não por via enzimática, as enzimas por técnicas colorimétricas a dois pontos e não por cinética, etc. Aliás, a propósito de métodos, um professor de Química Clínica em Universidade alemã, que sabemos eminentemente responsável e experiente, disse-nos, referindo-se ao SMA 12, que um dos inconvenientes deste aparelho residia no facto de não existirem 12 métodos bons a ele adaptados.

#### 2.1.2.2. Automatização em sistema descontínuo

Por definição, este tipo de aparelhos toma cada amostra separadamente, em tubos individuais, adiciona-lhes os reagentes, faz processar o desenvolvimento da reacção a temperatura constante, transporta o tubo para o fotómetro, transfere o líquido para a cuvette deste, faz a leitura fotométrica, exprime o resultado em números dígitos, por projecção e impressão em cartão próprio ou para leitura no computador.

Vantagens dos aparelhos trabalhando sob este princípio:

- rapidez — cerca de 300 resultados/hora
- só limitada pela natureza de algumas reacções que necessitam de mais tempo para poderem processar-se.
- qualquer método pode ser montado sem complicações pois com grande facilidade se faz variar o volume da amostra e dos reagentes, o tempo de reacção, etc.
- a contaminação de umas amostras por outras, ao serem aspiradas na altura de se iniciarem as determinações, é reduzida ao mínimo, quer por aspiração seguida de rejeição de pequeno volume da amostra a medir, quer por diluição amostra-diluyente, fazendo passar este, em apreciável quantidade, pelo sistema aspirador.

Os aparelhos deste tipo que o comércio fornece presentemente são os mais variados, desde os de um único canal até aos aparelhos de canais múltiplos que podem chegar a executar 30 determinações diferentes e são controlados por computador.

Sabemos que são bastante bons os aparelhos Perkin Elmer, modelo C 40, Beckman DSA-560 e Mark X d'Hysel; tivemos há pouco tempo oportunidade de estudar três de canais múltiplos que nos parece poderem corresponder melhor às necessidades de automatização em Laboratório de Saúde Pública, com múltiplas provas em número muito grande de amostras.

São eles:

- o aparelho sueco Autochemist
- o aparelho inglês Vicks 300
- o aparelho suíço Greiner II

Destes aparelhos só não vimos o inglês em funcionamento; conhecemos o suíço desde há dois anos no Inselspital, em Berne, e admirámos o sueco no laboratório do hospital universitário dinamarquês de Odense.

#### Autochemist

Este aparelho deixou-nos maravilhada, sobretudo no progresso técnico que possibilitou os seus 24 canais, os sistemas mecânicos de

precisão, 6 fotômetros trabalhando no visível, 2 fotômetros de chama Eppendorf, computador próprio que programa e controla o funcionamento do aparelho e a execução das análises e exprime os resultados. Pareceu-nos, todavia, um aparelho um tanto rígido no que se refere à obrigatoriedade de efectuar sempre 23 análises (das 24 possíveis) sobre uma amostra de sangue. É caro, custa 500 000 dólares, e só seria rendosa a sua aquisição, afirmaram-nos, se pudessemos assegurar diariamente um número de amostras não inferior a 500 e em trabalho planeado para atingir, em alguns meses, 1000 amostras por dia.

O aparelho estava em Odense determinando sódio, potássio, cálcio, cloretos, fósforo inorgânico, ureia, creatinina, proteínas totais, albumina, globulinas, ferro, ácido úrico, lípidos totais, lipoproteínas, colesterol, transaminase glutâmica-oxalacética, transaminase glutâmica-pirúvica, desidrogenase láctica, fosfatase alcalina, fosfatase ácida, amilase, reacção do timol e bilirrubina total.

### Vicks

Impressionaram-nos, sobremaneira, os valores extremamente baixos que ouvimos citar como desvio padrão em algumas das determinações mais correntes de química clínica nele efectuadas: proteínas totais, albumina, bilirrubina, cálcio, fósforo, ácido úrico, creatinina, com desvio padrão entre 0,04 e 0,13; e, para as enzimas fosfatase alcalina e desidrogenase láctica 2 a 3,8.

Observámos, sem o ver funcionar, o auto-analisador Multi Channel 300, aparelho controlado por computador próprio que também regista e exprime os resultados.

É constituído por uma série de 10 módulos, cada um dos quais pode ser autónomo, desde que adicionado de sistema próprio de distribuição de amostras, e executa duas determinações.

Achamos curioso o sistema de identificação das amostras. Estas são colocadas em tubo alto de faces rectangulares contendo em duas das faces seis filas verticais de números dígitos, uma usada para identificação do doente, outra para referenciar o Serviço que pede a análise ou especificar quais as análises pedidas. Os números, em código, referentes às indicações desejadas, são retirados e em seu lugar fica uma cavidade pela qual a luz, entrando, é lida pelo aparelho por sistema

de reflexão ou dispersão. Dois fotômetros de absorção, trabalhando entre 340-700 nanómetros, e um fotómetro de chama, asseguram a execução das análises.

**Métodos** — Observámos o seu fundamento e indicações gerais de execução em publicação fornecida pela casa fabricante e pareceram-nos em linha moderna: glicose pela glicose — oxidase — peroxidase, ureias pela urease com Reacção de Berthelot, bilirrubina pelo método de Jendrassik, etc.

O aparelho tem sido desenvolvido com o apoio do Governo britânico e várias unidades se encontram já ao serviço quer na Inglaterra, quer no Japão, Suécia, Espanha e Austrália.

### Greiner Selective Analyser II

Conhecemos este aparelho desde há dois anos, na Suíça, no Laboratório do Inselspital, onde se encontrava em fase experimental. Creio-lo na primeira linha deste tipo de aparelhos por sistema descontinuo, «discreto», oferecendo para nós, em ordem ao que dos outros conhecemos, as vantagens seguintes:

- sobre uma amostra podemos efectuar apenas as determinações desejadas ou todo um completo programa de 20 determinações o que, pelo nosso conhecimento, só se encontra num aparelho ainda em ensaios nos Estados Unidos, da marca «Coulter».
- o sistema de identificação das amostras é feito por cartão que acompanha cada uma delas, nele se assinalando a ou as análises desejadas que depois o aparelho executa e onde, no final, os resultados respectivos vêm impressos em concentrações ou unidades enzimáticas, podendo também vir gravados, por sistemas de perfuração, para leitura pelo computador.
- na mecânica do aparelho e até onde podemos compreendê-lo, dois pormenores ressaltam, aperfeiçoadíssimos:
  - a) o sistema de pipetagem e o «contrôle» electrónico do aparelho e métodos;
  - b) o mecanismo que, na diluição da amostra e na leitura fotométrica, asseguram a não interferência de uns produtos nos outros.

— os métodos, micrométodos todos, trabalhando na base dos 20 microlitros, permitem a determinação dos vários constituintes bioquímicos do sangue e outros líquidos do organismo segundo o que a mais moderna metodologia da química clínica preconiza.

Estudos económicos feitos sobre o custo do aparelho e seu rendimento a 300 resultados por hora, levaram à conclusão de que, se for possível efectuar 1000 determinações por dia, estará pago em 2 anos tendo dispensado o concurso de 30 preparadores.

\* \* \*

Como, entre nós, incumbe ainda ao Serviço de Química Clínica a execução das análises hematológicas de rotina, diremos algo sobre os aparelhos de duas grandes marcas permitindo actualmente a automatização neste campo: Technicon e Coulter.

#### **Aparelhos TECHNICON permitindo a automatização em hematologia**

- SMA - 7 A
- Hemalog
- Hemalog D

— No SMA - 7 A, determinações automáticas de hemoglobina, glóbulos vermelhos, glóbulos brancos, hematócrito e índices MCV, MCC, MCHC. Funcionamento segundo o sistema de fluxo contínuo, característico desta marca; contagens de glóbulos efectuadas através das interferências ópticas que, no ponto focal de um feixe luminoso, são ocasionadas pela passagem de um só glóbulo, valor hematócrito calculado pela condutibilidade eléctrica do sangue total, resultados expressos por «plateaux» em cartas calibradas segundo o sistema Technicon em que se assinalam os valores normais.

— No Hemalog os mesmos parâmetros conseguidos pelo SMA - 7 A, hematócrito determinado em pequenas centrífugas ou por condutividade do sangue total.

O aparelho conta também as plaquetas e determina automaticamente o Tempo de Protrómbina e de Parcial Tromboplastina.

Expressão dos resultados mais aperfeiçoada relativamente ao modelo anterior projecção em números dígitos e impressão em cartão próprio.

— O Hemalog D permite a determinação automática dos mesmos parâmetros que o Hemalog mas executa a forma leucocitária com base na diferença da constituição enzimática dos vários tipos de leucócitos que, por sua vez, permite colorações diferenciais avaliadas fotometricamente e com base ainda na diferença de tamanho dos glóbulos.

As informações colhidas sobre este último aparelho, muito especialmente, e mesmo sobre os outros, não são, todavia, concordantes quanto à eficiência do funcionamento em ordem aos objectivos propostos.

#### **Aparelhos COULTER permitindo a automatização em hematologia**

Conhecemos desta marca e para hematologia os modelos A, D, ZF e S. Só o ZF não vimos trabalhar; do D temos uma experiência de dois anos que nos leva a considerá-lo auxiliar preciosíssimo em hematologia.

O princípio da contagem de eritrócitos é o mesmo em todos: cada glóbulo ao atravessar pequeno orifício faz variar a condutividade da suspensão em que se encontra e na qual mergulham dois electrodos. Como consequência dessa variação origina-se um impulso eléctrico que, depois de amplificado electronicamente, é contado.

Para automatização em grande escala parece-nos que só o modelo S deverá ser de considerar, por efectuar determinações simultâneas de hemoglobina, glóbulos vermelhos, glóbulos brancos, hematócrito, MCV, MCC, MCHC enquanto que os outros contam apenas glóbulos vermelhos e brancos com ou sem contagem de plaquetas.

Sobre este aparelho, Coulter S, temos as melhores referências quanto a eficiência, reprodutibilidade dos resultados e manutenção.

Servindo qualquer um dos aparelhos e já que o Hemalog D não permite ainda a execução da fórmula leucocitária em boas condições, aconselharíamos para mecanização da coloração de esfregaços de sangue a aquisição de aparelho próprio. Temos boas refe-

rências do Hema — Teh Slide Steiner em que lâminas até um máximo de 100, colocadas em ranhuras próprias, vão-se deslocando, recebendo o corante, depois a água que com o corante se mistura, actuando em tempo óptimo.

## 2.2. O computador e o serviço de secretaria

São unânimes, os vários autores e químicos clínicos mais eminentes, em afirmar que o moderno laboratório de química clínica não pode funcionar, em condições aceitáveis, sem computador. Na realidade, com esta máquina é possível a automatização do serviço de secretaria o que é muito importante se, por dia, se efectuam muitas centenas de análises.

Permite o computador:

- a) efectuar trabalho de rotina quer no que se refere ao serviço administrativo do laboratório, quer no que respeita a expressão de resultados, identificação de doentes e respectivas amostras;
- b) racionalizar o trabalho por forma a que os resultados possam sair o mais rapidamente possível. Lembramos, a este propósito, por exemplo, que vimos em laboratório estrangeiro mecanizado, o computador elaborando listas de glicémias, de urémias, etc., que depois acompanhavam as amostras para a preparadora encarregada da respectiva execução;
- c) efectuar «contrôle» de qualidade dos aparelhos e dos métodos e comparar os resultados obtidos com os normais previamente conseguidos nas condições habituais de trabalho, relativamente à idade e ao sexo do doente e às condições da amostra de sangue, com lipémia ou hemólise, assinalando os desvios encontrados.

Conhecemos de laboratórios estrangeiros dois sistemas diferentes de «in put».

Em Berne (Inselspital), um cartão mãe e um cartão análise. Um cartão mãe contém as informações administrativas de cada doente, escritas à máquina e perfuradas aquando da respectiva admissão no hospital. São classificados alfabeticamente e retirados do ficheiro quando o doente deixa o hospital. Os cartões

análise contêm a identificação do doente, o código da análise, a data da sua execução e o resultado, escritos à máquina, à mão e por perfuração.

Estes cartões análise acompanhavam os produtos a cada uma das secções do laboratório e neles eram manuscritos os resultados, uma vez efectuadas as análises, seguindo-se a respectiva perfuração. (Computador Bull Gamma 30).

Parece-nos este um sistema caro.

Em Genebra, como «in put», cartões perfurados com os dados de identificação do doente, bandas de papel perfuradas com os resultados emanados directamente dos aparelhos de medida — não tinham na altura automatização mas realizavam a mecanização das leituras com aparelhos LKB 7400 e microfluorómetro Aminco — e ainda cartões magnetizados com os resultados das determinações efectuadas manualmente. (Computador IBM 1130 8K, 2 discos).

Sistema mais actualizado, julgamo-lo, e permitindo maior maleabilidade.

Como «out put», num caso e noutro, obediência aos pontos-esquema atrás referidos.

## 3. Escolha dos aparelhos em ordem ao trabalho a realizar

Julgamos como óptimo que se realize uma síntese tão harmoniosa quanto possível da automatização e mecanização das técnicas, parecendo-nos também imprescindível que se monte o sistema E. D. P., embora por etapas, conforme a experiência recomenda.

Assim, julgamos aconselháveis as aquisições seguintes:

- a) Autoanalisador.

Damos preferência ao Greiner II, suíço.

Parece-nos que não há que hesitar em optar por aparelho trabalhando em sistema descontínuo e, neste sistema, o Greiner II parece-nos com grandes vantagens por possibilidade de escolha das análises a efectuar, da metodologia, com sistema de identificação de amostras e expressão de resultados simples e prático, isto para lá da mecânica e electrónica, que sabemos notáveis.

Se este aparelho não pudesse ser fornecido por quaisquer circunstâncias e o número de análises não fosse compatível com uma



solução de mecanização das técnicas, como situação intermediária, então optaríamos, ainda que com pesar, pela solução Technicon em sistema de dois aparelhos: SMA 6/60 e Auto-analisador III.

- b) Grande aparelho para automatização em hematologia — Coulter S e sistema para mecanização da coloração de esfregaços de sangue.
- c) Sistema Fotómetro Eppendorf com deslocação automática de cuvettes e sistema de cálculo de actividades enzimáticas em função da variação  $\Delta E$ .

#### IV

### **Automatização e Mecanização do Serviço de Química Clínica em Instituto de Saúde Pública Enquadramento e Concretização**

A automatização e mecanização não existem no laboratório como objectivos em si mas em ordem à realização de determinado trabalho. Especificámos já que permitindo a execução rápida de grande número de análises e o processamento e arquivo dos respectivos resultados, tornam possível a realização de dois dos objectivos fundamentais do laboratório de química clínica enquanto inserido em Instituto de Saúde Pública:

- Trabalhos de investigação aplicada, nomeadamente a realização de programas de rastreio em indivíduos considerados sãos.
- Análises ditas de rotina, em apoio das várias valências dos Serviços de Saúde.

Mas, automatização e mecanização fazem parte de um todo no laboratório que servem e de cuja organização se socorrem. Usufruem das infra-estruturas do Serviço no que se refere a instalação, pessoal e recolha de amostras e, por outro lado, tornam mais eficiente o laboratório porque possibilitam o aumento do número de análises bem como o seu rigor e precisão pois estas passam a poder realizar-se em melhores condições técnicas e de «controle».

Dentro deste contexto concretizaremos e enquadramos agora o nosso assunto base.

#### **1. Trabalho de investigação aplicada no campo da Saúde Pública, nomeadamente a realização de programas de rastreio em massa, em indivíduos aparentemente sãos**

Julgamos na primeira linha dos trabalhos de investigação bioquímica, aplicada a problemas de saúde pública, a realização de programas de rastreio em massa, em indivíduos aparentemente sãos. Sobre as determinações que eles pressupõem e respectiva automatização ou mecanização vamos debruçar-nos electivamente.

Tem-se escrito bastante sobre estes programas de rastreio e respectivos resultados. Examinaram-se já em vários países diferentes camadas populacionais e, através de determinações bioquímicas e hematológicas, prosseguem-se objectivos de Saúde Pública, de assistência quer hospitalar quer a grupos determinados, em condições de maior eficiência, rapidez e economia.

Não são eles, todavia, universalmente bem aceites. Situam-se as críticas em torno da dificuldade de distinguir, em alguns casos, o que é normal do que é anormal, da alta incidência de resultados anormais não confirmados subsequentemente ou de significado clínico duvidoso, até porque a evolução patológica de determinadas situações metabólicas é mal conhecida, inexistência de te apêutica específica para algumas doenças, logo no início da sua evolução, ou mesmo do próprio desconhecimento de se a instituição dessa terapêutica, em tal circunstância, é benéfica para o prognóstico.

Parece-nos todavia irreversível o caminho neste aspecto. A luta pela saúde não mais pode parar visto que ela é, segundo definição das instâncias internacionais, «estado de completo bem-estar físico, mental e social» e portanto base de uma vida harmoniosa. E, na luta pela saúde, os programas de rastreio terão, sem dúvida, importante papel a desempenhar.

Permitirão

a) em ordem ao indivíduo: obtidos para as várias fases da vida os sinais de alerta indicadores de desvios mórbidos, maior segurança advirá, pois terá a certeza de que se

em si surgir o fenómeno patológico, poderá usufruir das melhores condições possíveis para remédio conveniente;

b) em ordem às comunidades: realização de mais racional e objectivo combate à doença.

Efectivamente, os resultados destes programas de rastreio permitirão à Saúde Pública melhor realização de outras tarefas que lhe incumbem e em que é possível a utilização de parâmetros químicos como sejam a efectivação de estudos epidemiológicos de doenças crónicas em relação com a respectiva etiologia e os elementos desencadeantes em determinado país, região geográfica ou grupo populacional e ainda o estudo da incidência de certas alterações metabólicas transmissíveis ou não por hereditariedade e problemas concomitantes.

Estes rastreiros, em ordem a uma determinada doença crónica, a uma dada anomalia metabólica, exigirão determinações bioquímicas tão específicas e sensíveis quanto possível com vista àquilo que se pretenda inquirir. Consideramos que deverão constituir estudo especial face ao rastreio a efectuar.

#### 1.1. *As determinações a efectuar nos programas de rastreio em massa*

Quais as determinações fundamentais, ou, como já se lhes chamou, «os indicadores primários» que permitam afirmar, por combinação de vários resultados, a existência de saúde ou o risco de doença?

Não há uniformidade de critérios sobre o assunto e sabemos como ele é difícil, mesmo para cientistas de renome no campo da medicina preventiva e da química clínica que, em reuniões internacionais o têm estudado. No entanto permitimo-nos dar a nossa opinião como técnico de laboratório de química clínica, necessariamente limitada e mesmo talvez deformada pela orientação profissional que nos é própria.

Como base apoiamo-nos nos elementos que vão referidos nas alíneas que se seguem.

a) Dados estatísticos nacionais de mortalidade e morbidade, na tentativa de sabermos quais as doenças sobre que mais convirá inquirir no nosso meio e para cujo diagnóstico podem contribuir índices bioquímicos e hematológicos.

Foi, todavia, reduzida a informação colhida nesta origem. Na realidade, cremos que só para o grande e importante problema das doenças cárdio-vasculares a química clínica pode dar substancial ajuda ao procurar estudar a etiologia e epidemiologia da arterioesclerose em relação com alterações do metabolismo dos lípidos e usando as determinações de colesterol, trigliceridos e lipoproteínas.

b) Resultados de programas de rastreio deste tipo efectuados em países estrangeiros por forma a conhecermos quais as determinações que permitiram detectar maior número de anomalias.

O trabalho mais recente que conhecemos sobre o assunto foi realizado em Londres sobre 4800 pessoas usando o autoanalizador sueco Auto-Chemist. As determinações que conduziram a maior número de resultados anormais foram:

— primeiro as relacionadas com o metabolismo dos lípidos:

lipoproteínas (15,5% na mulher, 7,7% no homem)

colesterol (13,2% na mulher, 10% no homem)

lípidos totais (6,6% na mulher, 7% no homem)

— depois e por ordem decrescente:

ácido úrico (9,3% na mulher, 6,1% no homem)

transaminase glutâmica oxalacética (6,1% na mulher, 4,4% no homem).

As outras determinações efectuadas (albumina, fosfatase alcalina, bilirrubina, cálcio, creatinina, globulinas, glicose, fósforo inorgânico, ferro, ureia, potássio e sódio) detectaram anomalias em taxa inferior a 5%, cabendo ao ferro, creatinina e potássio valores entre 4 e 5%.

c) Conhecimento que temos das características de reprodutibilidade e exactidão dos métodos, a permitirem a comparação dos resultados obtidos no mesmo e em diferentes indivíduos.

d) Possibilidade de os métodos serem automatizados nos aparelhos que, segundo o que expressámos anteriormente, nos parecem os mais aconselháveis.

Gisámos assim um programa em que certo número de determinações são iniciadas como base — *Determinações A*. Seguir-se-á outro grupo — *Determinações B* — perante resultados anormais encontrados nas primeiras e por forma a confirmá-los e esclarecê-los.

## Determinações A

### 1 — a efectuar no plasma heparinizado

Glicose  
Ureia  
Ácido úrico  
Lipoproteínas de baixa densidade  
Proteínas totais  
    > globulinas com relação       $\frac{\text{albumina}}{\text{globulinas}}$   
Albumina  
Fósforo  
Cálcio  
Fosfatase alcalina  
Bilirrubina  
Ferro  
Transaminase glutâmica oxalacética

### 2 — a efectuar no sangue colhido sobre EDTA

Hemoglobina  
Glóbulos vermelhos  
Glóbulos brancos  
Hematócrito  
MCV  
MCC  
MCHC

### 3 — a efectuar na urina

Análise qualitativa: reacção, albumina, glicose, acetona, pigmentos biliares, sangue.

Com estas determinações procuramos inquirir de alterações verificadas no metabolismo dos hidratos de carbono, das proteínas, dos lípidos, dos ácidos nucleicos, conhecer algo sobre o funcionamento hepático, renal, ósseo e do sistema hematopoiético. O inter-relacionar dos resultados obtidos permitirá

ajudar o clínico em uma enorme vastidão de possibilidades diagnósticas e, perante a totalidade de resultados normais, afirmar, com razoável probabilidade de certeza, o estado de saúde enquanto ele pode ser definido através de parâmetros bioquímicos e hematológicos.

Sabemos que muitas destas determinações a que chamámos A) não são específicas nem sensíveis em ordem àquilo que pretendemos inquirir mas são as de que dispomos, na química clínica, para o efeito.

Sobre alguns dos motivos técnico-científicos que nos levaram a optar pelas escolhidas, apresentamos as notas seguintes:

a) Incluímos um número tão reduzido quanto possível de determinações de enzimas, duas apenas. Fizemo-lo, para lá da eventualidade de se dispor ou não de aparelho automático permitindo efectuá-las em boas condições técnicas, porque:

— muitas enzimas só atingem valores anormais no plasma perante a lesão, mais ou menos grave, da célula em dado órgão e isso, em geral, não é compatível com o estado ambulatório das pessoas aparentemente sãs sujeitas ao programa de rastreio em causa;

— as determinações de enzimas ficam dispendiosas pois são caras as substâncias usadas como substractos, os coenzimas e as enzimas auxiliares.

b) Das muitas enzimas com interesse clínico (contam-se por mais de cem as já determináveis com relativa facilidade) optámos pela fosfatase alcalina e transaminase glutâmica-oxalacética. Uma e outra são bastante inespecíficas mas, constituídas por isoenzimas de diferente localização, permitem alertar, quando em taxa anormal, para várias hipóteses patológicas e todavia confirmar, em conjugação com outros dados, uma dessas hipóteses de maneira muito válida. Assim, um valor alto de fosfatase alcalina pode estar relacionado com alterações nas células osteoblásticas, no fígado, baço, rim, intestinos ou traduzir, se diminuído, insuficiência placentária; todavia valor alto de fosfatase alcalina

em associação com bilirrubina conjugada, torna-se extremamente importante na confirmação da causa obstrutiva de uma icterícia e não é destronado no seu interesse diagnóstico pelas enzimas mais recentemente usadas com o mesmo fim: 5' nucleotidase e leucina aminopeptidase.

A transaminase glutâmica oxalacética está presente em todos os órgãos mas os músculos cardíaco e esqueléticos e o fígado são especialmente ricos nesta enzima alertando uma sua taxa alta para alterações graves de tal localização. No diagnóstico de lesão hepato-celular e de enfarte de miocárdio não é suplantada pela sorbitol desidrogenase no primeiro caso ou pela creatinofosfocinase e desidrogenase  $\alpha$  hidroxibutírica, no segundo.

- c) Para despiste em ordem a alterações do metabolismo dos lípidos, nomeadamente das hiperlipidémias, decidimo-nos apenas pela determinação das lipoproteínas de baixa densidade (pre  $\beta$  +  $\beta$  lipoproteínas). Na realidade, ligados a elas circulam a maior parte dos lípidos no plasma e dos lípidos considerados mais importantes na patogénese da arterioesclerose, e da respectiva taxa são índice. Tal como neste momento se põe o diagnóstico das hiperlipidémias, cremos que, para lá das lipoproteínas de baixa densidade, só a determinação simultânea do colesterol e trigliceridos em ligação ainda com a electroforese das lipoproteínas ou ultracentrifugação poderia esclarecer totalmente sobre a presença ou não de um estado hiperlipidémico e de qual o tipo dos 5 possíveis segundo Frederickson a corresponderem diferentes situações clínicas e interesse terapêutico. Ora, se a determinação do colesterol é exequível com facilidade em boas condições, a dos trigliceridos é morosa e, tal como a do lipidograma ou separação das lipoproteínas por ultracentrifugação requiere bastante especialização e treino.

## Determinações B

Na sequência das indicadas em «*Determinações A-1*» e a título de exemplo, sem querer esgotar as hipóteses diagnósticas, visto que

são múltiplas, ou as possibilidades de confirmação e esclarecimento laboratorial, também inúmeras, em bom Serviço de Química Clínica, sugerimos:

- a) para confirmar alterações no metabolismo dos hidratos de carbono: provas de tolerância da glicose.
- b) para confirmar alterações no metabolismo proteico: electroforese das proteínas por imunodifusão, provas de funcionamento hepático.
- c) para confirmar alterações no metabolismo dos lípidos: colesterol, trigliceridos, lipidograma e classificação do tipo hiperlipidémico.
- d) para confirmar possíveis alterações hepáticas:

Sorbitol desidrogenase

Desidrogenase láctica e respectivos isoenzimas

Desidrogenase glutâmica

Leucina aminopeptidase

Bilirrubina conjugada

Isoenzimas da fosfatase alcalina

Timol, Kunkel, Hanger

- e) para confirmar possíveis insuficiências renais:

Creatinina

Provas de depuração

Osmolaridade plasma/urina, sedimento urinário

- f) para possíveis investigações em ordem a determinados tipos de anemia:

Capacidade de fixação do ferro

Bilirrubinémia indirecta

Coombs e provas de fragilidade globular

Glicose 6 fosfato desidrogenase, etc.

- g) Enzimas CPK, colinesterase, isoenzimas da SGO-T, em ordem a possíveis problemas musculares.

Na sequência das «*Determinações A-2*»:

Será executada fórmula leucocitária aos indivíduos em que os leucócitos sejam inferiores a 3500 ou superiores a 9000.

Na sequência das «*Determinações A-3*»:

As determinações efectuadas na urina poderão confirmar algumas das hipóteses sugeridas em A-1. e são seguidas de exame do sedimento quando for detectada a presença de albumina ou sangue.

## 1.2. A automatização ou mecanização em ordem às determinações sugeridas.

### Aparelhos e métodos.

#### 1.2.1. *Determinações do grupo «A-1».* *Bioquímica do sangue.*

Sugerimos três soluções:

**1.ª solução** — Com o autoanalisador Greiner, efectuando automaticamente o total das determinações e utilizando métodos modernos em Química Clínica. Damos preferência a esta solução.

(Custo aproximado: 4 500 000\$00).

**2.ª solução** — Com equipamento Technicon SMA 6/60 Autoanalisador III efectuando 9 determinações: glicose, ureia, ácido úrico, proteínas totais, albumina, cálcio, bilirrubina, ferro e fósforo (os métodos possíveis e montados pelo fabricante) e mecanização das técnicas para as restantes determinações.

Lipoproteínas de baixa densidade — LKB.

Enzimas (FA e SGO-T) — Eppendorf com deslocação automática de cuvettes, banho-maria e calculador com expressão dos resultados por impressão directamente em U. I.

(Custo aproximado: 5 150 000\$00).

**3.ª solução** — Com mecanização total das técnicas.

Glicémia — Fotómetro Eppendorf + registador

Método: Glicose hexoquinase

Urémia — LKB

Método: urease com reacção de Berthelot

Ácido úrico — Fotómetro Zeiss (ou recurso a aparelho, permitindo, no Instituto, razoável sensibilidade de leitura a 290 nm)

Método: uricase

Lipoproteínas de baixa densidade — LKB

Método: precipitação com heparina em presença de  $\text{Ca}^{++}$

Proteínas totais: LKB

Método: biureto

Albumina — LKB

Método: verde de bromocresol

Fósforo — LKB

Método: fosfomolibdato e verde de malaquite

Cálcio — LKB

Método: Glyoxal-bis- 2-(hidroxianil)

Bilirrubina — LKB

Método: azobilirrubina

Ferro — Fotómetro Eppendorf mais acessórios próprios

Método: batofenantrolina dissulfonada

Enzimas — Sistema Eppendorf para enzimas, com calculador, expressão em U. I.

Método: cinético

(Custo aproximado na base de 100 amostras/dia: 1 300 000\$00).

#### 1.2.2. *Determinações do grupo «A-2»*

Coulter S e aparelho para automatização das colorações de esfregaços de sangue.

#### 1.2.3. *Determinações especificadas como B*

— LKB

— Fotómetro Eppendorf com deslocação automática de cuvettes, banho-maria e registador.

— Sistema Eppendorf para enzimas com calculador e expressão dos resultados directamente em U. I.

— Conjunto de electroforese.

## 2. *Análises em apoio das várias valências dos Serviços de Saúde*

Além dos programas de rastreio tal como os considerámos, é missão do laboratório de química clínica em Instituto de Saúde Pública

efectuar análises ditas de rotina, em apoio das várias valências dos Serviços de Saúde na área que lhe compete servir e, para lá das determinações que já referimos, ele terá que considerar ainda as de

Sódio

Potássio

Cloretos

Parâmetros bioquímicos em relação com o equilíbrio ácido-base, de preferência segundo a técnica de Astrup.

Sabemos, da nossa experiência, que estas determinações surgem no laboratório em reduzida quantidade e, se tal continuar a verificar-se, a sua automatização ou mesmo mecanização, não se justifica.

Mesmo sem considerar a possibilidade, viável, evidentemente, de no autoanalisador se determinarem em boas condições, sódio, potássio ou cloretos, apresentamos consoante o número de amostras a analisar outras soluções, a seguir expressas:

a) para sódio e potássio: fotómetro de chama IL e EEL, com diluidor acoplado e permitindo a total automatização das determinações. Modelos menos sofisticados e mais baratos realizam-nas com apreciável mecanização de leituras.

b) para cloretos uma multiplicidade de aparelhos. Conhecemos o Marius e temos boas referências do IL e do Radiometer, a permitirem por potenciometria e com pequeno sistema de computerização de impulsos eléctricos referentes à libertação do ião prata do ânodo, titulações rápidas e rigorosas.

Costumamos realizar apreciável mecanização do método Schales e Schales em microtitulador Beckman que, pensamos, será suficiente.

De citações bibliográficas recentes a propósito de aparelhos usando «lon selective electrode» fica-nos a impressão de que talvez esteja eminente completa revolução na metodologia e aparelhos para determinações de electrólitos. Ainda não temos porém notícia da eficiência dos aparelhos que já existem no mercado funcionando sob este princípio.

c) para realização das análises em relação com o equilíbrio ácido-base, duas grandes marcas de aparelhos a possibilitarem solução de total automatização ou mecanização dos passos principais:

— Radiometer

— IL

IL permite, nos aparelhos menos sofisticados, razoável mecanização: projecção em números dígitos dos valores de pH actual,  $pCO_2$  e  $pO_2$  embora os restantes parâmetros tenham de calcular-se em nomograma.

Radiometer possibilita, nos aparelhos mais baratos, trabalho segundo a técnica de Astrup motivo pelo qual, a termos de escolher aparelho na linha não automatizada, optaríamos por ele.

### 3. Infra-estruturas do laboratório servindo todas as secções e enquadrando a automatização

#### 3.1. Aparelhos para apoio geral

a) — 3 centrífugas, com cabeça angular, para 12 tubos.

Sugerimos a Christ, Sputnik que, permitindo a centrifugação a 15 000 r. p. m., reduz o tempo necessário para 3 minutos e se adapta bem ao tamanho dos tubos que julgamos servirem melhor à linha de trabalho proposta quer para automatização, quer para mecanização das técnicas.

b) — 2 balanças de precisão, eléctricas.

c) — 2 potenciómetros.

d) — 2 máquinas para lavar material.

e) — 2 pequenas estufas para secagem e, eventualmente, para esterilização de pequena quantidade de material.

f) — 2 pequenos aparelhos para desmineralização de água.

g) — 2 frigoríficos.

- h) — 2 pequenos congeladores (é suficiente uma temperatura entre os — 15° e os — 20°).
- i) — Sistemas de distribuição de reagentes e diluidores consoante as técnicas.

### 3.2. Material

Será evidentemente adaptado aos aparelhos e tipo de trabalho mas, de uma maneira geral, dada a delicadeza de muitas das técnicas, microtécnicas e enzimáticas, sempre que possível o material será irrecuperável pois vestígios de substâncias estranhas podem interferir em escala considerável. Aliás, e já não falando na automatização, em que o material é mínimo, na mecanização das técnicas ele está também consideravelmente reduzido, pois muitas processam-se nas cuvettes do fotómetro, utilizam micropipetas em que as pontas, uma para cada amostra, são irrecuperáveis e recorre-se a frascos distribuidores de reagentes dispensando quase totalmente a utilização de pipetas.

### 3.3. As instalações

Na perspectiva de funções que ao laboratório incumbem, vemo-las constituídas pelas unidades seguintes:

- a) — Sala de espera.
- b) — Sala de colheitas, compartimentada por forma a permitir que quatro pessoas possam efectuar colheitas em simultâneo e isoladamente.
- c) — Sala de recepção e distribuição das amostras, multiplicação da requisição-base e pequeno serviço de secretaria.
- d) — Secção de Hematologia e Coagulação.
- e) — Secção de análises de Química Clínica automatizada.
- f) — Secção de análises de Química Clínica não automatizada.
- g) — Secção de Enzimologia.
- h) — Secção de lípidos e outras análises especiais. Estudo de novas técnicas e investigação.

- i) — Secção de análises de urina.

- j) — Secção de preparação de reagentes e pequeno depósito de produtos químicos e material (admite-se que o Instituto possuirá um depósito-base e que no laboratório existirá apenas uma pequena reserva).

- l) — Pequena secção de lavagem de material.

- m) — Gabinete para a Direcção e pequena biblioteca privativa do laboratório.

## 4. Pessoal

### 4.1. Pessoal e automatização

No caso de o laboratório dispor de equipamento automático para química clínica e hematologia julgamos que um total de 5 técnicos superiores e 9 preparadores assegurará o seu serviço, efectuando as análises em apoio dos Serviços de Saúde, o programa de rastreio com as determinações sugeridas em indivíduos presumivelmente sãos e na base de 100 pessoas atendidas por dia, e ainda as tarefas internas que competirão ao laboratório por forma a mantê-lo eficiente e actualizado.

O serviço seria, em princípio, distribuído como segue:

|                                                                             | <i>Técnicos Superiores</i> | <i>Preparadores</i> |
|-----------------------------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------|
| Hematologia                                                                 | 1                          | 2                   |
| Química Clínica automatizada + reagentes                                    | 1                          | 2                   |
| Química Clínica não automatizada + urinas                                   | 1                          | 2                   |
| Enzimas                                                                     | 1                          | 1                   |
| Direcção do laboratório, técnicas especiais e estudo de novas determinações | 1                          | 1                   |
| Separação e distribuição de amostras                                        | —                          | 1                   |
| Totais                                                                      | 5                          | 9                   |

### Pessoal auxiliar:

- 2 funcionários de secretaria  
 2 ajudantes de laboratório  
 O serviço de limpeza será assegurado pelo sistema que o Instituto escolher.

#### **Pessoal extra:**

- 1 bolseiro (técnico superior) procurando assegurar continuidade e renovação.

#### **4.2. Pessoal e mecanização**

Para realização do programa do laboratório segundo a solução proposta de mecanização de técnicas, manteríamos o mesmo pessoal técnico superior e auxiliar. Aumentaríamos, porém, o número de preparadores para 15.

#### **4.3. Pessoal no caso de ao laboratório competir missão de laboratório de referência.**

Deverá constituir pequena equipa extra, contando com a colaboração de um técnico de estatística, competindo-lhe a organização dos programas de «contrôle» de qualidade interlaboratorial, com preparação de material de referência e apuramento dos resultados.

A esta equipa caberia ainda a uniformização das técnicas e, na extensão que a lei lhe venha porventura estipular, a árdua mas sem dúvida útil missão de verificação dos reagentes que no mercado se encontram à disposição dos laboratórios.

#### **5. Organização do serviço, identificação das amostras e expressão dos resultados**

Encaminhados pela Recepção Geral do Instituto ou provenientes de outros departamentos, eventualmente pertencentes a Serviços de Provas Múltiplas de Saúde em que o laboratório de Química Clínica se encontre inserido, o doente ou «indivíduo presumivelmente são sujeito a rastreio», de preferência em jejum, chega ao laboratório trazendo uma requisição. É atendido de acordo com ela mas, ordinariamente, sobretudo considerado o programa de rastreio, far-se-lhe-á punção venosa recolhendo-se sangue sobre EDTA e sobre heparinato de lítio e para tubo de centrifuga sem anticoagulante — os tubos terão configuração diferente ou apenas diversa cor de rolha conforme o tipo de anticoagulante ou a ausência deste.

As amostras de uma mesma pessoa (sangue, urina ou outras) acompanhadas pela requisição própria chegam ao Serviço de Recepção privativo do laboratório em tabuleiro compartimentado e ocupando uma das suas divisórias.

Uma vez na Recepção, nos produtos e na requisição é aposto um mesmo número (simultaneamente para leitura vulgar e automática) retirado de um bloco em que cada folha é constituída por uma série de etiquetas cada uma com o tal número, *que é o número de entrada no laboratório.*

A cada secção do laboratório competirão duas fichas próprias para requisição das análises que executa, fichas iguais na cor mas em que uma seria para leitura e escrita vulgar e outra, especial, funcionaria por sistema codificado previamente para o computador.

As cores seriam as seguintes:

Hematologia — verde

Química Clínica automatizada — amarelo carregado

Química Clínica não automatizada — amarelo carregado com tarja azul

Enzimologia — castanho

Análises especiais (Lípidos, etc.) — branco

Urinas — amarelo claro

Indicamos estas cores por serem as que basicamente já utilizamos.

Enquanto um preparador retira as amostras com EDTA e heparinato de lítio já numeradas e centrifuga estas últimas em séries de 12 (admitindo que as centrífugas têm capacidade para este número de tubos) o funcionário de secretaria multiplica cada requisição pelo número de fichas que correspondem às determinações pedidas, apondo nelas o número de entrada, os elementos identificadores da pessoa (nome, idade e sexo) a entidade requisitante e assinalando as determinações a fazer.

Nestes elementos identificadores o ideal será vir a figurar, como base, o número próprio do registo nacional de identificação que cada indivíduo em breve virá a ter (Lei n.º 2/73), para que qualquer serviço estatal possa vir a pedir informações ao Instituto sobre os resultados de análises ou outros elementos que sobre ele já constem dos ficheiros.

Além das fichas para acompanhar os produtos às várias secções do laboratório, mais uma (cartão próprio) só com os elementos identificadores do indivíduo seguiria imediatamente para o computador.

Retirando as amostras da centrífuga, o preparador organiza, em suportes próprios, séries de 12, com as respectivas requisições



anexas e manda-as para a secção do laboratório encarregada das determinações em causa.

Mas as amostras de sangue de um mesmo indivíduo serão usualmente três e, sobre uma mesma, diferentes secções do laboratório podem ter que trabalhar. Estabelecer-se-á uma prioridade, por exemplo, a amostra com heparinato de lítio seguirá primeiro para a secção de automatização, depois para a de enzimologia, a seguir para a de química clínica não automatizada e finalmente para a de análises especiais.

Entretanto os tubos contendo a amostra de sangue sem anticoagulante, já rotulados com o número de entrada, serão centrifugados pelo preparador uma vez despachado o serviço da manhã, e os soros separados. Constituirão, salvo o caso de análises requerendo o soro como amostra óptima para sua efectivação (fosfatase ácida, reacções de floculação, lípidos), uma reserva, sobretudo destinada ao estudo de problemas sugeridos pelos resultados previamente obtidos, nomeadamente no programa de rastreio, ou a enviar subsequentemente a outro departamento do Instituto para diferente tipo de análises, reacções imunológicas, por exemplo.

Efectuadas as análises nas diferentes secções do laboratório, as fichas manuscritas e as fichas destinadas ao computador regressarão à Recepção com os resultados apostos e verificados pelo técnico superior encarregado.

As fichas manuscritas são catalogadas em ficheiro próprio e as especiais (cartões mag-

netizados ou de outro tipo) seguirão para o computador. Com base nelas, o «out put» seria:

- 1 — lista com os resultados por números ou nomes dos doentes assinalando os anormais.
- 2 — lista individual com resultados para enviar ao médico.
- 3 — cálculo do «contrôle» de qualidade dos resultados em função de material de referência.

O sistema de registo dos resultados ou outros elementos nos cartões será escolhido de acordo com as características do computador a utilizar.

— Como ideal obténivel com relativa facilidade, cremo-lo, nos aparelhos em que isso for possível (Autoanalizador, LKB), que os resultados saiam logo gravados, por perfuração, para o computador. Os cartões magnetizados (ou outro tipo de sistema, por exemplo cartões para perfurar) manter-se-iam apenas para os resultados manuscritos obtidos em determinações manuais ou mecanizadas.

— Razão justificativa de duas fichas no sistema proposto (uma para leitura vulgar e outra magnética ou de outro tipo para o computador): necessidade de, pelo menos numa fase inicial (recomendação dos técnicos especialistas em informática) se manterem dois tipos de ficheiros.

## BIBLIOGRAFIA

- The Planning and organization of a Health Laboratory service. Technical report series, WHO, 491, 1972.
- Planning, organization and administration of a National Health Laboratory service. Technical report series, WHO, 236, 1962.
- Les examens de santé de masse. Cahiers de santé publique, OMS, 45, 1972.
- Campagnes de masse et service de santé généraux. Cahiers de santé publique, OMS, 29, 1966.
- GONÇALVES FERREIRA, F. — Saúde Pública. Liv. Fernando Machado, Porto, 1963.
- GONÇALVES FERREIRA, F. — Saúde, essa desconhecida. *Observador*, 94: 10, 1972.
- GONÇALVES FERREIRA, F. — Em busca da saúde. *Observador*, 94: 129, 1972.
- CAYOLLA DA MOTTA, L. — Os principais flagelos. *Observador*, 94: 18, 1972.
- CAYOLLA DA MOTTA, L. — Laboratórios de Saúde Pública. *Observador*, 94: 149, 1972.
- RICHTERICH, R. — Clinical Chemistry. S. Karger, Basileia, 1969.
- LOUS, P. — Clinical Chemistry between 1900 and 1970. *Klinische Chemie*.
- WILDING, P., ROLLASON, J. G. e ROBINSON, D. — Patterns of change for various biochemical constituents detected in well population screening. *Clinica Chimica acta*, Outubro, 1972.
- WHITBY, L. G. — Well population screening. *British Journal of Hospital Medicine*, Outubro, 1968.
- BERENSON, G. S. — Simplified primary screening procedure for detection of Hyperlipidemias in healthy individuals. *Clinical Chemistry*, 1972.
- MÉTAIS, P. — Introduction aux problèmes posés par l'automatisation et perspectives d'avenir de la biologie clinique. Organisation, automatisation des Laboratoires, 1970.
- JENSEN, R. e BUFFANGEIX, D. — Pourquoi, comment, quand automatiser un laboratoire d'analyses médicales. Organisation, Automatisation des Laboratoires, 1970.
- SANZ, M. C. — Laboratoire et médecine préventive. Organisation, Automatisation des Laboratoires, 1970.
- LELLOUCH, J. — Epidemiological Research. Computer applications in the Field of Medicine.
- ORDELL, R. — An integrated Laboratory System. Computer applications in the Field of Medicine.

## ORGANIZAÇÃO DO SERVIÇO DE VIROLOGIA DA DELEGAÇÃO DO INSA NO PORTO

*Maria Fernanda Ferreira<sup>1</sup>*

### 1. OBJECTIVOS DOS LABORATÓRIOS DE VIROLOGIA

Um Serviço de Virologia é um elemento essencial dos laboratórios de Saúde Pública. Uma grande parte das doenças de maior importância em Saúde Pública são devidas a vírus. O laboratório, fornecendo dados para a comprovação etiológica dum surto ou para a verificação do estado imunitário duma população, permite que sejam tomadas as medidas adequadas com conhecimento de causa e que se estabeleçam as prioridades que melhor convêm aos programas de saúde.

Apontam-se como objectivos gerais dum laboratório de virologia os seguintes:

- Isolamento do agente patogénico e determinação do seu papel na etiologia da doença;
- estudo da ecologia do agente e das características epidemiológicas e clínicas da doença;
- pesquisa de meios eficazes de prevenção e tratamento da doença (vacinas, quimioterápicos, etc.).

Pode acontecer que um laboratório de virologia possa realizar, simultaneamente, todas as tarefas que os objectivos citados pressupõem; mas, em geral, eles especializam-se em diver-

sos sectores, caracterizando-se como: laboratórios de diagnóstico clínico e/ou epidemiológico, laboratórios de produção de vacinas e outros produtos biológicos, laboratórios de controlo, laboratórios de «referência», laboratórios de investigação, etc.

No nosso país e dentro da estrutura dos organismos de Saúde Pública, o Instituto Nacional de Saúde possui dois Laboratórios de Virologia que fazem parte do conjunto dos laboratórios centrais de Lisboa e Porto; e não me parece que num futuro próximo possamos encarar a organização de outros laboratórios periféricos, devido à escassez de recursos humanos e financeiros.

No caso concreto do Porto, um Serviço de Virologia poderá funcionar como laboratório de diagnóstico clínico e epidemiológico, simultaneamente. Em geral, não se vê como proveitosa a coexistência de laboratórios hospitalares e de Saúde Pública no mesmo local, com o mesmo pessoal: o carácter premente da análise clínica tende a sobrepor-se à importância do estudo sanitário... e a adiá-lo. No entanto, penso que neste caso particular há vantagem na associação desses dois tipos de trabalho — por um lado, os hospitais podem obter um apoio laboratorial que é dispendioso, por outro lado, a Saúde Pública centraliza dados clínicos que servirão de base a determinados estudos de índole epidemiológica.

<sup>1</sup> Assistente, Laboratório de Virologia — Delegação do Instituto Nacional de Saúde — Porto.

Quer o clínico quer o sanitarista se interessam por viroses — o primeiro, porque pretende confirmar a etiologia da doença em vista duma possível atitude terapêutica; o segundo, porque inclui a luta contra doenças provocadas por certos vírus na planificação geral dos Serviços de Saúde. O laboratório capaz de executar as técnicas básicas de virologia (isolamento de vírus e sua classificação, titulação de anticorpos) funcionará, eficientemente, para ambos os requisitos.

#### a. Sector de Saúde Pública

Dum modo geral, os principais problemas referidos a vírus e que interessam à Saúde Pública podem agrupar-se em sectores que se individualizam apenas por comodidade de exposição ou por afinidades de métodos de estudo, mas que, na realidade, estão interdependentes; são:

- 1) Transmissão de vírus por via hídrica;
- 2) Toxi-infecções alimentares por vírus;
- 3) Luta contra viroses, o que pressupõe prospecção e verificação dos programas de vacinação;
- 4) Verificação da qualidade de vacinas, anti-soros e outros produtos biológicos.

1) Que os problemas de abastecimento de água potável às populações, que a higienização das águas residuais, que o aproveitamento racional das reservas hídricas, constituem uma das grandes preocupações actuais, todos o sabemos. Mas qual é o papel dos vírus, que relação pode haver entre incidência de viroses e poluição das águas e que medidas são aconselháveis no caso de existir essa relação, são ainda interrogações sem respostas totalmente elucidadas.

Assim, os principais sectores em que são aconselháveis estudos referentes à virologia das águas são:

- Transmissão de viroses pela água de abastecimento;
- transmissão de viroses pela água de recreio (piscinas, praias, lagos, etc.);
- poluição vírica do meio ambiente por águas residuais (habitações, matadouros, mercados, hospitais);
- poluição vírica da água de viveiros de mariscos (ostras, mexilhões, etc.).

Qualquer vírus excretado pelas fezes e capaz de produzir infecção quando ingerido pode ser, *teoricamente*, transmissível por via hídrica. Ora, esta transmissão depende da estabilidade dos vírus na água, da sua resistência aos processos de desinfecção, da dose infectante vírica pela via digestiva, do estado imunitário da população exposta, da proporção das infecções inaparentes para os casos da doença e, também, da fácil caracterização clínica dos sintomas dessa doença.

É, pois, muito complicado relacionar concretamente epidemias víricas com a sua possível transmissão pela água potável, e, até agora, só a hepatite e certas enteroviroses é que são citadas na literatura médica como devidas a esse modo de transmissão.

Pelo contrário, há numerosos estudos sobre recuperação de vírus de esgotos, e, em geral, admite-se que os vírus encontrados reflectem a situação epidemiológica da comunidade, nesse momento.

Borneff e outros explicam que os enterovírus, pelo menos, invadem os esgotos em quantidades maciças durante ou pouco tempo antes de epidemias e só em quantidades moderadas nos períodos interepidémicos. Os processos de rotina usados para purificar os esgotos não eliminam completamente os vírus; parte deles sedimentam, adsorvidos a partículas orgânicas e são destruídos por protozoários, algas e outros mecanismos mal conhecidos. Se um esgoto entra num curso de água não poluído, os vírus diluem-se e desaparecem, mas, mesmo em condições desfavoráveis, é possível admitir a sua sobrevivência até cerca de 2 meses, como várias investigações o comprovam.

A tendência actual é de aproveitar as águas residuais (após o seu tratamento) quer para fins recreativos quer para consumo — ora a dose infecciosa mínima da maioria dos vírus é extremamente pequena. São, pois, de grande importância, os estudos que se fizerem neste sector.

Os problemas da poluição vírica dos viveiros de mariscos são, também, da maior actualidade — pouca bibliografia existe sobre o assunto, sobretudo no que se refere aos mecanismos de autodepuração e de concentração de vírus pelos mariscos, em condições naturais ou laboratoriais.

2) Embora a transmissão de vírus por alimentos seja um conceito quase chocante, há

autores como Cliver, Brown, Berg, etc., que o admitem: certos vírus, alguns deles não humanos, permanecem nos alimentos e podem, posteriormente, ser transmitidos por via digestiva. Uma das circunstâncias que favorece a disseminação de vírus pelos alimentos é a refrigeração e congelação que suprimem o crescimento bacteriano e são excelentes meios de preservação dos vírus; outra, ainda, é a distribuição de alimentos para fora das zonas onde são produzidos, e, assim, os vírus atingem populações até então não imunes; o uso de alimentos que não necessitam cozinha (mariscos crus, ovos, leite), podem também favorecer a disseminação de certos vírus. Segundo aqueles autores, a transmissão de vírus por alimentos merece estudos planejados, sobretudo nos seguintes aspectos:

- Influência dos processos industriais de preparação dos alimentos sobre a sobrevivência de vírus que possam conter;
- protecção de vírus por proteínas;
- reactivação de vírus ao nível do aparelho digestivo.

3) As viroses para as quais se devem estabelecer programas de luta têm de ser escolhidas em função dos riscos que fazem correr aos indivíduos e à comunidade, mas sem esquecer que é materialmente impossível eliminar todas as infecções — daí que a vigilância da população tenha de ser constante e que os Serviços de Saúde devam rever, periodicamente, as medidas que adoptaram à luz de novos trabalhos de investigação epidemiológica e laboratorial.

Os principais grupos de vírus que, para o nosso país, merecem maior interesse no sector de Saúde Pública são:

- Gripe e outros vírus respiratórios;
- Poliovírus e outros enterovírus;
- Vírus da Hepatite;
- » » Rubéola;
- » do Sarampo;
- Herpesvírus;
- Vírus da Parotidite;
- » » Varíola;
- » » Raiva;
- Arborvírus.

Os Serviços de Virologia devem estar preparados não só para fazer a prospecção de certos grupos desses vírus, estabelecendo correctamente os dados referentes à sua incidência nos diferentes grupos etários da população como ainda determinar o grau de imunidade da população, e verificar a inocuidade, eficácia e duração das vacinações que tenham sido adoptadas mediante os dados previamente colhidos. Mas estes objectivos só podem ser atingidos com uma coordenação entre as diferentes estruturas dos Serviços — o custo das investigações é demasiado elevado para que elas se possam fazer «ad hoc».

Adaptando ao nosso país as recomendações dum grupo de trabalho internacional (1970), refere-se quais seriam os principais problemas virológicos a abordar pelos Serviços de Virologia:

#### *Vírus das vias respiratórias*

- Vigilância serológica contínua da gripe;
- conservação a longo tempo, em vista de futuros estudos, de pares de soros colhidos em cada surto de gripe, nos casos clínicos representativos;
- pesquisa serológica sistemática nos soros de animais, sobretudo aves, de vírus de gripe e outros vírus respiratórios;
- avaliação serológica dos programas de vacinação antigripal, sob os pontos de vista de duração da imunidade conferida, e da importância da imunidade local ao nível do epitélio das vias respiratórias;
- estudo serológico dos vírus respiratórios como para influenza, RS e outros.

#### *Poliovírus e outros enterovírus*

- Avaliação do estado imunitário da população, em conjunção com os programas de vacinação;
- caracterização intratípica das estirpes de Poliovírus;
- incidência de enterovírus na população normal, sobretudo infantil.

#### *Vírus da Rubéola e Sarampo*

- Em conjunto com programas de vacinação, avaliação do estado imunitário da população em geral e em grupos determinados;

- estudos sobre a persistência do vírus do sarampo em relação com afecções do sistema nervoso, nomeadamente leucoencefalite esclerosante subaguda e esclerose em placas.

#### *Herpes vírus*

- Estudo etiológico e imunológico do vírus EB em relação com a mononucleose infecciosa, cancro, alterações linfoproliferativas ou retículo endoteliais;
- estudo da relação etiológica entre o herpesvírus 2 e o cancro do colo uterino.

Propositadamente, excluí do programa citado as investigações que se refeririam a varíola e raiva. Desde há anos que o nosso país não é afectado por tais viroses; mas o facto não exclui, de modo nenhum, que os Serviços não tenham uma rotina de diagnóstico rápido estabelecida para ambos, que será posta a funcionar numa dada ocasião necessária; se bem que, em relação à raiva, o problema pertença, sobretudo, ao campo da virologia veterinária.

Trabalhos recentes referem a possível existência na população continental de anticorpos para certos grupos de arbovírus; parece, pois, que os Serviços de Saúde terão de ter em mente esse problema.

Não posso deixar de fazer notar, também, que se reveste de muito interesse o estudo das viroses durante a gestação e que se impõe relacionar a sua incidência com as malformações congénitas, sobretudo em certos grupos de vírus como o da rubéola, o citomegálico, herpes e alguns enterovírus. Em 1971 registaram-se, em Portugal, 789 óbitos por malformações congénitas; é óbvio que não serão todas provocadas por vírus, mas não sabemos qual é a quota-parte desta etiologia possível.

4) A verificação das substâncias biológicas usadas em Medicina tem por fim garantir a sua qualidade. No que se refere a vacinas víricas e anti-soros caberá ao Instituto Nacional de Saúde a execução de todas as tarefas correspondentes por intermédio dum departamento especialmente criado.

#### **b. Sector Hospitalar**

A frequência com que os Hospitais pedem a colaboração da Virologia depende, fundamentalmente, do interesse pessoal e do nível profissional dos clínicos e das facilidades que lhes são dadas.

O que se verifica no nosso meio é que cada vez mais nos são pedidas análises virológicas, com a maior variedade de diagnósticos; dum modo geral, são as viroses com manifestações respiratórias e os exantemas que mais vezes figuram nesses pedidos, o que coincide com a mortalidade e morbilidade indicadas nas estatísticas de saúde recentes. Como exemplo, transcrevem-se dados obtidos em 1971, no quadro a seguir, correspondente a casos de viroses em alunos do ensino primário e secundário em Lisboa; admite-se que haja um certo paralelismo com a cidade do Porto, para a qual não possuímos dados.

#### **QUADRO I**

#### **Casos de doença dos alunos do ensino primário e secundário da cidade de Lisboa**

**1970/71 — HM**

|                                               |      |
|-----------------------------------------------|------|
| Gripe                                         | 1352 |
| Poliomielite                                  | 1    |
| Varicela                                      | 252  |
| Herpes zoster (zona)                          | 2    |
| Sarampo                                       | 345  |
| Rubéola                                       | 214  |
| Outros exantemas                              | 1    |
| Dengue                                        | 1    |
| Encefalite por vírus transmitida por mosquito | 1    |
| Hepatite                                      | 125  |
| Parotidite                                    | 201  |
| Mononucleose infecciosa                       | 2    |
| Outras viroses                                | 11   |

*Nota* — Indicam-se nesta estatística 1047 casos de infecção aguda do aparelho respiratório sem especificar a sua causa; a sua maior parte atribui-se a vírus, pois se trata de população infantil.

## QUADRO II

Óbitos segundo as causas de morte 1970/71  
(Portugal)

|                                 | Total (HM) |
|---------------------------------|------------|
| Poliomielite                    | —          |
| Efeitos tardios da Poliomielite | 10         |
| Varíola                         | —          |
| Sarampo                         | 204        |
| Encefalite por vírus            | 97         |
| Hepatite                        | 63         |
| Outras viroses                  | 19         |
| Gripe                           | 972        |
| Pneumonia por vírus             | 561        |

Além dos problemas de diagnóstico, o sector hospitalar exige, também, apoio laboratorial no caso das infecções nosocomiais. Os vírus mais vezes envolvidos nestas circunstâncias são:

- Vírus citomegálico;
- » da rubéola;

- Vírus da hepatite;
- herpesvírus simplex;
- herpes zoster;
- vacína.

Interessa, pois, que o Serviço de Virologia tenha estabelecido uma rotina de isolamento e ou de serologia para os casos referidos.

De certo modo, o registo e colecção destas observações, assim como os possíveis estudos epidemiológicos relacionados com eles, nos meios hospitalares, são, ainda, para nós, um campo de investigação aplicada a desenvolver.

## 2. OBJECTIVOS DO SERVIÇO DE VIROLOGIA DO INSA NO PORTO

O Serviço de Virologia do INSA no Porto vai fazer a cobertura laboratorial de uma área aproximada de 32 000 km<sup>2</sup>; essa área está dividida em distritos que possuem população de tipo rural e de tipo urbano e, alguns deles, industrializados.

O quadro III resume os dados demográficos que mais nos interessam (1971).

## QUADRO III

| Distritos        | Area      | População |         | Densidade |
|------------------|-----------|-----------|---------|-----------|
|                  |           | Rural     | Urbana  |           |
| Aveiro           | 2 708,20  | 545 700   | 46 544  | 193,7     |
| Braga            | 2 730,20  | 552 259   | 94 509  | 218,6     |
| Bragança         | 6 545,45  | 196 150   | 37 291  | 37,5      |
| Guarda           | 5 496,16  | 234 279   | 48 327  | 51,4      |
| Porto            | 2 282,55  | 887 923   | 305 445 | 522,9     |
| Viana do Castelo | 2 108,38  | 203 049   | 77 699  | 131,7     |
| Vila Real        | 4 239,10  | 277 521   | 47 837  | 76,8      |
| Viseu            | 5 018,80  | 403 400   | 79 016  | 96,1      |
| Total            | 31 128,84 | 3 300 481 | 726 668 |           |

Na zona Norte do nosso país não existe em nenhum dos hospitais centrais, laboratório de diagnóstico virológico e não parece haver movimento que leve à sua instalação, em qualquer deles.

Até agora tem sido o Serviço de Virologia do INSA no Porto solicitado a prestar colaboração aos seguintes hospitais:

Hospital Geral de Santo António  
Hospital de São João  
Hospital Joaquim Urbano  
Hospital de Crianças Maria Pia

Sabendo que são, sobretudo, os serviços de Pediatria, Infecto-Contagiosas e Neurologia os que mais vezes utilizam os nossos serviços,

obtem-se um conjunto de mais de 400 camas, a que podem corresponder doentes com variados síndromas víricos. E, certamente, haverá entre nós infecções nosocomiais por vírus, à semelhança do que acontece em outros centros hospitalares.

Estão, assim, lançados os dados do problema; como poderá o Serviço de Virologia ocupar-se, simultaneamente, dos sectores Saúde Pública e Hospitalar?

#### a. Planos de Trabalho

Julgo que, para a população anteriormente citada, as viroses que se nos apresentam como problemas prioritários em Saúde Pública são a Rubéola, a Poliomielite e a Gripe, já que na Hepatite epidémica, no estado actual dos nossos conhecimentos, os serviços de saúde só têm uma reduzida intervenção.

Foi recentemente efectuado pelos Serviços de Virologia do INSA (1970-71-72) um inquérito destinado a obter dados iniciais quanto à percentagem de mulheres serologicamente negativas para a rubéola e pôde concluir-se, embora com reservas, que se encontrava uma percentagem relativamente elevada de mulheres em idade fértil desprovida de anticorpos protectores (20%). Estes resultados prévios chamam a atenção para a urgente necessidade de serem efectuados inquéritos a nível nacional e programados, de modo que possamos considerar, com «certeza estatística», a vantagem ou desvantagem da vacinação anti-rubéola obrigatória.

Não basta consultar estudos de outros países, pois «a experiência dos diferentes grupos etários em várias zonas do mundo, com o vírus da rubéola não é idêntica, daí existirem diferenças regionais quanto à proporção de mulheres em idades conceptionais em risco de contraírem a doença durante a gestação, com todos os perigos que este facto acarreta» (Dudgeon, 1973).

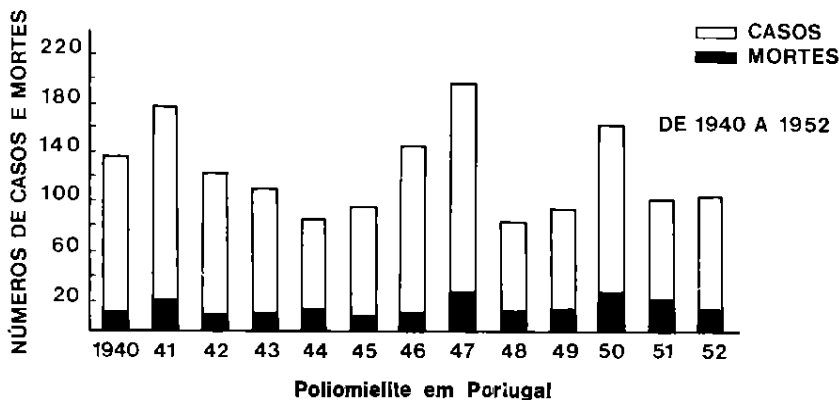
A poliomielite tem sido uma ameaça permanente na zona norte de Portugal.

Não possuo dados anteriores a 1940 com respeito à poliomielite; mas nos quadros a seguir condensaram-se os números que foi possível recolher em publicações, como o «Boletim do Instituto Dr. Ricardo Jorge», «Saúde Pública» e «Estatísticas da Saúde»:

Comparando os Quadros IV e V, há uma interessante observação: enquanto que em 1953, A. Sampaio podia escrever «em Portugal, tanto quanto nós podemos saber pelos casos comunicados aos Serviços de Saúde, a doença não constitui um grande problema para a Saúde Pública», em 1958, os casos paralíticos comunicados à D. G. S. aumentam cerca de 5 vezes, a maioria deles na cidade do Porto. A partir deste ano inicia-se entre nós a aplicação da vacina antipolio tipo Salk; contudo esta vacina não influenciou significativamente a incidência dos casos paralíticos, como se vê na estatística apresentada. A comprovação da inocuidade e eficácia das vacinas orais (Koprowski, Sabin, Cox) só se obteve depois dos anos 60, por campanhas experimentais efectuadas na U. R.

QUADRO IV

#### Poliomielite em Portugal





S. S., Checoslováquia, Polónia, U. S. A., etc. Os Serviços de Saúde em Portugal iniciaram em 1965 a primeira campanha em massa de vacinação antipoliomielítica aplicada por via

#### QUADRO V

Portugal (Continente)

#### POLIOMIELITE

**Casos e Óbitos e suas Taxas por 100 000 habitantes — 1950-1965**

| Anos | Casos (*)      |       | Óbitos         |       |
|------|----------------|-------|----------------|-------|
|      | N.os absolutos | Taxas | N.os absolutos | Taxas |
| 1950 | 179            | 2,3   | 29             | 0,4   |
| 1951 | 107            | 1,4   | 25             | 0,3   |
| 1952 | 132            | 1,7   | 20             | 0,3   |
| 1953 | 100            | 1,3   | 28             | 0,4   |
| 1954 | 106            | 1,3   | 16             | 0,2   |
| 1955 | 116            | 1,4   | 13             | 0,2   |
| 1956 | 115            | 1,4   | 17             | 0,2   |
| 1957 | 96             | 1,2   | 15             | 0,2   |
| 1958 | 550            | 6,7   | 53             | 0,7   |
| 1959 | 342            | 4,2   | 33             | 0,4   |
| 1960 | 244            | 2,9   | 28             | 0,3   |
| 1961 | 244            | 2,9   | 21             | 0,3   |
| 1962 | 386            | 4,6   | 48             | 0,6   |
| 1963 | 218            | 2,6   | 29             | 0,3   |
| 1964 | 236            | 2,8   | 39             | 0,5   |
| 1965 | 292            | 3,4   | 28             | 0,3   |

(\*) Casos paralíticos.

oral, que foi, posteriormente, integrada no Plano Nacional de Vacinação, após estudos prévios quanto à distribuição dos casos e incidência de anticorpos específicos nos diferentes grupos etários.

A incidência de casos paralíticos nos anos seguintes desceu duma forma dramática o que permitiu que a equipa responsável pudesse escrever: «Tenhamos esperança que resultados como os que se obtiveram com a Campanha de Vacinação contra a Poliomielite possam demonstrar a imperiosa necessidade de modificar as nossas estruturas sanitárias de modo a que a Medicina Preventiva atinja o nível indispensável à obtenção da saúde e bem-estar dos portugueses.»

Mas o problema da Poliomielite é de vigilância perseverante, de constante revisão das condições locais; assim, além da avaliação do estado imunitário, em amostras representativas, da população, de acordo com os programas de vacinação, é da maior utilidade estudar a incidência de enterovírus na população normal, sobretudo infantil, assim como exercer vigilância mais ou menos periódica da flora vírica das águas residuais de forma a possuírmos «indicadores» dum possível surto epidémico de poliomielite.

Fazendo parte do INSA e instalado em Lisboa, o nosso país possui, também, um Centro Nacional de Gripe; e daí que os Serviços de Virologia do Porto apenas se devam preocupar com o diagnóstico serológico da afecção, de acordo com técnicas e reagentes padronizados pelo Centro, colaborando sempre que for julgado útil em estudos programados a nível nacional.

Numa segunda linha de prioridades, outros problemas de virologia que interessam à Saúde Pública no nosso meio referem-se à necessidade de efectuar a prospecção das viroses mais comuns como, por exemplo, parotidite, varicela, sarampo, sobretudo esta última que, recentemente, se tem ligado a afecções neurológicas, como a leucoencefalite esclerosante subaguda e esclerose em placas.

Weller escreveu em 1964 que «a doença citomegálica (como a rubéola e a toxoplasmose) pode vir a ser uma entidade com largo

#### QUADRO VI

Portugal (Continente)

**Inoculações de vacina antipoliomielítica morla (Tipo Salk) — 1958-1965**

| Anos  | Número de inoculações |         |          |          |
|-------|-----------------------|---------|----------|----------|
|       | Primeira              | Segunda | Terceira | Reforços |
| 1958  | 42 192                | 9 459   | —        | —        |
| 1959  | 117 335               | 128 510 | 73 536   | —        |
| 1960  | 39 399                | 33 924  | 40 972   | 784      |
| 1961  | 17 248                | 15 808  | 23 298   | 865      |
| 1962  | 15 878                | 11 311  | 7 388    | 930      |
| 1963  | 10 666                | 9 256   | 8 005    | 628      |
| 1964  | 21 994                | 8 327   | 6 638    | 1 276    |
| 1965  | 14 522                | 21 713  | 17 324   | 842      |
| Total | 279 234               | 238 308 | 177 161  | 5 289    |

## QUADRO VII

Portugal (Continente)

TOTAL DO CONTINENTE

Campanha de vacinação contra a Poliomielite

Outubro, 1965 — Junho, 1966

Inoculações, por doses e por anos de idade e respectivas percentagens

| Grupos etários                           | População<br>Censo — 1960 | Inoculações |      |            |      |
|------------------------------------------|---------------------------|-------------|------|------------|------|
|                                          |                           | 1.ª dose    | %    | 2.ª dose   | %    |
| >1 ano                                   | 171 455                   | 124 516     | 72,6 | 91 625     | 53,4 |
| 1 ano                                    | 162 124                   | 127 357     | 78,5 | 110 296    | 68,0 |
| 2 anos                                   | 169 033                   | 131 244     | 77,6 | 116 221    | 68,7 |
| 3 anos                                   | 164 609                   | 133 843     | 81,3 | 119 721    | 72,7 |
| 4 anos                                   | 159 743                   | 134 688     | 84,3 | 119 730    | 74,9 |
| <b>TOTAL</b><br>de 0-4 anos              | 826 964                   | 651 648     | 78,8 | 557 593    | 67,4 |
| 5-9 anos                                 | 785 116                   | 725 962     | 92,4 | 683 128    | 87,0 |
| 10 e+ anos                               | 6 680 895                 | 146 199     | —    | 143 588    | —    |
| <b>TOTAL</b><br>de doses administrativas | —                         | 1 523 809   | —    | 1 384 309* | —    |

\* Cerca de 91% dos que receberam a 1.ª dose também tomaram a 2.ª.

significado social»; sabe-se hoje, realmente, que o vírus citomegálico contribui para uma parte das malformações congénitas causadas por vírus — deste modo impõe-se o conhecimento da incidência desta virose entre nós por meio de inquéritos na população normal, e, especialmente, nas grávidas. Não têm sido tão fáceis as investigações neste grupo de vírus como o são para a rubéola, pois a preparação de antígenos a partir de vírus citomegálico é delicada; no entanto, é possível executar esses inquéritos usando técnicas de hemaglutinação, mais simples e económicas, que foram ultimamente publicadas.

Tem-se acumulado evidência quanto à ligação do herpesvírus 2 com o carcinoma do colo uterino, julgando-se, até, que a pesquisa daqueles vírus poderia ser encarada como um método de avaliação dos estados pré-cancerosos; isto nos leva a concluir que os Serviços de Saúde têm de tomar em consideração esse problema, estabelecendo cooperação com outras entidades interessadas naquele sector.

Já anteriormente se referiu o apoio laboratorial aos Hospitais quanto aos diagnósticos de certas viroses; quando o Serviço de Virologia estabelecer programas de investigação aplicada em Saúde Pública para poliovírus e outros enterovírus, rubéola, sarampo, vírus citomegálico, herpes vírus simplex, hepatite epidémica e viroses respiratórias terá, ipso facto, uma rotina estabelecida capaz de satisfazer as necessidades de diagnóstico clínico para as viroses mais comuns na nossa população.

### b. Coordenação com outros Serviços

O Serviço de Virologia do INSA no Porto deverá coordenar a sua actividade fundamentalmente com o departamento correspondente em Lisboa — só o trabalho de equipa produz resultados, e a complexidade das técnicas tanto como a extensão e profundidade dos objectivos que nos cabem atingir, exigem um apoio eficaz e mútuo.

Assim, esse apoio deve exercer-se, principalmente, nos seguintes pontos:

- a) Fornecimento de antigénios e soros-padrão, assim como linhas celulares quando necessário pelo Departamento de Virologia de Lisboa;
- b) padronização de técnicas em ambos os Serviços;
- c) troca de informações técnicas;
- d) intercâmbio de bibliografia de interesse comum;
- e) programação de trabalhos que possam ser executados por ambos os Serviços;
- f) reunião de trabalho comum, pelo menos, anualmente.

Com outros Serviços do INSA no Porto, é também, útil que se estabeleçam planos de colaboração: quer nos estudos relativos a águas de abastecimento, quer a águas residuais, ou a alimentos ou ainda nos «inquéritos para fins múltiplos», o Serviço de Virologia pode, com certeza, executar a sua quota-parte.

Os Centros de Saúde constituem postos-chave para a recolha de dados e material para fins epidemiológicos, sobretudo nas valências materno-infantis, profilaxia e higiene do meio ambiente.

Já se referiu o apoio laboratorial aos Hospitais Centrais da Zona Norte; é óbvio que os outros organismos ligados à Saúde nos podem fornecer material e receber colaboração especial, como por exemplo, no estudo da relação do herpesvírus com carcinoma uterino, infecções víricas durante a gestação, malformações congénitas, etc.

### **3. REESTRUTURAÇÃO DO SERVIÇO DE VIROLOGIA**

#### **a. Instalações**

Em qualquer laboratório de Microbiologia podem considerar-se duas zonas — a «zona

limpa» e a «zona suja» — definidas pela circulação dos produtos potencialmente infectantes.

Nos laboratórios de Virologia, a separação entre essas zonas reveste-se da maior importância devido às características específicas dos agentes que nelas se manipulam, alguns dos quais requerem até, instalações especializadas (variola, raiva, arborvírus, etc.).

Os processos de desinfecção e esterilização nos laboratórios de virologia procuram atingir dois objectivos:

- a) destruição do material infeccioso;
- b) obtenção de «locais assépticos» ou «câmaras assépticas» onde possam manusear-se os agentes perigosos para a segurança do pessoal ou, por outro lado, possam ser executadas certas técnicas que exigem um mínimo de contaminação exterior (cultura de tecidos, preparação de antigénios, etc.).

A título de exemplificação da necessidade de proteger o pessoal de laboratório, podem citar-se alguns casos:

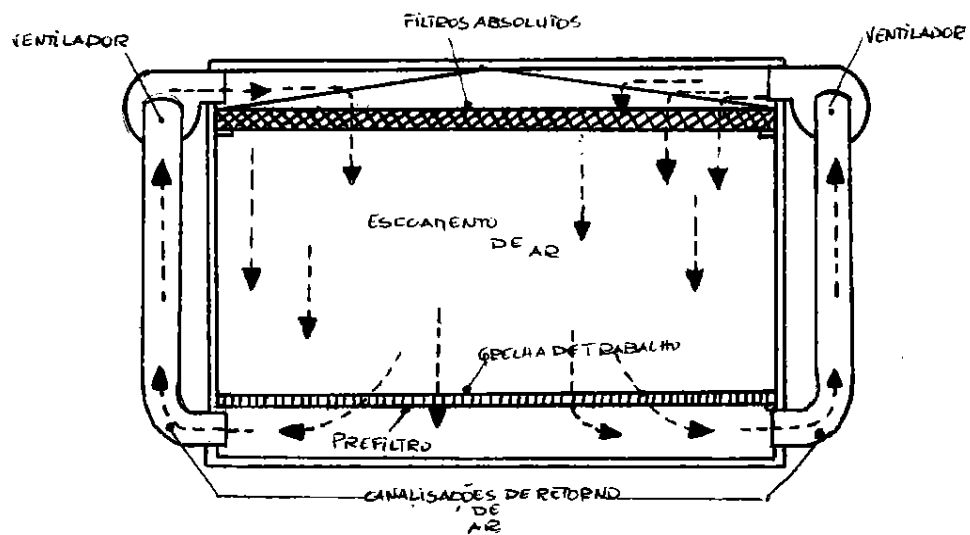
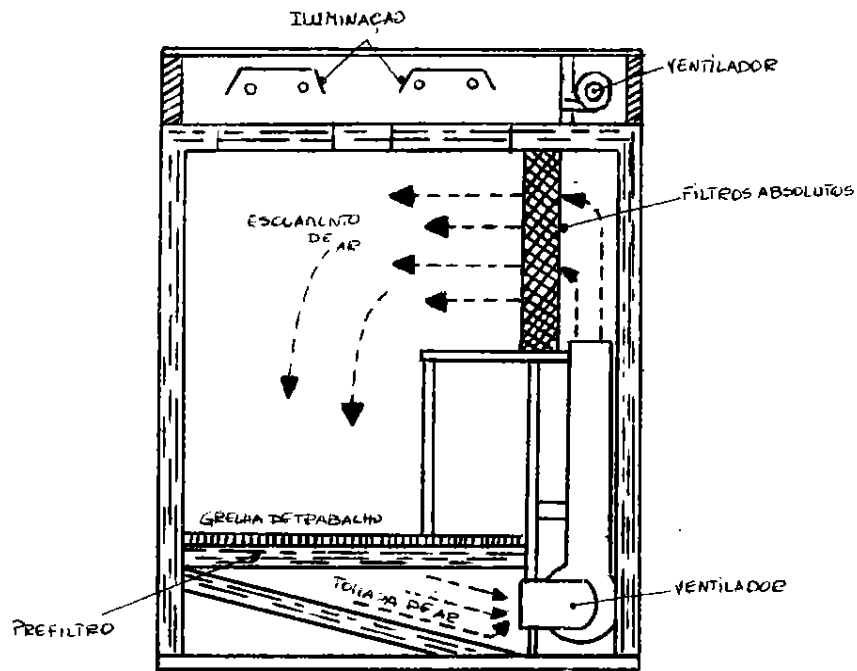
CASALS, em 1970, trabalhando com vírus da febre de Lassa, infectou-se e dificilmente sobreviveu, mas um dos seus colaboradores morreu; em 1967 desencadeou-se uma epidemia de uma doença até então desconhecida e que atingiu 31 pessoas, todas trabalhando em virologia, e das quais morreram 7. Tratava-se duma infecção laboratorial causada por um vírus, «vírus Marburg», proveniente dum lote de macacos (*cercopithecus*) infectados.

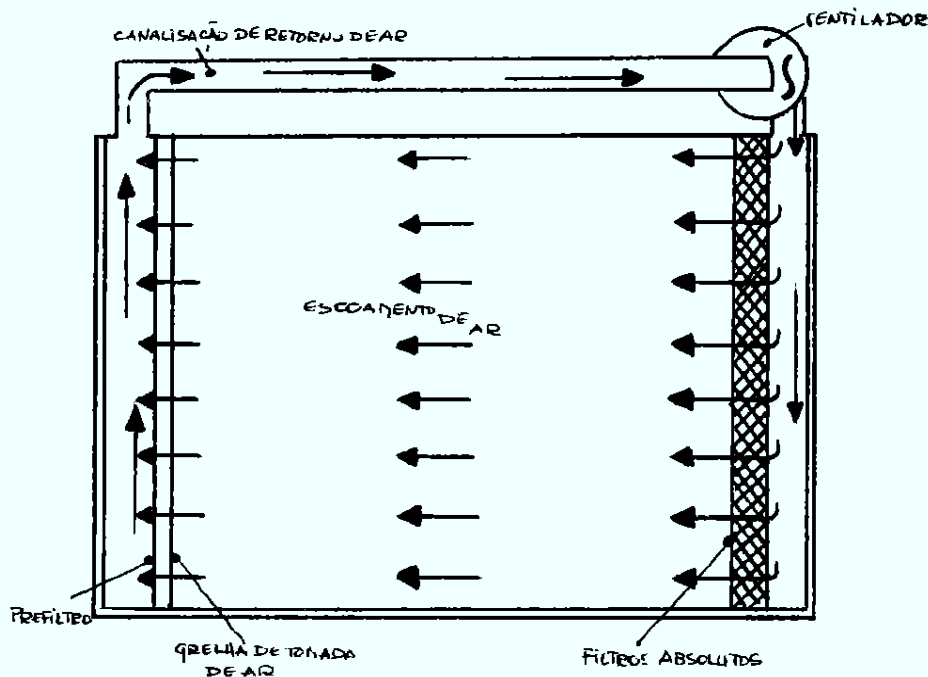
Entre 1934 e 1962, descreveram-se 18 casos de encefalites humanas mortais por vírus B, todas adquiridas por manuseamento de culturas de rim de macaco. Uma das estatísticas mais dignas de atenção é a de PIKE afirmando que nos Estados Unidos 39% das infecções laboratoriais são devidas a vírus (hepatites, encefalites, etc.).

Segundo PHILLIPS, as causas que mais vezes dão origem a infecções profissionais por vírus são:

- a) aspiração por pipetas;
- b) inoculação accidental;

- c) mordedura de animais;
- d) projecção de aerossóis (seringas, ampolas de liofilizados, etc.);
- e) acidentes nas centrífugas.





Reconhecendo assim, a necessidade de obter locais de trabalho simultaneamente desprovidos de contaminantes e oferecendo as possíveis condições de segurança ao pessoal é que se passaram a usar dois diferentes métodos de obtenção de atmosfera estéril:

- 1) Esterilização do ambiente com raios ultra-violetas;
- 2) Admissão de ar filtrado estéril.

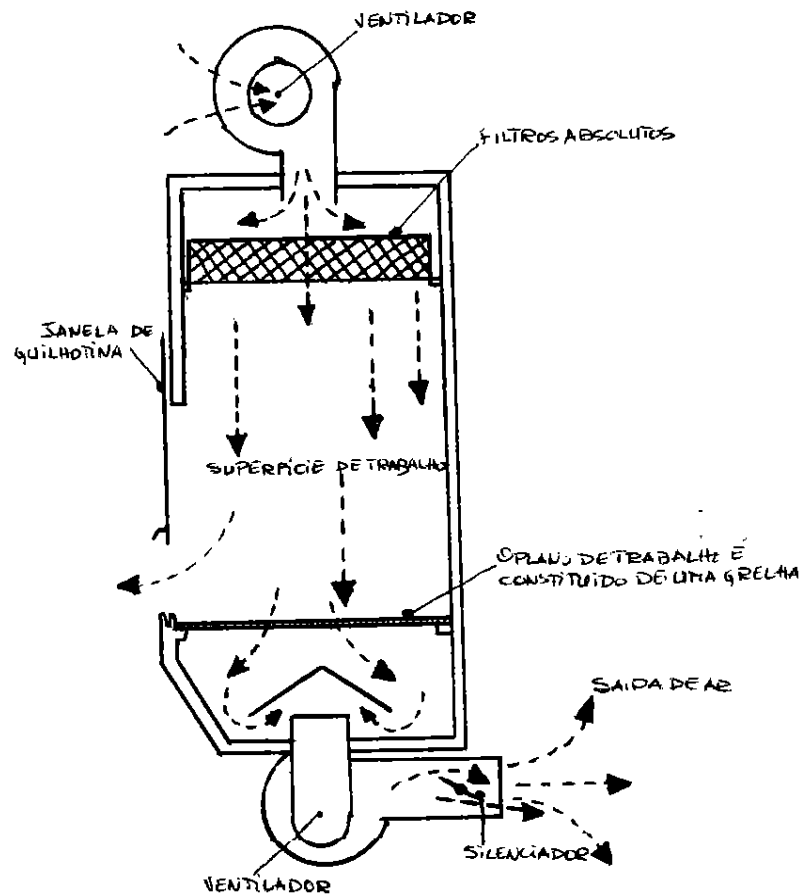
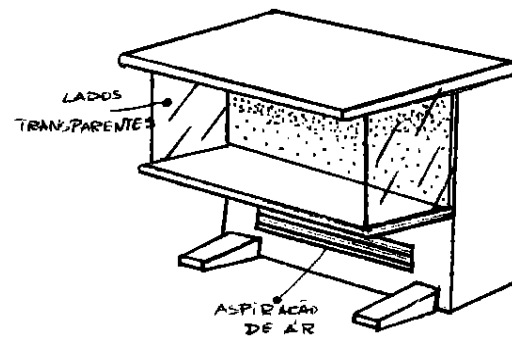
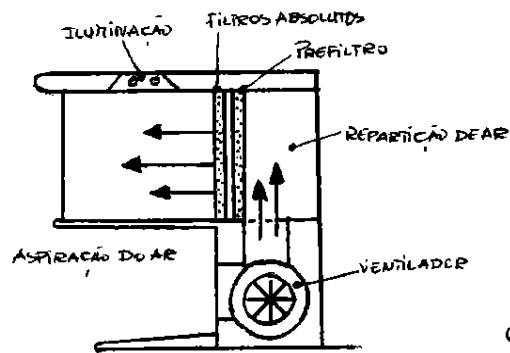
A utilização de raios ultra-violetas como germicidas (lâmpadas de vapor de mercúrio de 250 a 280 nanómetros) não resulta bem na prática, a não ser em áreas muito pequenas e de uso intermitente.

Actualmente, o processo mais aconselhado para obter atmosfera estéril é o que emprega ar filtrado; o processo clássico do «nonlaminar flow clean-room» (sala limpa com ar não laminar) e o processo mais moderno do «laminar flow clean-room» (sala limpa com ar laminar).

O primeiro consiste na entrada de ar filtrado e condicionado por difusores colocados no tecto da sala ou da câmara, saindo depois

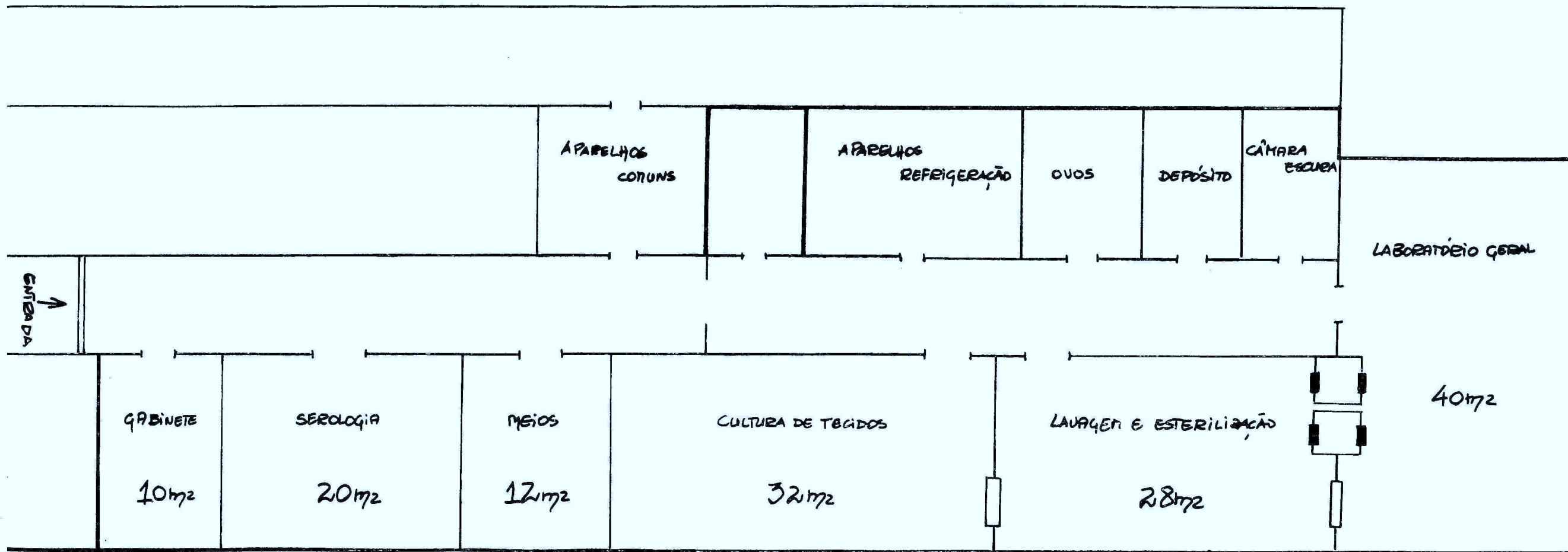
por fendas junto do pavimento, à volta da área considerada. Neste tipo de instalação, o ar escoar-se sem uniformidade, formando turbilhões.

Muito mais eficiente e recomendado é o segundo processo: a área considerada é atravessada por um fluxo de ar que se desloca a velocidade uniforme (meio metro/segundo) em trajectos paralelos, com um mínimo possível de turbilhões. O trajecto do ar pode ser vertical ou horizontal; o ar filtrado e condicionado penetra na área através duma série de filtros que ocupam a parede ou o tecto duma câmara (conforme é horizontal ou vertical) e depois é aspirado por grelhas com filtros no lugar oposto ao da sua entrada. O ar compreendido neste espaço atinge uma pureza excepcional definida pelas normas americanas como classe 100, isto é, não contém mais que 3,5 partículas superiores ou iguais a 0,5 micra por litro. Estes dispositivos dependem muito da qualidade dos filtros de ar que se usam; mas existem no mercado, actualmente, filtros americanos «Hepa» ou alemães «Delbag» que têm uma eficácia extraordinária — usando filtros de fibras artificiais com diâmetros de ordem de 0,1 obtém-se ar 100% estéril.



IMUNOLOGIA

PARASITOLOGIA



Segundo WEDUM e PHILLIPS, há determinados vírus cujo manuseamento exige as melhores condições de segurança, e que são:

| Agente causal              | I   | II       |
|----------------------------|-----|----------|
| Encefalites                |     | +++      |
| Arbovírus                  |     | +++      |
| Vírus B (cult. rim macaco) |     | +++      |
| Poliomielite               | +++ |          |
| Raiva                      | +++ |          |
| Varíola                    | +++ |          |
| Adeno e enterovírus        |     | ++       |
| Influenza                  |     | +        |
| Vacina                     |     | ++       |
| Febre amarela              |     | ++       |
| Hepatite                   |     | <u>+</u> |
| Vírus de Newcastle         |     | +        |
| Psitacose                  |     | +++      |

#### LEGENDA:

+++ = obrigatório

++ = fortemente aconselhado

+ = facultativo

+ = dependente da técnica usada

I = salas com ar laminar

II = câmaras com ar laminar

Quanto à destruição do material infeccioso, usam-se, dum modo geral, os processos clássicos da esterilização pelo calor (autoclaves, estufas de ar quente, incineradores) e menos vezes os desinfectantes químicos.

Tendo, assim, considerado como fundamental a existência de equipamentos que permitam condições de trabalho em segurança e ade-

quados aos fins em vista, quer na «zona limpa» quer na «zona suja» dum laboratório de diagnóstico virológico descreve-se a seguir a constituição de cada uma dessas zonas.

Na «zona limpa» do laboratório de virologia, as principais tarefas a executar referem-se à cultura de tecidos. Os requisitos básicos desta zona são:

- locais de trabalho estéreis;
- área de incubação de culturas;
- preparação de meios;
- lavagem e esterilização de material.

a) Os locais de trabalho estéril devem, idealmente, ser câmaras de fluxo de ar laminar estéril; mas quando não é possível obter tal equipamento devem ser instaladas câmaras de «tipo Melnick» ou semelhantes.

A sala deve ter portas de correr (as que provocam menos turbilhões de ar), paredes pintadas com tinta antifúngica, pavimento lavável, janelas de comunicação com os sectores de preparação de meios e de lavagem. No caso de se instalar ar condicionado, é preciso ter em conta os turbilhões de ar circulante. O mobiliário deve ser reduzido ao mínimo; as bancadas revestidas de material resistente e lavável, tinas de aço inox. Devem evitar-se o brilho e as cores demasiado fortes. As dimensões mínimas deste sector devem ser calculadas em função do equipamento e de cerca de 1 m<sup>2</sup> de bancada livre por cada técnico, deixando entre as bancadas, pelo menos, 2 metros para circulação e trabalho (0,5 m + 1 m + 0,5 m).

b) A área de incubação pode ser instalada com uma ou várias câmaras-estufa; pessoalmente, prefiro a solução de vários aparelhos, regulados nas temperaturas convenientes.

c) A sala de preparação de meios e reagentes não levanta problemas específicos, excepto o de comunicar com a sala de cultura de tecidos preferentemente por um óculo de parede.

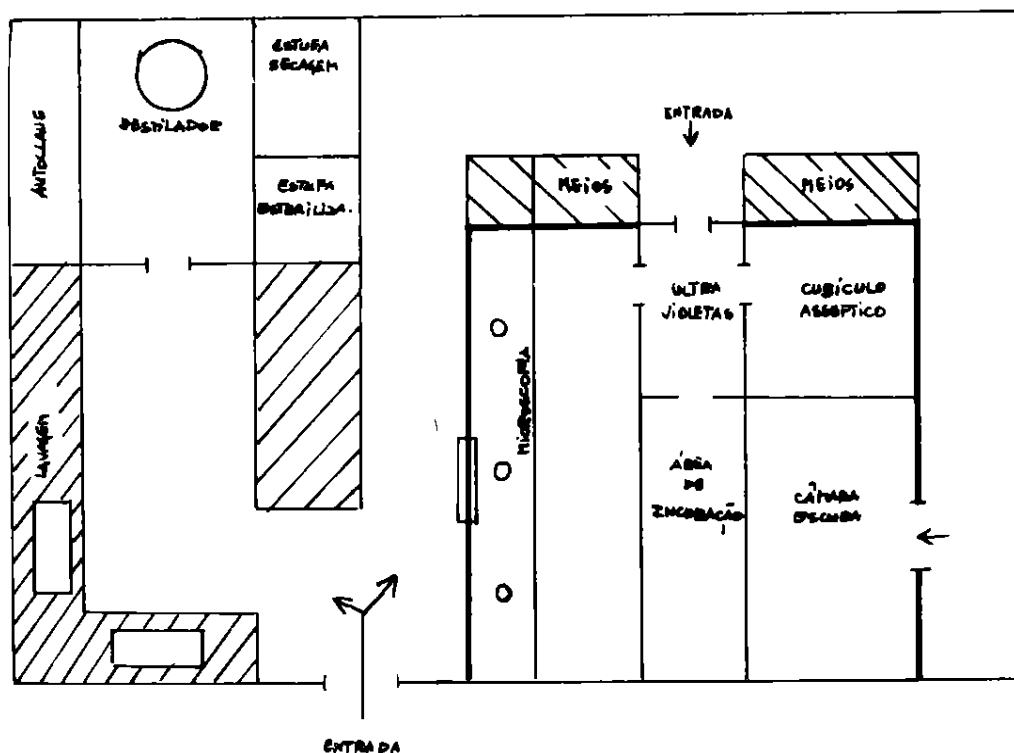
d) O sector de lavagem e esterilização deve ser espaçoso, equipado com tinas de lavagem em aço inox; em geral não se aconselham as



máquinas eléctricas de lavar material, pois que as operações de lavagem são importantes para o bom êxito da cultura de tecidos e requerem estrita obediência à técnica; o material usado

é delicado e tem de ser manejado cuidadosamente.

J. PAUL publicou um esquema aceitável de uma unidade de cultura de tecidos:



A «zona suja» é mais complexa na sua instalação do que a anterior. Pode considerar-se constituída por:

- a) área de recepção de produtos patológicos;
- b) área de diagnóstico;
- c) biotério;

a) Num laboratório de diagnóstico virológico, a recepção dos produtos faz-se numa dependência sem características especiais, mas equipada com ficheiros onde ficarão arquivados os registos correspondentes aos produtos enviados para análise.

b) A instalação da área de diagnóstico tem de prever: facilidades para o diagnóstico vírico

microscópico; por inoculação em cultura de tecidos, ovos embrionados e animais, e, ainda, por técnicas serológicas.

O diagnóstico microscópico em virologia, não é muito usado, em rotina; quer o microscópio electrónico, quer o microscópio equipado com fluorescência, requerem instalações especialmente construídas.

Para o primeiro, há ainda que prever secções anexas para a preparação dos blocos e para revelação fotográfica.

Neste sector, é também indispensável dispor de locais de trabalho estéreis, tendo sido anteriormente citadas as câmaras de fluxo laminar como sendo o equipamento que fornece melhores condições assépticas.

Quando se prevê manuseamento de certos vírus, como varíola, raiva e arbovírus, as respectivas instalações são projectadas como uni-

dades isoladas, independentes, com antecâmaras para mudança de vestuário e chuveiro, contendo, no seu interior, todo o equipamento suficiente. Não é possível a saída dos produtos infectados, porquanto há autoclaves horizontais que estabelecem a ligação entre estas unidades e o exterior, onde se esteriliza o material infectado.

Se os diagnósticos correntes se referem aos vírus respiratórios, enterovírus, de exantemas, etc., desde que existam as câmaras de fluxo de ar laminar, não há especial interesse em estabelecer unidades de trabalho separadas.

Anexo a este sector, deve ser instalada a câmara escura para microscopia por fluorescência.

A instalação do laboratório de serologia não levanta problemas especiais; actualmente, o uso de microtécnicas, é cada vez maior, podendo assim diminuir-se as dimensões deste sector. Deve ser uma sala arejada, com boa luz, prevendo-se cerca de 1 m<sup>2</sup> de bancada livre por técnico e com 2 m entre as bancadas para circulação e ocupação.

Todo o material infectado do laboratório de diagnóstico pode ser lavado e preparado numa secção comum a todo o Serviço, desde que seja previamente autoclavado. Por isso se aconselha a instalação de autoclaves horizontais numa parede comum.

c) As instalações do biotério dependem do tipo de animais que se utilizam.

Nos laboratórios podem usar-se 3 tipos de animais:

— os animais convencionais (ratinhos, coelhos, cobaíes, etc.);

— os animais desprovidos de germens patogêneos;

— os animais desprovidos de germens («germ-free animals»).

«É impossível pensar em trabalhar em virologia sem dispor dum biotério por muito reduzido que ele seja» (LÉPINE).

Para os objectivos que se pretendem atingir no INSA do Porto, apenas interessa considerar um biotério destinado a animais convencionais, e, destes, somente certas espécies. Em qualquer caso, a sua instalação, obedece a princípios

gerais que devem cumprir-se sob pena de expor o pessoal a riscos de infecção, ao mesmo tempo que se falseiam os resultados do trabalho executado.

1) Em nenhum caso, as instalações do biotério devem servir para outro fim que não seja o específico.

2) Os animais inoculados devem estar isolados dos animais sãos.

3) O biotério deve possuir aparelhagem própria, como autoclaves, forno crematório, tinas de lavagem e esterilização, etc.

4) Se possível, as instalações devem permitir alterações na área utilizada, pois algumas vezes é necessário introduzir novas espécies no biotério — daí que se devam empregar materiais económicos em divisórias interiores, embora de boa qualidade, laváveis, resistentes a desinfectantes; o pavimento deve ser impermeável, com certo declive para facilitar a lavagem, janelas protegidas contra insectos e roedores.

5) As salas devem ser de pequenas dimensões para evitar a disseminação de possíveis epidemias, com temperatura e humidade adaptadas às diferentes espécies:

Assim,

|               | Temperatura °C | Humidade % |
|---------------|----------------|------------|
| Ratinho ..... | 20 — 23,0      | 50 a 60    |
| Cobaia .....  | 18,3 — 23,0    | 45 a 55    |
| Coelho .....  | 15,6 — 23,0    | 40 a 45    |
| Hamster ..... | 20 — 23,0      | 40 a 55    |

6) Não é necessário que sejam iluminadas directamente pelo sol e devem evitar-se deslocações bruscas de ar.

7) O biotério deve ter compartimentos separados para inoculação e autópsia dos animais, depósito de galolas, alimentos e material, vestiário para tratadores e técnicos.

8) Não é necessário que as instalações do biotério sejam dentro do edifício dos laboratórios, mas serão de acesso fácil para os técnicos.

Um Serviço de Virologia possui, também, além dos laboratórios («zona limpa» e «zona suja»), um conjunto de instalações que se podem designar como locais técnicos complementares.

São: gabinetes, biblioteca, sala de reuniões, arquivo, secretariado, vestiários e sanitários e ainda área para colheita de produtos patológicos, com sanitários e sala de espera anexos.

As futuras instalações do Serviço de Virologia do INSA no Porto foi atribuída uma área aproximada de 150 m<sup>2</sup>, que não inclui os locais técnicos complementares, tais como: área de colheita e recepção de produtos, vestiários, sanitários, biblioteca, sala de reuniões, refeitório, secretaria; no biotério, o sector que pertencerá ao Serviço de Virologia servirá, apenas, para animais inoculados, pois o biotério geral será o fornecedor de animais sãos.

A distribuição daquela área far-se-á deste modo:

|                                         |                          |
|-----------------------------------------|--------------------------|
| 1 gabinete .....                        | 10 m <sup>2</sup>        |
| 1 sala de serologia .....               | 20 m <sup>2</sup>        |
| 1 sala de preparação de meios .....     | 12 m <sup>2</sup>        |
| 1 laboratório de cultura de tecidos ... | 32 m <sup>2</sup>        |
| 1 laboratório geral .....               | 40 m <sup>2</sup>        |
| 1 sala lavagem e esterilização .....    | 28 m <sup>2</sup>        |
| Sala de estufas, depósitos .....        | 18 m <sup>2</sup>        |
| <b>Total .....</b>                      | <b>160 m<sup>2</sup></b> |

A esta área programada, sugiro que se acrescente mais alguns metros quadrados; a disposição dos respectivos compartimentos é a que se indica no esquema anexo, e a sua justificação é a seguinte:

1 — Gabinete: esta divisão é colocada imediatamente na entrada do Serviço para facilitar o acesso das pessoas vindas do exterior; será utilizada como sala de estudo, reuniões do Serviço e recepção, arquivo e biblioteca privativa.

2 — Sala de Serologia: este compartimento permite a instalação de 3 postos de trabalho com o respectivo equipamento. Não requer condições de instalação especiais.

3 — Sala de preparação de meios: a área desta sala foi programada para um posto de trabalho e para conter o equipamento adequado, tal como balanças, destiladores, aparelhos de filtração, estufa de incubação, banhos, autoclave.

4 — Sala de cultura de tecidos: o espaço que corresponde a esta secção é de aproximadamente 30 m<sup>2</sup>, o que permitirá a instalação de, pelo menos, 2 câmaras de fluxo de ar laminar. A comunicação pelos óculos de parede facilita a passagem de material ou de meios entre esta área e as correspondentes salas de preparação de material e meios. Não se indica agora nenhuma disposição interior pois ela dependerá da construção geral do edifício, que de momento desconheço.

5 — Sala de lavagem e esterilização: parece-me mais conveniente que esta sala se situe entre a anterior e a área do laboratório geral; tem, deste modo, comunicação directa com a «área suja» do laboratório, através de autoclave horizontal colocado na parede, evitando-se assim circulação de material infectado pelos corredores. A área permite 3 postos de trabalho.

6 — Sala de diagnóstico geral: admitindo a instalação de câmaras de fluxo de ar laminar não se considera imprescindível dividir esta sala em secções destinadas aos diversos diagnósticos; no entanto, prever-se-á a possibilidade de levantar tabiques interiores conforme as necessidades de momento.

7 — Do outro lado do corredor colocar-se-ão a câmara escura, o depósito privativo para material, uma pequena área destinada a um «isolamento» em caso de necessidade, uma sala para reunir os aparelhos mais ruidosos (congeladores, centrífuga refrigerada, etc.) e ainda uma outra câmara onde se poderá trabalhar com material radioactivo. Este corredor fecha com porta, que isola a área do Serviço de Virologia mais perigosa, ao passo que a sala de «aparelhos comuns» permite a comunicação interna entre o Serviço de Virologia e o Serviço de Parasitologia e Imunologia.

Um Serviço de Virologia possui, também, além dos laboratórios («zona limpa» e «zona suja»), um conjunto de instalações que se podem designar como locais técnicos complementares.

São: gabinetes, biblioteca, sala de reuniões, arquivo, secretariado, vestiários e sanitários e ainda área para colheita de produtos patológicos, com sanitários e sala de espera anexos.

As futuras instalações do Serviço de Virologia do INSA no Porto foi atribuída uma área aproximada de 150 m<sup>2</sup>, que não inclui os locais técnicos complementares, tais como: área de colheita e recepção de produtos, vestiários, sanitários, biblioteca, sala de reuniões, refeitório, secretaria; no biotério, o sector que pertencerá ao Serviço de Virologia servirá, apenas, para animais inoculados, pois o biotério geral será o fornecedor de animais sãos.

A distribuição daquela área far-se-á deste modo:

|                                         |                          |
|-----------------------------------------|--------------------------|
| 1 gabinete .....                        | 10 m <sup>2</sup>        |
| 1 sala de serologia .....               | 20 m <sup>2</sup>        |
| 1 sala de preparação de meios .....     | 12 m <sup>2</sup>        |
| 1 laboratório de cultura de tecidos ... | 32 m <sup>2</sup>        |
| 1 laboratório geral .....               | 40 m <sup>2</sup>        |
| 1 sala lavagem e esterilização .....    | 28 m <sup>2</sup>        |
| Sala de estufas, depósitos .....        | 18 m <sup>2</sup>        |
| <b>Total .....</b>                      | <b>160 m<sup>2</sup></b> |

A esta área programada, sugiro que se acrescente mais alguns metros quadrados; a disposição dos respectivos compartimentos é a que se indica no esquema anexo, e a sua justificação é a seguinte:

1 — Gabinete: esta divisão é colocada imediatamente na entrada do Serviço para facilitar o acesso das pessoas vindas do exterior; será utilizada como sala de estudo, reuniões do Serviço e recepção, arquivo e biblioteca privativa.

2 — Sala de Serologia: este compartimento permite a instalação de 3 postos de trabalho com o respectivo equipamento. Não requer condições de instalação especiais.

3 — Sala de preparação de meios: a área desta sala foi programada para um posto de trabalho e para conter o equipamento adequado, tal como balanças, destiladores, aparelhos de filtração, estufa de incubação, banhos, autoclave.

4 — Sala de cultura de tecidos: o espaço que corresponde a esta secção é de aproximadamente 30 m<sup>2</sup>, o que permitirá a instalação de, pelo menos, 2 câmaras de fluxo de ar laminar. A comunicação pelos óculos de parede facilita a passagem de material ou de meios entre esta área e as correspondentes salas de preparação de material e meios. Não se indica agora nenhuma disposição interior pois ela dependerá da construção geral do edifício, que de momento desconheço.

5 — Sala de lavagem e esterilização: parece-me mais conveniente que esta sala se situe entre a anterior e a área do laboratório geral; tem, deste modo, comunicação directa com a «área suja» do laboratório, através de autoclave horizontal colocado na parede, evitando-se assim circulação de material infectado pelos corredores. A área permite 3 postos de trabalho.

6 — Sala de diagnóstico geral: admitindo a instalação de câmaras de fluxo de ar laminar não se considera imprescindível dividir esta sala em secções destinadas aos diversos diagnósticos; no entanto, prever-se-á a possibilidade de levantar tabiques interiores conforme as necessidades de momento.

7 — Do outro lado do corredor colocar-se-ão a câmara escura, o depósito privativo para material, uma pequena área destinada a um «isolamento» em caso de necessidade, uma sala para reunir os aparelhos mais ruidosos (congeladores, centrífuga refrigerada, etc.) e ainda uma outra câmara onde se poderá trabalhar com material radioactivo. Este corredor fecha com porta, que isola a área do Serviço de Virologia mais perigosa, ao passo que a sala de «aparelhos comuns» permite a comunicação interna entre o Serviço de Virologia e o Serviço de Parasitologia e Imunologia.

8 — O primeiro corredor pode ser equipado com armários para guardar arquivo do Serviço.

Na planificação do INSA no Porto, refere-se: «O biotério para criação de animais seria construído num corpo anexo ao edifício principal com o qual deverá comunicar directamente por uma galeria fechada, de preferência ao nível da cave.»

No esquema anexo, mostra-se uma disposição interior do biotério, que julgo ter interesse, embora ocupe uma área relativamente grande (cerca de 50 m<sup>2</sup>). Considere-se que este sector está incluído no biotério geral com o qual comunica por (a), uma janela (b), e entrada destinada a pessoas. Estas atravessam forçosamente um vestiário para mudar de roupa (com chuveiro) e daí se poderão dirigir ao sector «limpo» em direcção aos animais de serologia ou ao sector «sujo» o dos animais inoculados. Após autópsia, os animais a destruir atravessam a janela (c) em conexão com a sala do incinerador comum.

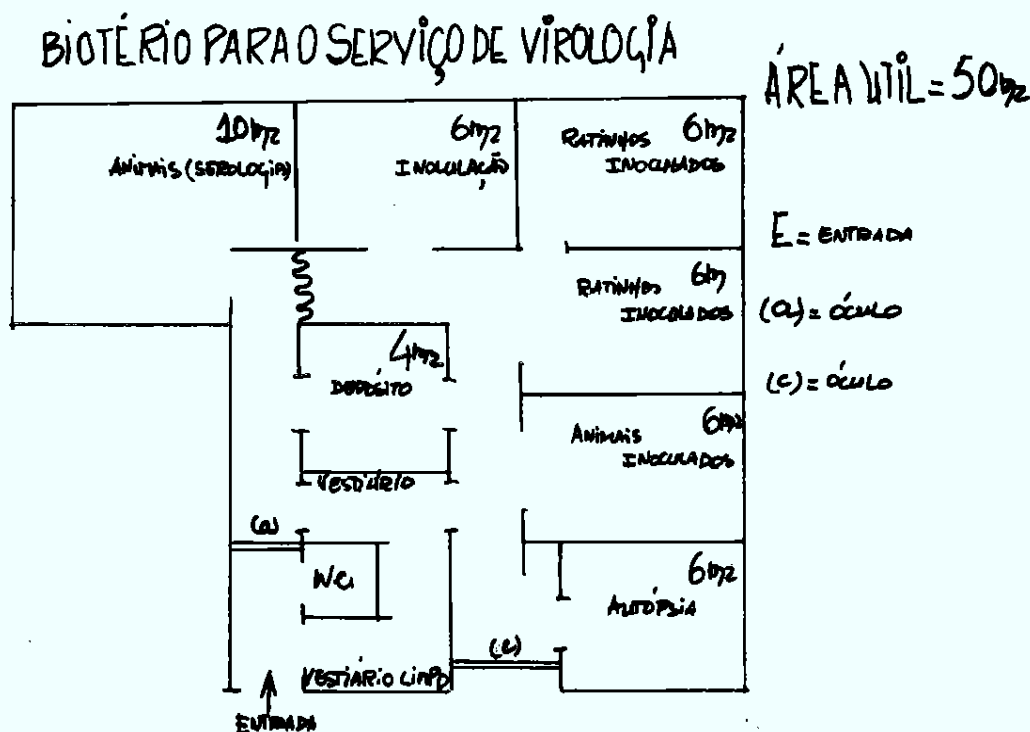
## b. Equipamento

O tipo de técnicas que serão usadas no laboratório tanto como o volume de trabalho a executar condicionam a qualidade e quantidade de equipamento necessário.

As técnicas geralmente usadas no diagnóstico virológico distribuem-se por três categorias, citadas por ordem crescente de complexidade e custo:

- a) serologia in vitro;
- b) serologia in vivo (reações de neutralização em animais e cultura de tecidos);
- c) isolamento e classificação de vírus.

Se vai usar-se, apenas, serologia in vitro constituída por técnicas de fixação de complemento e de hemaglutinação, o laboratório pode equipar-se como outro qualquer laboratório serológico; mas as microtécnicas em serologia de vírus são cada vez mais aplicadas, devido à economia de reagentes, material e espaço



—daí que os sistemas «Microtiter» sejam, actualmente, indispensáveis neste tipo de laboratórios.

A serologia em cultura de tecidos necessita de maior variedade de aparelhos e de vidraria, assim como de instalações apropriadas. A este nível de trabalho, as «câmaras assépticas», as diversas estufas, frigoríficos, banhos, centrífugas, sistemas Cornwall, congelador a azoto líquido, destiladores de água, vidraria especial, etc., são imprescindíveis.

Para utilizar animais, quer na serologia quer no isolamento e classificação de vírus, é óbvio que se acrescenta ao equipamento, o do biotério—gaiolas, material de inoculação e autópsia, incinerador, etc.

Sem a pretensão de estabelecer uma lista exhaustiva de todo o equipamento necessário ao laboratório de diagnóstico virológico, refere-se o de maior importância.

#### 1. *Aparelhos para esterilização pelo calor*

São imprescindíveis autoclaves, preferentemente dois ou três pequenos aparelhos que servirão para material infectado e para esterilização de meios, material de borracha, filtros, etc. É muito útil que a autoclave que vai servir para material infectado seja colocada horizontalmente de tal modo que uma abertura fique no laboratório de diagnóstico e a abertura oposta na sala de lavagem de material, permitindo assim uma circulação mínima de produtos infectados.

Para esterilizar seringas, instrumentos de dissecação, é aconselhada uma panela de pressão, colocada na bancada do laboratório, pois sendo este material delicado, evita acidentes quando misturado com o restante.

No sector de lavagem de material e sua preparação, devem existir estufas de ar quente para secagem e esterilização de material.

É de toda a conveniência que os aparelhos de esterilização destinados ao biotério sirvam, exclusivamente, para esse fim; no biotério é também, indispensável, um incinerador, que pode ser comum a outros serviços laboratoriais.

#### 2. *Agitadores*

O laboratório deve possuir um agitador tipo Velba para líquidos, uma plataforma para agi-

tação de reacções serológicas e, ainda, agitadores magnéticos que se utilizam na tripsinização de tecidos.

#### 3. *Balanças*

As balanças utilizam-se quer para pesar reagentes, quer para tarar tubos para centrifugação.

#### 4. *Banhos*

No sector da serologia, os banhos devem ser regulados a duas temperaturas óptimas, 56° C para inactivação dos soros e a 37° C para a execução das reacções.

No sector da cultura de tecidos, é indispensável um banho regulado a 37° C para facilitar a tripsinização de tecidos.

No sector de diagnóstico, além do banho de 37° C para as neutralizações de vírus, terão de prever-se banhos com agitação, de extrema sensibilidade  $\pm 0,01^\circ \text{C}$ , sempre que se desejar a caracterização serológica de estirpes víricas; em geral, são regulados a 37° C e 39,2° ou 40° C, e devem ter capacidade grande, pois as culturas mergulham neles completamente.

#### 5. *Bomba de vácuo e pressão*

#### 6. *Câmaras assépticas*

Já foram citadas anteriormente as câmaras que se consideram ideais para trabalho de cultura de tecidos e manuseamento de vírus—as câmaras de fluxo de ar laminar. Se não for possível obter tal equipamento, é indispensável que se disponha das clássicas câmaras «tipo Melnick», ou outras.

#### 7. *Centrífugas*

Devem existir centrífugas horizontais na quantidade de um aparelho por cada sector de trabalho. É necessária, também, uma centrífuga refrigerada sempre que se trabalhe em isolamento de vírus (3500 a 6000 r.p.m.). Não é indispensável possuir uma ultracentrífuga, salvo caso das técnicas especializadas para preparação de antigénios, separação de globulinas, etc., a qual se pode partilhar com outros serviços.

## 8. Destiladores de água

A qualidade da água que se usa nos laboratórios de virologia é uma condição essencial para o êxito das culturas de tecidos. Assim, é necessário bidestillar água que será utilizada na preparação dos meios de cultura; destilar e desionizar a água para lavagem do material.

## 9. Estufas

Penso que é preferível adquirir várias estufas reguladas para as diversas temperaturas em vez duma câmara-estufa.

As temperaturas óptimas que se usam em virologia são:

- a) 33° C
- b) 35° C
- c) 37°/38° C

É preciso escolher aparelhos de máxima sensibilidade, providos de termómetros interiores e exteriores, com prateleiras em redor. Em certas circunstâncias, é desejável possuir uma estufa com atmosfera de CO<sub>2</sub> e grau de humidade reguláveis.

## 10. Filtros

Determinados meios de cultura alteram-se quando autoclavados; é necessário, portanto, possuir sistemas de filtração por membranas (Seitz ou Millipore) destinados à sua esterilização. Devem existir, também, sistemas de filtração por membranas de pequeno diâmetro, adequados à remoção de partículas grosseiras ou de contaminantes nos soros sanguíneos destinados à serologia. Somente em trabalhos especiais são necessários sistemas de filtração para medição de partículas víricas.

## 11. Frigoríficos

Considero da maior utilidade que cada sector possua os seus frigoríficos regulados nas temperaturas adequadas; a câmara frigorífica é um equipamento muito caro, cuja vantagem é apenas de permitir trabalhar dentro da sua área, o que, em princípio, não é usado na virologia de rotina.

As temperaturas utilizadas são:

- a) 4° C
- b) -20° C (soros, melos, etc.)
- c) -50 a -70° C (estirpes víricas, etc.)
- d) -180° C (linhas celulares, vírus, etc.)

Os congeladores a azoto líquido (-180° C) são o equipamento ideal e indispensável na conservação de células.

## 12. Instrumentos cirúrgicos para dissecação e autópsia (tesouras, pinças, bisturis, sondas, etc.)

## 13. Maçarico para fechar ampolas de vidro

## 14. Microscópios

Calcula-se a existência de 1 aparelho por cada virologista e técnico e, obrigatoriamente, um dos aparelhos deve permitir a observação de frascos com culturas celulares, isto é, possuir platina móvel e longa distância focal. A tendência actual é de incluir na rotina técnicas de diagnóstico por fluorescência, daí que um dos aparelhos deva possuir os acessórios correspondentes. No momento actual, o microscópio electrónico não é usado em rotina, excepto para o diagnóstico urgente de raiva, varíola, vacína e herpes.

Partindo do princípio que o laboratório de virologia está integrado num conjunto de laboratórios, deve ter acesso ao equipamento microfotográfico comum.

## 15. Sistemas «Cornwall» e outros destinados à medição semiautomática de líquidos

## 16. Sistema «Microtiter» completo

## 17. Suportes e tambores rolantes

Em todos os sectores do laboratório têm de existir diversos tipos de suportes para tubos, de diâmetros variados. Há no mercado suportes em material plástico ou plastificado que suportam a esterilização, são fáceis de lavar, resistentes, e permitem grande número de combinações.

Para a cultura de tecidos, há, entretanto, duas condições a observar:

- para culturas estacionárias os suportes devem ter uma inclinação horizontal de cerca de 5 graus;
- para obter culturas mais rápidas e favorecer a adsorção de vírus, é necessário possuir suportes de tubos (ou de frascos) ligados a um motor de rotação, a que se chama «tambores rolantes»;
- nos recipientes de azoto líquido usam-se redes especiais para conter as ampolas.

18. *Liofilizador, criostato, micrótomo, desintegrador de tecidos ultrassónico (para preparação de cortes histológicos)*

Dado o custo elevado destes aparelhos, é preferível que o laboratório de virologia se associe, para a sua utilização, com outros serviços em que eles são indispensáveis (histologia, anatomia patológica).

19. *Vidraría e diversos*

Toda a vidraría necessária ao laboratório de virologia é semelhante em espécies à de outros laboratórios, tal como: balões, matrizes, placas de Petri, pipetas, seringas, tubos de centrifuga de vários diâmetros, tubos de ensaio, etc., mas além destes, são específicos os frascos de cultura de tecidos, os frascos de tripsinização.

Actualmente, tenta-se adaptar microtécnicas à cultura de tecidos, usando para esse efeito placas plásticas ou de «perspex». A economia de reagentes e de espaço nas estufas são vantagens consideráveis, mas a aquisição desse equipamento é, no nosso meio, ainda dispendiosa.

As rolhas para tubos e frascos de cultura de tecidos são, também, material considerado da maior importância; certas qualidades de borracha são citotóxicas, e por isso é aconselhável o uso de rolhas vinílicas, embora o seu preço seja elevado.

20. *Equipamento para o biotério*

As gaiolas devem ser adaptadas ao tipo de animais; existem, actualmente, gaiolas para ra-

tinhas de material plastificado, autoclaváveis, leves e resistentes, providas de bebedouro e comedouro.

As gaiolas de cobaias ou de coelhos é preferível que sejam metálicas, de aço inoxidável, autoclavável, de fundo móvel para facilitar a lavagem, e com comedouros e bebedouros anexos.

O biotério, como já se referiu anteriormente, tem de possuir autoclave e incinerador próprios, assim como tinas de lavagem e desinfecção química de gaiolas, além de mesa de autópsia e material cirúrgico adequado. Em casos excepcionais, o biotério é equipado com uma pequena unidade cirúrgica, mas não é indispensável para o trabalho usual.

21. *Material para manuseamento de ovos embrionados*

Além de ser necessária uma câmara para trabalhar com ovos embrionados, devem adquirir-se incubadoras a 35° e a 37° C, respectivamente, para ovos não inoculados e inoculados; broca eléctrica, material cirúrgico, suportes, etc.

22. *Material de envio e transporte de produtos patológicos (por exemplo: recipientes estanques, garrafas termos, caixas metálicas ou de madeira para acondicionamento dos produtos, etc.)*

23. *Material de «secretaria»*

É indispensável que o laboratório possua máquina de escrever, ficheiros e outros instrumentos de escritório para uso interno, assim como tenha possibilidade de usar o fotocopador comum a todos os laboratórios.

Não considero «equipado» um laboratório de diagnóstico virológico, sem possuir colecções de:

- linhas celulares;
- estirpes víricas padrão;
- antigénios-padrão, de título conhecido;
- soros-padrão, de título conhecido;
- reagentes específicos.



Os congeladores que funcionam a azoto líquido, ( $-170/-180^{\circ}\text{C}$ ) resolveram um dos problemas mais difíceis dos laboratórios de diagnóstico — a obtenção de culturas celulares numa gama suficientemente variada para permitirem isolamento e classificação das numerosas estirpes víricas, com o mínimo de trabalho e dispêndio.

Possuir apenas um ou dois tipos de cultura de tecidos, em virologia, equivale a pedir ao bacteriologista que use, apenas, gelose-sangue e caldo simples — muito se pode obter, mas não tudo o que é possível.

As culturas primárias de origem humana (amnion, embriões) são das mais úteis para isolamento e classificação de vírus, no nosso meio, no entanto, as segundas são difíceis de conseguir; a tendência actual é de evitar as culturas primárias de origem simica, pelos perigos que acarretam no seu manuseamento. Mas, a conservação de linhas celulares a baixa temperatura dá ao laboratório a possibilidade de usar uma extensa variedade de culturas: é indispensável possuir, pelo menos, HeLa, KB ou Hep2; uma linha diplóide, sendo a mais útil a WI-38; e, ainda, outras linhas escolhidas segundo a planificação de trabalhos de laboratório, tais como, uma de origem simica (LLC-MK2, Vero) outra de origem humana (além das citadas a FL), a RK-13, a BHK-21, etc.

A O.M.S. publica, periodicamente, a lista dos vírus-padrão estabelecida pelos seus centros de referência e que através deles se obtêm. São-nos imprescindíveis, não só para treino das leituras microscópicas dos inoculados, como para as provas de neutralização e preparação de antigénios.

Do mesmo modo, os antigénios e soros-padrão de título conhecido são indispensáveis para aferição dos nossos resultados.

Existem, actualmente, no mercado uma grande variedade de meios de cultura e reagentes prontos a usar; são um tanto dispendiosos, mas facilitam o trabalho e evitam maior quadro de pessoal. Praticamente, com três ou quatro meios de cultura é possível executar a rotina actual.

Não é tradicional incluir no equipamento livros e revistas — mas o laboratório não funcionará convenientemente sem que se tenha previsto a aquisição de biblioteca correspondente. Os livros de texto envelhecem, de modo que basta um núcleo básico que se actualizará periodicamente; as revistas técnicas, essas,

constituem, pela sua variedade, um dos factores fundamentais que contribuem para o nível do trabalho a executar.

### c. Pessoal

Parece ser do consenso geral que a responsabilidade dum laboratório de virologia (Saúde Pública e Hospitalar) deva ser entregue, de preferência, a um médico; o restante pessoal pode ter ou não formação universitária.

A constituição da equipa de trabalho depende do tipo e volume de tarefas a executar; mas, por muito pequeno que seja esse volume ou por pouco variadas que sejam as técnicas, é indispensável uma equipa básica que assegure a continuidade do trabalho, em qualquer circunstância.

Um grupo de chefes de serviço de laboratórios de virologia publicou um documento de trabalho em que refere as categorias de pessoal indispensáveis num laboratório de diagnóstico virológico.

São as seguintes:

— Virologista;

— Técnico;

— Preparador;

— Ajudante;

— Secretária.

Definem-se deste modo:

Virologista — o responsável pelo laboratório deverá ser médico com formação técnica e prática em virologia e bacteriologia, habitualmente 5 anos de treino post-graduado. É útil que seja coadjuvado, o mais cedo possível, por um assistente, pelo menos, que pode não ser médico mas terá formação universitária.

Técnico — a sua formação pode não ser universitária, mas será treinado especialmente para se encarregar da execução das técnicas de rotina e colaborar nos trabalhos mais delicados.

Preparador — esta categoria compreende trabalhadores não qualificados, destinados ao trabalho laboratorial mais sim-

ples, como preparação de meios, reagentes, esterilização, manuseamento de animais, etc.

Ajudante — é o tipo de pessoal indiferenciado, encarregado da lavagem de material, cuidado do biotério, etc.

Secretária — é a pessoa que tem a seu cargo a correspondência arquivo, ficheiro bibliográfico, boletins, etc.

Se o laboratório de virologia for um serviço autónomo, é preciso prever, também, pessoal administrativo e de limpeza das instalações.

Em relação com o tipo e volume de trabalho, sem ter em conta a preparação dos antígenos e anti-soros assim como das culturas celulares, o mesmo grupo aconselha a constituição do quadro básico de pessoal deste modo:

|                                              |                      |
|----------------------------------------------|----------------------|
| Virologista                                  | 1 (posteriormente 2) |
| Técnicos                                     | 2 por virologista    |
| Preparadores                                 | 2 por virologista    |
| Ajudantes                                    | 2 por virologista    |
| Secretária                                   | 1                    |
| N.º de produtos para isolamento de vírus/ano | 1000                 |
| N.º determinações por produto                | 1                    |
| N.º produtos para serologia/ano              | 500/1000             |

Quando se atinge número de amostras superior aos que se indicam, o quadro será aumentado; por exemplo, para 3000 produtos para isolamento de vírus e 2000 soros para serologia, aumentará para o dobro o número de técnicos, preparadores e ajudantes. Repete-se que não se considera senão *uma* determinação por isolamento, o que na prática raras vezes acontece; quando se empregam várias culturas celulares, ovos embrionados e/ou animais, o número de produtos que a equipa básica pode manusear diminui, proporcionalmente.

Ainda que já se tenham referido as habilitações mínimas do pessoal, não se pode deixar de abordar um problema que considero da maior importância: a actualização de conhecimentos. Esta actualização tem de ser feita dia a dia pela consulta bibliográfica, e periodicamente pelo contacto com centros mais evoluídos, nacionais ou estrangeiros, assistência a reuniões ou cursos de aperfeiçoamento ministrados por especialistas, etc., e, como é óbvio, pela experimentação pessoal das novas técnicas de que se tem notícia.

#### 4. CONCLUSÕES

Para as instalações, equipamento e pessoal existentes, o actual laboratório de virologia do

INSA no Porto funciona mais ou menos satisfatoriamente em relação com os pedidos de análises virológicas de rotina que recebe; mas, cada vez mais se vêm acentuando os seguintes pontos:

- não se satisfazem certas requisições de diagnóstico (por exemplo, encefalites por vírus, hepatite, doença citomegálica);
- não se tem progredido na introdução de novas técnicas de diagnóstico (fluorescência, microtécnicas);
- não tem sido possível cumprir um dos objectivos fundamentais dum laboratório de Saúde Pública — prospecção da população e do meio ambiente em vista do conhecimento da incidência das viroses mais importantes, e do estado imunitário dessa população.

Por isso se impõe uma reestruturação do Laboratório de Virologia aproveitando das condições ora existentes: as instalações, o equipamento e a equipa de pessoal. Essa reestruturação pode desenvolver-se em duas fases: uma, imediata, outra mais tardia.

1) Imediatamente, propõe-se:

— alargamento das instalações, de modo a permitirem montar mais postos de trabalho e colocar aparelhagem necessária;

— aquisição de material, aparelhos e reagentes (como em relatórios anuais se tem referido) e que são, sobretudo, estufas de incubação, centrífuga, microscópio, tambor rolante, banhos, balança, material plástico para cultura de tecidos, antígenos víricos, soros-padrão e estirpes celulares;

— recrutamento de pessoal, de forma que não só se possam executar novos planos de trabalho, como melhorar as técnicas de rotina estabelecidas e impedir a suspensão do funcionamento do Laboratório em certas circunstâncias (férias, bolsas de estudo).

Assim, considero como indispensável, neste momento, a seguinte equipa de trabalho:

1 virologista;

1 técnico licenciado;

3 preparadoras;

1 ajudante de laboratório;

1 auxiliar de laboratório.

Concedidas as condições de trabalho propostas, poder-se-ão, então, estabelecer os seguintes planos:

a) introdução de microtécnicas em cultura de tecidos, para isolamento e classificação de vírus;

b) diagnóstico de encefalites por herpes-vírus, sarampo, parotidite por imunofluorescência (células do líquido céfalo-raquidiano);

c) diagnóstico serológico das viroses mais comuns;

d) diagnóstico por isolamento e classificação dos vírus RS, herpes, citomegálico e varicela-zoster;

e) prospecção de enterovírus na população normal adulta e infantil;

f) prosseguimento do estudo epidemiológico da rubéola;

g) estudo intratípico de estirpes de poliovírus recentemente isoladas em comparação com outras obtidas antes e durante a campanha de vacinação oral (conservadas a  $-70^{\circ}$  desde há 4 anos);

h) estudo virológico de águas residuais (em coordenação com os Serviços de Lisboa e com os outros laboratórios da Delegação);

i) inquérito epidemiológico para o vírus citomegálico na população do distrito de Viseu (em colaboração com o Centro de Saúde de Viseu e coordenado com estudos nesse sector planeados pelos Serviços de Lisboa).

Mais temas de trabalho se poderiam apresentar, mas é necessário atender que da equipa de trabalho pedida, apenas 3 elementos têm treino de virologia — daí que tenhamos de contar com alguns anos para a execução destes planos.

2) Dentro de alguns anos instalar-se-á o Serviço de Virologia num edifício; a área que lhe for atribuída condicionará o número dos elementos da equipa de trabalho.

A actual servirá como núcleo básico a partir da qual se diferenciarão as respectivas secções de trabalho — cultura de tecidos, diagnóstico, serologia.

Considero prematuro estabelecer, neste momento, um programa de trabalho, mas é óbvio que ele tomará como base os objectivos que se indicaram na primeira parte deste relatório.

## BIBLIOGRAFIA

- AYRES, Laura e FERREIRA, M. F. — Seroepidemiologia da rubéola. *Arquivos do Instituto Nacional de Saúde*, 1: 177, 1972.
- BERG, G. (ed.) — Transmission of viruses by the water route. Interscience Publishers, Londres, 1968.
- CLIVERS, Dean — Viral infections in «Food-borne Infections and Intoxications». Academic Press, New-York, 1969.
- DEBRÉ, R. e CELLERS, J. H. — Clinique virologique. Flammarion, Paris, 1970.
- GAY, W. J. — Methods in animal experimentation. Academic Press, New-York, 1965.
- GUYOT JEAMIN, Ch. — Les risques infectieux dans les laboratoires de bacteriologie. CNRS, Paris, 1971.
- JOHNSON, A. P. — Organisation and management of hospital laboratories. Butterwords, Londres, 1969.
- KLEIN, J. O. — Emerging problems of hospital-acquired viral infection in «Proceedings of the International Conf. on Nosocomial Infections». 1970.
- LEMETT, E. H. e SCHMIDT, N. (ed.) — Diagnostic procedures for viral and rickettsial infections. 1969.
- Les examens de santé de masse. Cahiers de Santé Publique, n.º 45. O.M.S., Genebra, 1972.
- Conférence Européenne des Chefs de Services Virologiques de Laboratoires de Santé Publique. O.M.S., Genebra, 1965.
- Rapport sur la lutte contre les maladies à virus. O.M.S., Genebra, 1966.
- Rapport sur les virus des voies respiratoires. O.M.S., Genebra, 1969.
- Rapport sur les enquêtes serologiques à fins multiples et banques de référence pour les serums. O.M.S., Genebra, 1970.
- Rapport sur la standardisation biologique. O. M. S., Genebra, 1972.
- Symposium sur la formation du médecin de la santé publique en fonction de sa tâche dans la collectivité, Lisbonne. O. M. S., Genebra, 1966.
- PAUL, J. — Cell and tissue culture. Churchill-Livingstone, Londres, 1972.
- SAMPAIO, A. Poliomielite. *Boletim do Inst. Sup. de Hig. Dr. Ricardo Jorge*, VIII-39: 92, 1953.
- STEERE, N. V. — Handbook of laboratory safety. The Chemical Rubber Co., 1971.
- van ZELLER, M. L., SOARES, A. C., SAMPAIO, A., CAEIRO, F. M., MOTA, L. Cayolla — Programa nacional de vacinação e Vacinação contra a poliomielite em Portugal Continental. *Saúde Pública*, XV-2: 7, 1968.

## ORGANIZAÇÃO DE UMA SECÇÃO DE BACTERIOLOGIA DA TUBERCULOSE NO LABORATÓRIO DE BACTERIOLOGIA DA DELEGAÇÃO DO INSA NO PORTO

*Maria Fernanda Mesquita de Paiva Pereira<sup>1</sup>*

### 1 — Introdução

A tuberculose é uma doença caracteristicamente social, que implica medidas de massa, colocando-se por este facto entre os grandes problemas da Saúde Pública.

O sucesso duma luta antituberculosa diminuirá em parte as implicações socio-económicas desta doença e marcará um ponto importante em matéria de saúde colectiva.

A XVIII Conferência Internacional Contra a Tuberculose pôs em evidência que um programa de luta antituberculosa pressupõe a existência dum conjunto óptimo de medidas específicas:

- Epidemiológicas (aplicadas sem interrupção sobre um conjunto do território nacional)
- Sociológicas (devendo corresponder às características da população e responder às suas necessidades)
- Administrativas (integradas nos serviços gerais de saúde)
- Económicas (nos limites dos recursos disponíveis) (6).

«Embora a tuberculose esteja em declínio, ainda é um problema grave entre nós, que temos índice de mortalidade alto (15,2%) e uma taxa de prevalência bastante elevada. Apesar da melhoria indiscutível do nosso panorama, os valores continuam a ser muito altos.» (Dr. J. Cabral, Delegado do I. A. N. T. no Porto).

A tuberculose não cessa pois de representar uma ameaça para a Saúde Pública e torna-se urgente prosseguir eficazmente e sem descanso a luta contra o bacilo de Koch.

Os Laboratórios de Saúde Pública são um elemento indispensável nos programas preventivos e curativos dirigidos contra as doenças infecciosas. A sua acção ganha muito em eficácia desde que se combinem os trabalhos bacteriológicos com as pesquisas epidemiológicas.

Para satisfazer as necessidades que lhe são exigidas, tanto pelos serviços de Saúde Pública (Centros de Saúde Distritais e Concelhios, Dispensários, Delegações de Saúde do Norte do País, Serviço de infecto-contagiosas do Hospital Joaquim Urbano), como pelos Médicos da clínica particular, e ainda para, sempre que necessário, dar colaboração a inquéritos epidemiológicos, possui a Delegação do INSA no Porto uma Secção de Bacteriologia da Tuberculose, que, a partir de 1963, foi organizada

<sup>1</sup> Assistente, Laboratório de Bacteriologia — Delegação do Instituto Nacional de Saúde — Porto.

com base nas técnicas dos serviços do Instituto Nacional da Tuberculose de Praga e do Instituto Pasteur de Paris, com a colaboração da O. M. S.

Neste relatório, além de alguns aspectos técnicos apresentados sumariamente, vão ser encarados novos planos de trabalho e as condições de pessoal, instalações e equipamento necessárias para o desenvolvimento deste sector.

## 2 — Considerações gerais sobre os métodos laboratoriais no diagnóstico das micobacterioses

Dentre todos os meios de que se dispõe para o diagnóstico da tuberculose pulmonar (exame clínico, prova tuberculínica, exame radiológico, exame bacteriológico), o método bacteriológico é o mais seguro (12).

As micobactérias, e particularmente o bacilo da tuberculose, podem infectar quase todos os órgãos do corpo humano; consequentemente, o bacteriologista pode receber uma larga variedade de produtos com o fim de detectar bacilos álcool-ácido-resistentes (expectoração, líquidos céfalo-raquidiano, pleural e peritoneal, suco gástrico, pus, urina, sangue menstrual, feses, fragmentos de tecidos).

No entanto, como principalmente a tuberculose pulmonar é o tipo de infecção mais frequente, a expectoração (natural ou induzida), predomina como produto enviado ao laboratório.

A colheita deve fazer-se em jejum, depois da lavagem da boca com água destilada, em, pelo menos, dois dias consecutivos (19). É conveniente colher a expectoração antes do início do tratamento com tuberculostáticos.

Como o tempo que decorre após a colheita e as condições de manutenção podem influir na viabilidade do bacilo, o envio dos produtos ao laboratório deve fazer-se no próprio dia. No caso de não ser possível efectuar todos os exames no dia da colheita (inquéritos epidemiológicos), devem as amostras ser guardadas a 4° C até ao dia seguinte, e não mais.

### 2.1 — Enumeração de técnicas e sua valorização

O estudo bacteriológico deve compreender:

#### 2.1.1 — Exame directo, com homogeneização, se necessário

#### 2.1.2 — Exame cultural

#### 2.1.3 — Identificação das micobactérias

#### 2.1.4 — Provas de sensibilidade às substâncias antibacilares.

**2.1.1 Exame directo** — Este exame tem grande interesse como método laboratorial de apoio à clínica, permitindo a confirmação preliminar imediata de um diagnóstico.

Sob o ponto de vista epidemiológico, o rastreio por baciloscopia directa é também duma importância capital, porque os doentes encontrados positivos são aqueles que representam maior risco para a colectividade.

Esta prova, que é fácil de executar, não exige meios de laboratório importantes e é a mais económica (custa à volta de 2 vezes menos que a cultura e 20 vezes menos que uma prova de sensibilidade a um só medicamento), terá pois prioridade num programa de luta antituberculosa (7). A rentabilidade deste exame está relacionada com a escolha do produto, o número de amostras e a preparação e coloração dos esfregaços.

São muitas as técnicas utilizadas para pôr em evidência a álcool-ácido-resistência das micobactérias.

O método clássico de Ziehl, que emprega a coloração a quente, é ainda largamente usado.

Na Secção da tuberculose do INSA está a ser utilizada, desde 1963, a técnica de Tan-Thian-Hok (coloração pela fucsina a frio), em que os tempos de coloração são mais curtos e a descoloração e contraste feitos simultaneamente.

Nos últimos anos têm sido ensaiadas técnicas de fluorescência para as micobactérias, discutindo-se as vantagens e inconvenientes deste modo de coloração. Grande número de autores aconselha este processo de exame, porque a morfologia do bacilo é nítida e porque é um método mais rápido e mais seguro. Esta técnica permite a separação fácil das lâminas negativas, mas aconselha-se que as lâminas positivas sejam confirmadas por coloração sobreposta, pelo método habitual (Manuel de Techniques bacteriologiques — Buttiaux, Beerens, Tacquet).

**2.1.2 Exame cultural** — Certos autores afirmam que deve estabelecer-se como dogma a necessidade duma prova bacteriológica por cultura (mesmo que, por vezes, o seu resultado só

tardamente seja fornecido). Em estudos comparativos, Kubin e Mikova (Praga), verificaram que, em doentes suspeitos de tuberculose activa, a cultura sistemática detectou pelo menos duas vezes mais casos bacilíferos que o exame directo e, em inquérito de massa, esta proporção aumentou para três a quatro vezes mais [14].

Além de aumentarem a percentagem de casos positivos, só as culturas permitem o isolamento de micobactérias atípicas. Embora alguns destes bacilos sejam patogêneos, outros, em muito maior número, não o são; só, pois, a cultura possibilita a classificação e identificação destas formas e permite escolher uma terapêutica adequada ou levar a suspender o eventual tratamento, na hipótese de estar em causa um germe não patogêneo.

No exame geral temos a considerar:

- Meios de cultura
- Métodos de concentração
- Métodos de cultura

**2.1.2.1 Meios de cultura**—Um meio de cultura para isolamento de micobactérias deve obedecer aos seguintes requisitos:

- permitir um crescimento rápido e abundante de pequenos inóculos
- facilitar o reconhecimento das colónias
- ser económico e de preparação relativamente simples
- dificultar o desenvolvimento dos organismos contaminantes.

Os meios de cultura mais largamente usados pelas suas vantagens, são os meios de ovo, sendo os mais conhecidos os meio tipo Löwenstein-Jensen e tipo Coletsos. O meio de Coletsos é mais recente e é considerado bastante sensível.

Vários outros tipos de meios têm sido propostos, como o meio de Dubos e o de Middlebrook 7H-10, que são meios gelosados. Este último está a ser também muito usado no isolamento e identificação das micobactérias atípicas; as sementeiras são feitas em placa.

Dos meios líquidos, os mais citados são:

Dubos líquido, Youmans, Sauton, que acarretam o inconveniente de todos os meios líquidos: sensibilidade à poluição.

No que respeita a meios de cultura é importante considerar não só a escolha do meio, mas também a forma como é preparado.

É indispensável cumprir minuciosamente as instruções referentes à lavagem adequada do material e executar as técnicas de preparação com o máximo rigor, utilizando componentes frescos e reagentes puros.

O meio usado no Laboratório da Tuberculose da Delegação do INSA é o meio de Löwenstein-Jensen, preparado na Secção de Meios de Cultura, segundo a fórmula do Instituto Nacional da Tuberculose de Praga.

Se é certo que alguns dos outros meios citados permitem um crescimento mais rápido e abundante nas primo-culturas, por outro lado não podem ser usados em todas as provas bacteriológicas (p.e. o meio de Coletsos inibe a acção de certos tuberculostáticos).

**2.1.2.2 Métodos de concentração**—Estes métodos destinam-se à preparação do produto, não só para exame directo, se necessário, como também para o exame cultural e inoculação. A eficácia dos processos culturais está dependente da destruição dos organismos contaminantes das amostras, adequada digestão e concentração dos bacilos.

Vários métodos de concentração têm sido propostos; vão citar-se os mais usados:

— *Método da NaOH a 4% neutralizada pelo H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 6% em presença do azul de tornesol.*

É usado para quase todos os tipos de material patológico. O álcali dissolve a maior parte da matéria orgânica e destrói os organismos contaminantes.

— *Método da N-acetil-L-cisteína (NAC)-hidróxido de sódio.*

Este método permite boa recuperação a partir de inóculos paucibacilares, ou de doentes já em tratamento, com o consequente aumento da taxa de positividade; no entanto, apresenta o inconveniente da grande facilidade de alteração da N-acetil-cisteína, não se tornando económico, nem prático.

— *Método do fosfato trissódico*

Esta técnica tem a vantagem de ser pouco nociva para as micobactérias. Os bacilos sobre-

vivem neste reagente cerca de 5 dias e por este facto pode ser usado para a colheita e transporte das amostras.

Há que ter em atenção que, sendo o fosfato trissódico um detergente, forma com facilidade uma crosta que constitui risco de infecção ao serem removidas as tampas dos recipientes.

— *Método do Lauril-sulfato de sódio (Tacet-Tison)*

Têm sido propostas muitas técnicas para isolamento e identificação das micobactérias e os ensaios prosseguem no sentido de se obterem melhores resultados. Vão considerar-se seguidamente alguns desses métodos culturais.

— *Cultura em meio de Löwenstein-Jensen*

Não obstante o aparecimento de muitos métodos de cultura, o método que utiliza o meio de Löwenstein-Jensen é ainda o mais usado.

E esta a técnica que empregamos na Delegação do INSA.

O produto é semeado em 4 tubos de Löwenstein-Jensen glicerina e em um tubo sem glicerina, para isolamento do *M. bovis*.

Os tubos são incubados a 37° durante pelo menos 60 dias.

— *Microcultura em lâmina*

Este método já foi descrito pelo próprio R. Koch e tem vindo a ser aperfeiçoado até aos nossos dias. É no entanto bastante perigoso, e não torna fácil a identificação dos diferentes tipos de micobactérias.

— *Cultura pela técnica das membranas filtrantes*

Provou-se que era possível obter crescimento satisfatório das micobactérias, à superfície de membranas filtrantes colocadas sobre meio de Löwenstein-Jensen.

Afirmam os autores que se pode observar microscopicamente o crescimento do bacilo de Koch em 3 dias e colónias em 13 dias.

Embora pareça um método prático, está limitado aos produtos que passarem facilmente através das membranas filtrantes (p.e. o líquido céfalo-raquídeo).

— *Cultura em embrião de galinha*

Esta técnica consiste essencialmente numa inoculação primária em ovo embrionado, seguida de uma subcultura em meio de Löwenstein-Jensen. Embora o método seja considerado sensível, como está condicionado a vários factores biológicos e técnicos, não se torna prático nem eficiente.

— *Cultura em atmosfera confinada das micobactérias semeadas em profundidade*

Esta técnica, descrita por J. Bretey e M. T. Jahan (11), foi elaborada com o fim de reduzir os principais inconvenientes dos métodos actuais de medida da resistência das micobactérias aos antibióticos.

Este método será analisado com mais pormenor, no capítulo apropriado.

\*

Ao descreverem-se meios e métodos mais correntemente usados para isolamento e identificação das micobactérias, salienta-se ainda que está provado que uma atmosfera de 5 a 10% de anidrido carbónico tem acção estimulante na multiplicação do bacilo tuberculoso em meios artificiais, devendo ser usada na rotina, se possível.

O uso de CO<sub>2</sub> para isolamento de bacilos álcool-ácido-resistentes não tem sido largamente empregue porque não só se torna muito dispendiosa a adaptação dum incubador, como também é difícil manter a atmosfera de CO<sub>2</sub> dentro dos tubos.

Este problema foi estudado por Karlson e Caskey (13), que conseguiram uma atmosfera óptima de CO<sub>2</sub> no incubador e recomendam o uso de tampas especiais de plástico (Bio-Tech) que evitem a evaporação e secagem do meio e ao mesmo tempo permitem a permeabilidade e obtenção da atmosfera pretendida.

2.1.3 *Identificação das micobactérias* — A diferenciação das micobactérias não é somente de interesse teórico para a bacteriologia de hoje, mas também de grande importância prática.

Com efeito, existe um grande número de bacilos álcool-ácido-resistentes — micobactérias atípicas ou anormais — que, embora conhecidos desde a era de R. Koch, eram considerados como bactérias saprófitas, desprovidas de todo o poder patogénico para o homem.



Mais recentemente, esta opinião teve de ser abandonada e está provado que, tanto sob o ponto de vista clínico como experimental, alguns destes germes podem provocar lesões cutâneas, ósteo-articulares, génito-urinárias e sobretudo pulmonares no adulto e ganglionares na criança.

As classificações modernas dividem o género *Mycobacterium* em 2 grupos:

A — Bacilos não cultiváveis nos meios clássicos

- *M. leprae* (Hansen)
- *M. lepraemurium*

B — Bacilos cultiváveis nos meios clássicos

- *M. tuberculosis* (Koch)
- *M. bovis* e B.C.G.
- *M. tuberculosis* e *M. bovis* (mutantes hidrazido-resistentes)
- *M. paratuberculosis* (John)
- Micobactérias atípicas dos 4 grupos de Runyon (grupos admitidos provisoriamente).

Os 4 grupos que alargam o campo das micobactérias são subdivididos (Runyon) em:

- Grupo I — Espécies fotocromogéneas
- Grupo II — Espécies escotocromogéneas
- Grupo III — Espécies não fotocromogéneas
- Grupo IV — Micobactérias de crescimento rápido

A identificação das micobactérias fundamenta-se em:

a) *Caracteres culturais*

- Rapidez de crescimento
- Temperatura óptima de crescimento
- Morfologia das colónias
- Produção de pigmento

b) *Caracteres bioquímicos e enzimáticos*

- b<sub>1</sub> — Provas fundamentais
  - Produção do ácido nicotínico (Prova da niacina)
  - Sensibilidade ao T. C. H. (Hidrazina do ácido tiofeno-2-carboxílico)

b<sub>2</sub> — Provas complementares

- Transformação dos nitratos e dos nitritos
- Transformação do citrato de ferro amoniacal
- Estudo da actividade amidásica
- Pesquisa de aril-sulfatase
- Pesquisa da catalase
- Pesquisa da peroxidase

c) *Estudo do poder patogénico*

- c<sub>1</sub> — Provas morfológicas ou bioquímicas de virulência
  - Formação de cordas
  - Vermelho neutro
  - Azul de Nilo

Só a formação de cordas tem valor na prática corrente. As provas bioquímicas são de interpretação difícil.

- c<sub>2</sub> — Inoculação em animais de laboratório (cobala — coelho — ratinho)

d) *Processos serológicos*

Sero-aglutinação (Schaefer)  
Imunodifusão.

Duma maneira geral, os processos serológicos não têm interesse em micobacteriologia clínica, mas são utilizados na identificação das micobactérias e em epidemiologia.

Mais recentemente têm sido referidas técnicas de anticorpos fluorescentes, com interesse clínico.

Para um estudo mais completo das micobactérias, pode também recorrer-se à fagotipia e ao estudo das reacções alérgicas (cutâneas).

Muitas destas provas só podem ser realizadas em laboratórios muito diferenciados.

Numa primeira fase, o Laboratório da Delegação do INSA tem a possibilidade de executar as seguintes provas:

a) *Provas culturais*

b) *Provas bioquímicas e enzimáticas*

- Prova da niacina
- Sensibilidade ao T. C. H.

- Transformação dos nitratos e dos nitritos
- Transformação do citrato de ferro amoniacal
- Pesquisa da catalase
- Pesquisa da peroxidase
- Pesquisa de aril-sulfatase

#### c) Estudo do poder patogénico

- Inoculação em animais de laboratório
- Formação de cordas.

A prova da niacina de Kono é talvez o processo bioquímico mais usado no diagnóstico da tuberculose (distingue o *M. tuberculosis* do *M. bovis*). É relativamente fácil de realizar, mas, como um dos reagentes é o brometo de cianogénio, a reacção deverá fazer-se numa «hotte».

Esta técnica está simplificada pelo emprego duma tira de papel (Bacto-TB Niacin Test Strip) para detecção da niacina produzida pelo *M. tuberculosis* (18). Neste trabalho fizeram-se provas comparativas com o método anteriormente mencionado e os resultados obtidos foram iguais e em muitos casos superiores. Este processo tem a vantagem de ser mais rápido e mais prático, pois não há necessidade de preparar reagentes

\*

Até há poucos anos, a inoculação no animal era o único método para a determinação da patogenicidade das micobactérias.

Em virtude do tempo necessário para a obtenção do diagnóstico e das já sabidas limitações da prova no animal, várias tentativas têm sido feitas com o fim de estabelecer critérios de virulência e desenvolver técnicas mais simples e mais rápidas.

Middlebrook demonstrou uma relação entre as características morfológicas do crescimento do bacilo tuberculoso e a sua virulência. Estirpes virulentas do bacilo tuberculoso humano ou bovino, quando crescem em condições especiais, dão a formação de «serpentine cords» de variada espessura e comprimento, constituídas por bacilos álcool-ácido resistentes dispostos paralelamente.

Vários métodos têm sido descritos para evidenciar a formação de cordas.

Lorian, V. (15) descreve uma técnica em que os produtos, depois de devidamente tratados, são semeados em placas contendo um meio apropriado (Direct Cord Reading Agar). A morfologia das colónias é observada a partir do 12.º até ao 21.º dia no máximo, e vão-se anotando as designações de:

«Cordas espessas, cordas finas, cordas fracas, e sem cordas».

Os resultados obtidos foram de tal ordem que os autores aconselham o uso do Direct Cord Reading Agar mesmo para isolamento e identificação das micobactérias, visto contribuir para um diagnóstico precoce da tuberculose (15).

Uma das causas de erro na identificação das micobactérias deve-se ao aparecimento de estirpes resistentes aos tuberculostáticos, principalmente mutantes hidrazido-resistentes de *M. tuberculosis* e *M. bovis*. Os mutantes apresentam alterações nas características tinturais, culturais e bioquímicas, dando lugar a falsas interpretações.

**2.1.4 Métodos de determinação da sensibilidade às drogas antibacilares** — Depois da introdução dos medicamentos antituberculosos, grandes progressos se fizeram na luta contra o bacilo de Koch. Todavia, a acção destas substâncias está limitada pelo aparecimento de estirpes bacterianas capazes de sobreviverem na presença de fortes concentrações destes quimioterápicos. Perante o aparecimento destas resistências (primárias, secundárias, cruzadas ou induzidas), o estudo da sensibilidade às drogas antibacilares tem grande interesse, tanto clínico como epidemiológico.

Sob o ponto de vista clínico, estas provas confirmam a resistência bacilar quando o doente não está a reagir ao primeiro tratamento e, ao mesmo tempo, orientam a escolha de nova terapêutica.

Sob o ponto de vista epidemiológico, avaliam a incidência duma resistência primária ou adquirida dos bacilos tuberculosos disseminados na colectividade.

#### Métodos e meios utilizados

Para elaboração das provas de sensibilidade têm sido propostas numerosas técnicas, mas, apesar dos esforços de standardização, não existe até à data um método perfeitamente definido nem unanimemente adoptado.

Há métodos que estudam o metabolismo dos bacilos, outros que verificam a acção do tratamento sobre a tuberculose experimental provocada pelos bacilos a estudar. Porém, a maioria das técnicas é baseada na inibição da cultura. Os principais métodos deste tipo são os seguintes:

- Método das concentrações absolutas
- Método da relação de resistências
- Método das proporções.

Na realização prática da medição das resistências é necessário atender a alguns pontos fundamentais:

- Natureza do meio de cultura
- Gama das concentrações de tuberculostáticos
- Data da leitura
- e, sobretudo, n.º de bacilos a semear (inóculo).

Cada um destes pormenores dá lugar a variações que modificam os valores encontrados. No entanto, a divergência principal reside na maneira de apreciar os resultados.

A escolha adequada dum meio de cultura, condiciona o tipo de resultado que se obterá.

Os meios líquidos dão respostas rápidas (4-10 dias) e não precisam ser aquecidos depois da adição dos tuberculostáticos. Todavia as estirpes têm por vezes dificuldade em se adaptar a estes meios e não crescem facilmente. Por outro lado são mais sujeitos a contaminação.

Os meios sólidos necessitam dum aquecimento para a sua coagulação o que pode diminuir a actividade de certos quimioterápicos. No entanto, têm a grande vantagem de permitir a contagem das colónias que crescem tanto nos tubos testemunha como nos tubos com tuberculostáticos. Pode-se pois obter assim, a proporção dos bacilos resistentes, numa população microbiana.

Embora os meios de ovo não sejam muito satisfatórios, devido à inactivação parcial de alguns tuberculostáticos durante a coagulação, ainda são os mais usados.

Ultimamente tem sido proposto o meio 7H-10 Agar, visto não apresentar o inconveniente apontado.

Outros tipos de meios são referidos para estas provas: meios semi-sólidos e meios só-

lidos permitindo difusão das drogas (método dos discos). No entanto não estão generalizados.

O método mais correntemente usado na determinação da sensibilidade às drogas antibacilares é o conhecido *método das proporções* de Canetti, Rist e Grosset.

Este processo, que parece ser o mais perfeito, reprodutível e económico, utiliza o meio de Löwenstein-Jensen.

A técnica para a sua execução vem descrita em quase todos os livros da especialidade.

Faz-se uma primeira leitura aos 28 dias (o número de colónias aumenta com o tempo e depois diminui pela confluência de certas colónias entre si). Atendendo a que as colónias resistentes podem crescer mais tardiamente, é preciso fazer uma segunda leitura (42.º dia).

Os Laboratórios Mast (Mast Laboratories Limited), apresentam uma técnica em que o meio de Löwenstein-Jensen é distribuído em placas de polietileno com tampa transparente, divididas em sectores (Mastray). Cada Mastray contém 6 séries de diluições de 3 tuberculostáticos e uma divisão com meio simples. São necessárias 3 placas para cada ensaio (9 tuberculostáticos ao todo), com mais 3 placas para o ensaio obrigatório da estirpe padrão H37Rv. Por este processo o tempo de semeadura é encurtado, as manipulações diminuídas e consequentemente a exposição do técnico à infecção é reduzida. Embora com estas vantagens, o número de placas necessário para cada ensaio torna este método bastante dispendioso.

Outro método que foi apresentado ultimamente e já atrás referido aproveitou a cultura em atmosfera confinada das micobactérias semeadas em profundidade para a aplicação à medida acelerada das resistências. O ponto de partida do estudo deste método foi a dificuldade de obtenção de suspensões homogêneas a partir de estirpes rugosas e o factor de erro que daí resulta nas apreciações quantitativas de colónias.

Esta técnica reduz os principais inconvenientes apontados ao método das proporções:

- Má reprodutibilidade e má correlação de resultados entre laboratórios diferentes
- Demora na obtenção da resposta
- Fraça sensibilidade

A cultura é feita por sementeira em profundidade de meios líquidos (Youmans ou Difco B<sub>374</sub>) não agitados, contidos em frascos tipo penicilina.

O desenvolvimento da cultura é apreciado pela dosagem do CO<sub>2</sub> libertado. A taxa deste gás e o peso seco evoluem em estreita relação. As dosagens, feitas por absorção no infra-vermelho, são específicas e extremamente rápidas. São calculadas de maneira impessoal e simultaneamente inscritas sobre um registrator. A interpretação é simples. A leitura é feita, na maioria dos casos, entre o 6.º e o 12.º dias.

Dos métodos citados, este é o único que permite a automatização actualmente desejável, mas ainda pouco desenvolvida em bacteriologia.

No Laboratório de Tuberculose da Delegação do INSA, está a ser usado o *método das proporções* de Canetti, Rist e Grosset, desde 1963.

Embora seja uma prova bastante trabalhosa, desde a preparação do meio de Löwenstein-Jensen, simples e com antibióticos incorporados, até à sua execução e leitura, a Secção tem larga experiência deste método, tendo realizado cerca de 500 provas até ao fim de 1972.

Presentemente ensaiamos 12 tuberculostáticos (Isonazida, Estreptomina, Ácido paraminossalicílico, Etionamida, Kanamicina, Tiocetazona, Viomicina, Cicloserina, Capreomicina, Pirazinamida, Rifampicina e Etambutol). Estes dois últimos, que vieram dar perspectivas novas ao tratamento clássico da tuberculose, foram incorporados na rotina a partir de 1970.

Um ensaio terapêutico da Rifampicina, realizado em 1969, teve o apoio bacteriológico total do Laboratório de Bacteriologia da Tuberculose do INSA no Porto (5).

#### *«Contrôle» de qualidade*

A função do «contrôle» de qualidade é de importância fundamental no trabalho laboratorial. Para um dado método, a sensibilidade e reprodutibilidade estão dependentes da qualidade dos reagentes e rigor da técnica, sendo por isso indispensável proceder à verificação de todos os corantes, em produtos com bacilos álcool-ácido-resistentes, de todos os meios de cultura, semeando estirpes com caracterís-

ticas culturais previamente conhecidas, e de todos os meios com quimioterápicos incorporados, ensaiando estirpes de sensibilidade conhecida.

As funções de apoio do Laboratório do INSA aos Laboratórios dos Centros de Saúde, devem incluir o «contrôle» de qualidade nos limites de trabalho que lhe estiver adstrito, nomeadamente no que respeita a corantes e meios de cultura e à reprodutibilidade de resultados.

#### *2.2 — Esquematização do protocolo de análise seguido na Delegação do INSA*

#### **3 — Trabalhos em curso e projectos futuros**

As actividades actuais da Secção incluem as seguintes análises:

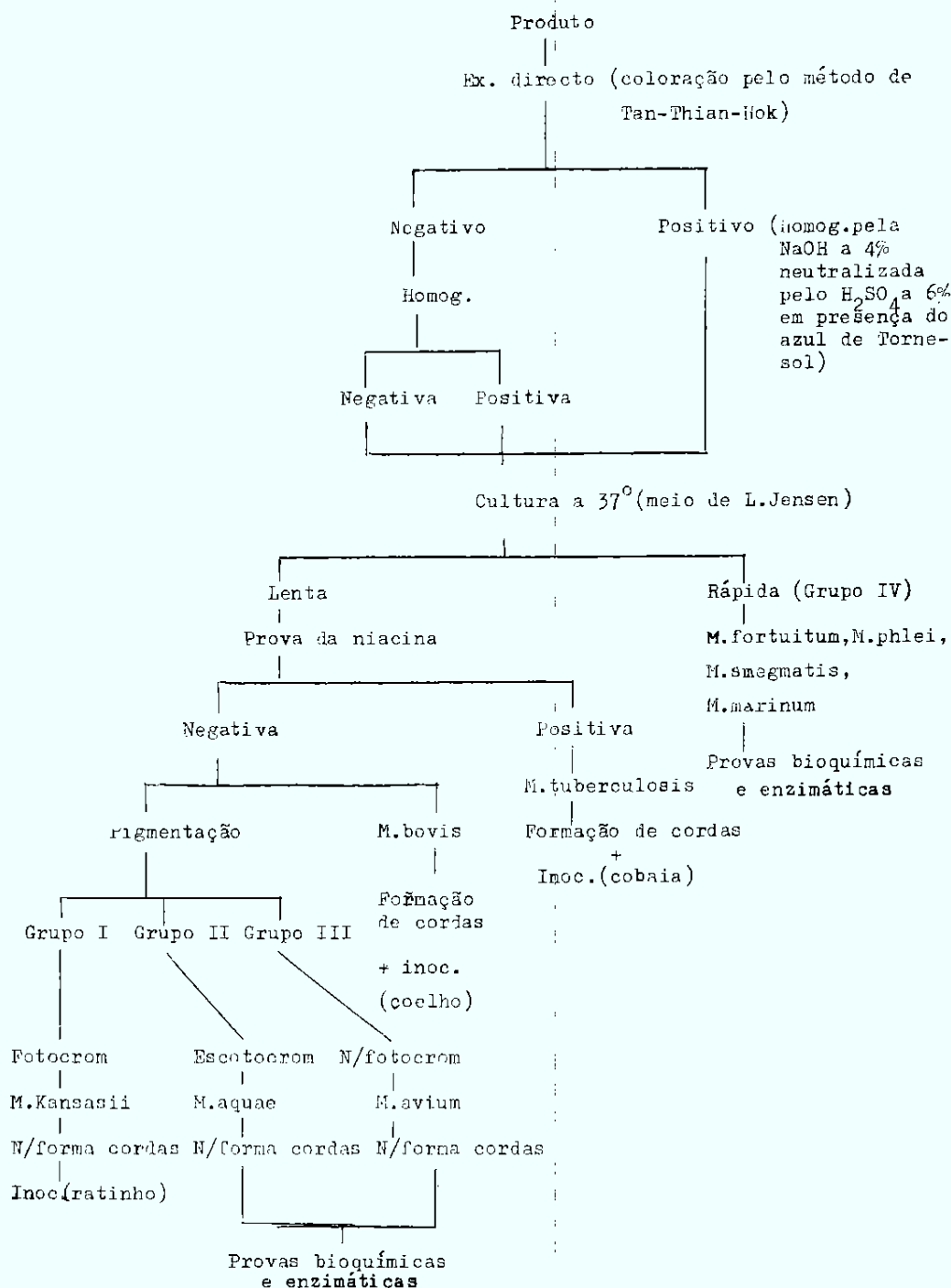
- Exames directos (Bacilo de Hansen e Bacilo de Koch)
- Exames culturais
- Inoculações
- Provas de sensibilidade às drogas antibacilares.

Como aproveitamento do material de rotina, a partir de Março e até Dezembro de 1972 (excluindo Agosto e Setembro), começaram a a fazer-se culturas sistemáticas em meio de Löwenstein-Jensen, não só de produtos para os quais foi solicitado apenas o exame microscópico directo, como também dos enviados ao laboratório de bacteriologia geral sem pedido específico de pesquisa de bacilos álcool-ácido-resistentes (não suspeitos clinicamente).

Estão já ensaiados 130 produtos (expectoração, urina, pus, líquido céfalo-raquídeo), todos com exame microscópico directo negativo. Isolaram-se bacilos álcool-ácido-resistentes em 10 destes materiais clínicos.

Posteriormente os resultados foram enviados aos requisitantes, completando o diagnóstico bacteriológico, com o interesse prático que este facto comporta não só para médico-doente como para a Saúde Pública.

Estes ensaios vão prosseguir com o intuito de colher elementos quantitativos que evidenciem o interesse da cultura sistemática e permitam avaliar a incidência das diferentes espécies de micobactérias.



Para alargamento de actividades da Secção propõem-se os seguintes planos de trabalho:

- Introdução na rotina da técnica de fluo-rescência (já ensaiada)
- Ensaio comparativo da técnica de homogeneização pela NaOH a 4% com a técnica do Lauril-sulfato de sódio
- Estudo das técnicas de identificação das micobactérias, atrás referidas
- Determinação da incidência de micobactérias atípicas em produtos patológicos.

#### *Registo de resultados*

O aumento do número de técnicas implica o estudo dum novo sistema de anotação de resultados, visto que, sendo o processos laboratoriais em micobacteriologia, dum modo geral, lentos, torna-se necessário um registo minucioso das diferentes fases da análise, que permita informação oportuna sob o ponto de vista clínico.

Este registo, em forma de fichas, deve também possibilitar a colheita fácil de dados comparativos sobre meios e métodos de cultura e fornecer elementos estatísticos com interesse epidemiológico.

### **4 — Instalações**

#### *4.1 — Laboratório*

É imperativo reconhecer-se que os riscos de infecção num laboratório de bacteriologia da tuberculose são de tal ordem, que o plano das instalações deve ser minuciosamente estudado e obedecer a características especiais:

- São consideradas áreas contaminadas os compartimentos onde são recebidas as amostras e realizadas todas as operações relativas ao exame bacteriológico (preparação de esfregaços, homogeneização, culturas). Estas áreas devem ser separadas das salas de uso geral e devem ter portas que permitam um isolamento completo.
- Há necessidade de instalar luz ultra-violeta e um exaustor que permita a remoção e esterilização do ar. A descarga do ar filtrado para o exterior deve ser feita condições que não permitam retorno. Modernamente as câmaras de ar laminar correspondem às exigências dum labora-

tório deste tipo, permitindo a realização das operações de maior risco ao abrigo da dispersão de aerossóis e limitando assim a área contaminada.

- Todo o material infectado deve ter acesso fácil à zona de esterilização (autoclaves).
- Deve existir um compartimento onde o pessoal possa envergar roupas de protecção (batas) sem possibilidade de contaminação das roupas próprias.

Além destas condições, o laboratório deve ainda obedecer aos seguintes requisitos de ordem geral:

- Ter espaço suficiente para os postos de trabalho necessários
- Ser devidamente ventilado
- Ter boa iluminação e aquecimento
- Ter bancadas e revestimento do chão que permitam limpeza fácil e desinfectação completa.

No projecto das instalações do novo edifício da Delegação do INSA no Porto, foi destinada para este sector de bacteriologia da tuberculose uma área de  $\pm 20 \text{ m}^2$  para trabalho laboratorial, subdividida em 3 salas, e um gabinete anexo com  $10 \text{ m}^2$ .

#### *4.2 — Biotério*

A Secção de Bacteriologia da Tuberculose é completada obrigatoriamente por um biotério.

A superfície destinada ao biotério é função da importância que representa para o laboratório a experimentação com pequenos animais (cobaia, coelho, ratinho).

O biotério deverá ser bem seco, bem iluminado (luz natural e artificial-fluorescente), animal, ventilado, limpo e desinfectado com frequência.

O chão deve ser de cimento, com condutas para a água escoar fácil e rapidamente, e as paredes revestidas com azulejo até 2 m de altura, de forma a resistirem à desinfectação e à água sob pressão sem que se alterem.

Torna-se recomendável dividir o local em vários sectores, seja qual for a amplitude do biotério:

- compartimentos para animais são (os animais precisam de permanecer 3 a 4 semanas no biotério, antes de serem usados para trabalhos experimentais);

— compartimento para animais inoculados (com prateleiras, a fim de colocar as gaiolas);

— sala para pesagens, inoculações e autópsias, com mesa própria e lavatório de pedal ou cotovelo;

— zona para desinfecção de gaiolas, tabuleiros e animais, antes da autópsia;

— pequeno compartimento para manipulação e armazenamento dos alimentos sólidos, comerciais ou não, e vegetais.

Além destas divisões, é necessário dispor de:

a) Casa para arrecadação de material, com gaiolas, tabuleiros (depois de lavado e desinfectado);

b) Um local para instalação de um pequeno forno crematório para destruição dos cadáveres, fezes, urinas e restos alimentares de animais infectados;

c) Instalações sanitárias com duche e pequeno vestiário para o pessoal do biotério.

As normas a seguir no biotério devem ser afixadas no local, a fim de lembrar ao pessoal que trata dos animais quais os cuidados obrigatórios respeitantes a este sector.

\*

Até à data, a Secção da Tuberculose tem utilizado o biotério geral, que dispõe de um compartimento para animais sãos, outro para animais inoculados, uma sala para inoculações e autópsias e uma zona para desinfecção de gaiolas e animais.

As instalações actuais são susceptíveis de melhoramentos segundo plano geral já elaborado e que permitirão à Secção de Tuberculose uma maior individualização e melhores condições de manutenção de animais.

## 5 — Equipamento

### 5.1 — *Laboratório*

O equipamento considerado indispensável a esta Secção é o seguinte:

#### 5.1.1 — *Aparelhos:*

1 Câmara asséptica

1 Microscópio normal

1 Microscópio com equipamento de fluorescência

2 Estufas de incubação

1 Agitador para tubos (Vortex-Mixer)

1 Centrífuga

1 Balança (para tubos de centrífuga)

1 Frigorífico

#### 5.1.2 — *Material de vidro e diverso*

Além do material de vidro e diverso corrente em bacteriologia, o laboratório deve dispor de pipetas graduadas com ampola de segurança, seringas em material rejeitável, luvas de borracha, tabuleiros em material esterilizável, recipientes para material séptico, de bancada e autoclave — em número suficiente para corresponder às exigências especiais perante os riscos de contaminação próprias de um laboratório deste tipo.

#### 5.1.3 — *Mobiliário*

Bancadas para trabalho

Armário-estante para livros e revistas

Ficheiro para fichas técnicas, bibliográficas e de registo de doentes e resultados.

### 5.2 — *Biotério*

No biotério geral, a Secção de Tuberculose necessita do seguinte equipamento:

— Gaiolas de material esterilizável e com fundo amovível

— Tabuleiros para inoculação e autópsia

— Recipientes para material séptico

— Tanques para desinfecção de gaiolas e

— Tanques para material e desinfectantes.

## 6 — Pessoal

O Decreto-ei n.º 414/71, instituiu as carreiras profissionais, estabelecendo para os laboratórios carreiras do tipo 1 — técnicos superiores de laboratório e do tipo 2 — técnicos auxiliares de laboratório.

A organização de carreiras profissionais, teve como objectivo, proporcionar, simultaneamente, estímulo e compensação dos esforços exigidos aos funcionários, justiça nos respectivos acessos, e criterioso rigor no recrutamento.

De acordo com esta orgânica, vai proceder-se ao alargamento do quadro do pessoal da Delegação do INSA com o fim de corresponder às necessidades de desenvolvimento que se impõem, numa política actualizada de Saúde Pública.

### 6.1 — Formação do pessoal

As características do trabalho e o risco de infecção exigem uma escolha adequada e uma preparação cuidadosa de todo o pessoal que trabalhe neste sector.

Não obstante os exames médicos antes da admissão, deve atender-se à vigilância e manutenção do estado de saúde do pessoal. As principais medidas aconselháveis, são:

- Exames periódicos (raios X e tuberculina)
- Esclarecimento sobre os factores que contribuem para o desenvolvimento da tuberculose (subalimentação, fadiga, tensão)

- Permissão de curtos períodos de repouso durante a manhã ou a tarde

- Notificação imediata da doença.

Quanto à preparação do pessoal para o trabalho laboratorial, torna-se necessário atender a alguns pontos essenciais:

- Conhecimento rigoroso das técnicas assépticas
- Manuseamento correcto de todo o material infectado
- Instruções sobre as medidas a tomar no caso de contaminação accidental da própria pessoa, dos outros e do meio ambiente.

## 7 — Conclusão

A apreciação global das possibilidades de trabalho do sector de tuberculose na Delegação do INSA permite concluir que o laboratório está em condições de corresponder às necessidades de apoio bacteriológico, não só como meio auxiliar de diagnóstico completado pelo estabelecimento de terapêutica adequada, como colaborando em inquéritos de massa incluídos em programas de medicina preventiva e, especialmente, em estudos de morbilidade.

Por outro lado, a realização das provas de sensibilidade às drogas antibacilares e a introdução de técnicas de identificação das micobactérias, incluem-se no tipo de apoio laboratorial especializado que está no âmbito dos laboratórios do INSA, segundo a regulamentação oficial recente.



## BIBLIOGRAFIA

- BAILEY e SCOTT — Diagnostic microbiology. Mosby Co., Saint Louis, 1966.
- BRETEY, J. e JAHAN, M. T. — La culture in atmosphère confinée des mycobacteries ensemencées en profondeur. Application à la mesure accélérée des re-funder. Application à la mesure accélérée des re-
- BUTTIAUX, BEERENS, TACQUET — Manuel de techniques bacteriologiques. Éditions Médicales Flammarion, Paris, 1966.
- COELHO, A., MOREIRA, J. e col. — Ensaio terapêutico da rifampicina na tuberculose pulmonar. *Jornal do Médico*, 1441: 145-155, 1970.
- La XVIII Conférence Internationale sur la Tuberculose. *Chronique OMS*, 26-9: 444, Genebra, 1972.
- Diagnostic Procedures. Bacterial, mycotic and parasitic infections. Am. Public Health Association, New-York, 1970.
- GONÇALVES FERREIRA, F. A. — Moderna Saúde Pública. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1970.
- GRUFT, H. e LODER, A. — Enhancing effects of Carbon dioxide on the primary isolation of acid. Fast bacilli in a modified Löwenstein-Jensen medium. App. Microb. American Society for Microbiology, New-York, 1971.
- KARLSON e CASKEY — Method for increasing atmospheric carbon dioxide in bacteriological incubators. App. Microb. American Society for Microbiology, New-York, 1969.
- KREIS, B. — Resistance et survivance du Bacille Tuberculeux aux médicaments antibacillaires. Masson et Cie., Paris, 1966.
- KUBIN e MIKOVA — *Bull. U. I. Contre la Tuberculose*, LXVI: 30, 1971.
- LORIAN, V. — Direct cord reading agar in routine mycobactriology. App. Microb. American Society for Microbiology, New-York, 1969.
- LOTTE, A., PERDRIZET, S. e ROUILLON, A. — Données epidemiologiques et operationnelles et orientation de la lutte antituberculeuse en France. *Revue d'Epidemiologie, Médecine Social et Santé Publique*, 20-8: 683, 1972.
- RAO, K. P. e NAGPAUL, D. R. — Diagnostic bacteriologique de la tuberculose pulmonaire — examen microscopique du crachal. *Bull. U. I. Contre la Tuberculose*, XLIV: 30, 1971.
- SARWTELL e MAXCY-ROSENAU — Medicina preventiva e Saúde Pública. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1965.
- TOPLEY e WILSON — Principles of bacteriology and immunity. Arnold. Londres, 1964.
- Tuberculose: Resultats de cinq ans de recherches. *Chronique OMS*, 24-1: 18-19, 1970.
- WILLIAM CHAN, MICHAEL CHIA, LO KWEE e DAVID M. MACFADYEN — Bacteriological measures for the detection of cases of pulmonary tuberculosis. *Bull WHO*, 45: 551-558, 1971.
- WILLIAM YOUNG, J. R., ALVIM MASLANSKY, MORTON S. LEFAN e DONALD P. KRONISH — Development of a paperstrip test for detection of niacin produced by mycobacteria. Appl. Microb. Am. Soc. for Microbiology, New Jersey, 1970.



## **4.<sup>a</sup> SECÇÃO**

1 — Relatório das actividades do INSA

2 — Legislação



## RELATÓRIO DE ACTIVIDADES (1972)

*F. A. Gonçalves Ferreira*<sup>1</sup>

### INTRODUÇÃO

1 — Com o presente relatório retoma-se a tradição, que é um preceito administrativo, da publicação anual das informações relevantes sobre a vida do Instituto e suas principais actividades. Mantida com regularidade no «Boletim do Instituto Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge», durante a existência deste, de 1946 a 1953, e, depois desta data até 1966, no «Boletim dos Serviços de Saúde Pública», que o substituiu, a publicação do relatório foi interrompida em 1966, sendo as últimas informações referentes às actividades do ano de 1964.

A interrupção deveu-se ao facto da irregularidade da publicação do «Boletim», na fase final da sua existência, que terminou em 1968, à doença do então director do Instituto, Dr. Bernardino Vicente de Pinho, aposentado em 1966, e à saída em 1968, para Moçambique, como Secretário Provincial da Saúde e Assistência e do Trabalho e Previdência, do novo director, nomeado em 1967, e que só regressou ao Instituto em 1 de Fevereiro de 1972, depois de ter exercido entre 15 de Janeiro de 1970 e essa data as funções de Secretário de Estado da Saúde e Assistência.

O esquema renovado do presente relatório tem o objectivo de apresentar um relato factual das actividades desenvolvidas por cada um dos principais laboratórios ou serviços e de dar a perspectiva da sua evolução e do desenvolvimento imediato previsto. Ao mesmo

tempo apresentará a ideia global do que são presentemente o Instituto e a Escola Nacional de Saúde Pública, entretanto criada junto do Instituto, como instituições interligadas que se complementam no desempenho de atribuições específicas de ensino e outras distribuídas pelos campos de actividade principais da investigação, do apoio técnico laboratorial e da documentação e informação.

Além do relato das actividades do ano de 1972, serão apontados os aspectos mais importantes da acção conduzida no período em que não foram elaborados relatórios, o que permitirá fazer uma apreciação concreta da evolução durante este lapso de tempo, de cerca de sete anos, em que se deram as modificações mais significativas da vida do Instituto, e que vão ter nova expressão funcional com a transferência de todos os serviços para as instalações que estão a ser construídas na zona do Lumiar e devem ficar terminadas no meio do ano de 1973.

2 — Um sumário dos factos mais importantes da vida do Instituto, desde a sua criação em 1899, e da justificação da sua nova orgânica, estabelecida em 1971, bem como das actuais atribuições, distribuídas por cinco sectores de trabalho:

«— a investigação e o apoio científico e técnico nos diversos campos da saúde pública, por meios laboratoriais, epide-

<sup>1</sup> Director do Instituto Nacional de Saúde — Lisboa.

miológicos e estatísticos, com o objectivo de melhorar a saúde da população em geral e dos seus sectores ou comunidades, em ligação com outros serviços interessados;

— os trabalhos de laboratório para esclarecimento dos problemas que dizem directamente respeito às doenças infecciosas, ao estudo da higiene e composição dos alimentos e produtos dietéticos, bem como dos aditivos e contaminantes, e para a vigilância e estudo, por si e em colaboração com outras entidades, da poluição do meio ambiente, nomeadamente da poluição física, química, acústica, por radiações ionizantes, no ar, no solo, na água, nos alimentos e nas habitações e locais de trabalho;

— as tarefas, em começo de organização, da comprovação e vigilância de medicamentos, vacinas, soros e outros produtos biológicos que interessam directamente aos serviços de saúde;

— o ensino e aperfeiçoamento de pessoal de saúde, pela realização de cursos e prestação de apoio ao ensino no sector da saúde, directamente ou em ligação com outros estabelecimentos, efectivação de estágios de preparação e aperfeiçoamento, manutenção de intercâmbio com outros centros de ensino;

— a documentação e informação, relacionadas com os progressos científicos e tecnológicos de interesse para a saúde do homem e das comunidades, e a publicação de trabalhos científicos, de divulgação e outros, elaborados pelo Instituto ou seleccionados com esse fim, que possam contribuir para melhorar a informação que deve ser posta ao dispor dos serviços em tempo oportuno e em todos os níveis da sua actuação.»

foi dado na «Nota Introdutória» com que abre o I Volume dos «Arquivos do Instituto Nacional de Saúde», 1972, a qual é acompanhada do organigrama dos respectivos serviços.

A capacidade de trabalho e de progresso que o Instituto adquiriu nos 7 anos em que não foram publicados relatórios pode ser facilmente avaliada pelas modificações do seu orçamento, entre 1965 e o presente, traduzidas pe-

los números seguintes referentes ao subsídio regular concedido pelo Estado e às despesas feitas com todas as actividades, incluindo as da Delegação do Instituto no Porto:

| Ano  | Subsídio de com-<br>participação<br>do Estado | Despesa total      |
|------|-----------------------------------------------|--------------------|
| 1965 | 2 900 000\$00                                 | 3 534 565\$00      |
| 1966 | 2 940 000\$00                                 | 3 878 364\$20      |
| 1967 | 2 940 000\$00                                 | 4 939 817\$10      |
| 1968 | 2 940 000\$00                                 | 6 720 889\$50      |
| 1969 | 2 940 000\$00                                 | 7 432 746\$20      |
| 1970 | 2 940 000\$00                                 | 10 459 339\$90     |
| 1971 | 9 780 000\$00                                 | 14 075 158\$20     |
| 1972 | 12 025 400\$00                                | 19 083 446\$60     |
| 1973 | 24 125 400\$00                                | 41 504 000\$00 (1) |

(1) Previsão. Estão incluídas as verbas destinadas ao funcionamento da Escola Nacional de Saúde Pública (7 100 000\$00) e aos programas do III Plano de Fomento (10 203 000\$00).

Com uma dotação orçamental do Estado extremamente baixa e que se manteve quase sem mudança ao longo de mais de uma década, até 1970, acrescida de pequenas verbas do III Plano de Fomento destinadas a preparação de pessoal próprio e pessoal técnico para os serviços de saúde, a partir de 1968, só depois de 1970 pôde o Instituto entrar num período de reorganização, que, de resto, vinha a ser pedida, insistentemente e sem êxito, de há muitos anos atrás.

Em resultado desta insistência e da evidente situação de atraso que se reconhecia aos sectores de trabalho que deveriam ser impulsionados pelo Instituto, deu-se uma primeira mudança favorável com a criação do Laboratório de Higiene Industrial, no regime de instalação, por despacho de 6 de Maio de 1969, sendo Ministro da Saúde e Assistência o Doutor Lopo de Carvalho Cancela de Abreu. Seguiram-se as diversas medidas promovidas de 1970 a 1972, que deram ao Instituto novas atribuições e novas possibilidades de acção, transformando-o em Instituto Nacional de Saúde, sendo Ministro da Saúde e Assistência o Doutor Baltazar Leite Rebello de Sousa e membros da sua equipa ministerial os Drs. Francisco António Gonçalves Ferreira, como secretário de Estado, substituído em 31 de Janeiro de 1972 pelo Dr. Alfredo Jorge Assis dos Santos, e D. Maria Rosa de Almeida Cárcamo Lobo, como subsecretário de Estado.

A legislação que permitiu a reestruturação do Instituto, centrada nos Decretos-Leis n.ºs 413/71 e 414/71, de 27 de Setembro, e Decreto n.º 35/72, de 31 de Janeiro, que constitui o seu Regulamento, foi publicada no I Volume dos «Arquivos do Instituto Nacional de Saúde», pág. 321 e seguintes, e diz respeito ao período de 27/9/71 a 31/12/72.

A colocação do Instituto, pela Portaria n.º 499/72, de 25 de Agosto, no regime de instalação de todos os seus serviços, completou as medidas legais anteriores no sentido de permitir uma ampla remodelação técnica e funcional dos serviços e o recrutamento mais rápido do pessoal.

Entretanto, o Ministério das Obras Públicas iniciou, em 1969, a construção do edifício destinado às novas instalações do Instituto, que deverá estar utilizável na segunda metade de 1973, tendo-se coordenado todas as iniciativas e acções de maneira que não sejam perdidas as possibilidades de progresso e actualização agora oferecidas. Um plano de preparação de pessoal e o escalonamento do seu recrutamento foi definido e está a ser executado cronologicamente.

Estas considerações aplicam-se à Delegação do Instituto no Porto, com a diferença de que as suas actuais instalações estão saturadas e a construção do novo edifício que lhe é destinado, e cujo programa foi já elaborado, só será iniciada na vigência do IV Plano de Fomento [1974-1979].

3—A reorganização do INSA pela legislação referida condicionou a elaboração dos seus planos de trabalho, nas linhas gerais, à definição duma política superior de acção técnica e científica e ao estabelecimento dos respectivos programas de investigação, pelo Conselho Consultivo, que é constituído pelo director e subdirector, presidente da Comissão Coordenadora da Investigação Médica, directores do Gabinete de Estudos e Planeamento e da anterior Escola Nacional de Saúde Pública e de Medicina Tropical, directores-gerais do Ministério e representantes da Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica e do Instituto de Alta Cultura.

Os programas são depois apreciados em pormenor pelo Conselho Técnico, que é constituído pelo director, subdirector, presidente da Comissão Coordenadora da Investigação Médica e responsáveis pelos departamentos e

principais serviços do INSA. A tradução orçamental destes planos e programas é também aprovada pelo Conselho Técnico.

Entretanto, em Outubro de 1972, foi criada para funcionar em ligação com o Instituto a Escola Nacional de Saúde Pública, por adaptação do sector de ensino que constituía o ramo da Saúde Pública da anterior Escola Nacional de Saúde Pública e de Medicina Tropical, sendo os seus planos de trabalho elaborados pela Direcção e pelo Conselho Escolar, aprovados por este e submetidos a confirmação ministerial de acordo com o seu estatuto e regulamento,

4—A orientação e as tarefas de ordem prática procuram respeitar os seguintes pontos normativos:

- que o trabalho laboratorial de apoio às autoridades sanitárias, incluindo as tarefas próprias de Laboratório de Saúde Pública para os distritos de Lisboa e Porto, é prioritário e inteiramente gratuito;
- que o trabalho laboratorial de saúde pública solicitado por entidades públicas ou particulares, colectivas ou individuais, remunerado de acordo com tabelas aprovadas superiormente, será sempre considerado quando o justifique o seu interesse público e sanitário e a capacidade de execução dos serviços o permita;
- que os estudos e trabalhos especiais de esclarecimento de problemas de saúde pública, da responsabilidade do INSA ou das autoridades de saúde, se inserem em planos e programas respeitando a política geral de investigação e terão completa prioridade quando a natureza ou a gravidade dos problemas em causa o justifique;
- que a execução das tarefas dizendo respeito ao ensino, à documentação e à informação a difundir pelo INSA constitui objectivo principal a desenvolver e aperfeiçoar e que todo o esforço deve ser feito para lhe dar alto nível de eficiência;
- que o apoio a prestar às Comissões e Grupos de Trabalho que funcionam junto do INSA se deve desenvolver sob a forma de secretariados técnico-administrativos eficientes.

5 — Durante o período de Outubro de 1968 a Fevereiro de 1972, a direcção do então Instituto Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge foi exercida pelo Dr. António Arnaldo de Carvalho Sampaio, em acumulação com as funções que desempenhava de Inspector Superior da Direcção-Geral de Saúde e de Professor da Escola Nacional de Saúde Pública e de Medicina Tropical, e, depois de 1970, de Director do Gabinete de Estudo e Planeamento.

6 — As considerações seguintes, distribuídas pelas cinco partes que constituem o presente relatório:

- 1) Actividades da Sede
- 2) Actividades da Delegação no Porto
- 3) Actividades da Escola Nacional de Saúde Pública
- 4) Vida administrativa e financeira do INSA e da Escola
- 5) Plano de actividades para 1973

procuram dar uma ideia de conjunto da situação no passado recente, da capacidade presente de trabalho e das perspectivas de evolução do Instituto, depois da reforma de 1971-1972, que lhe modificou o nome e o actualizou, dotando-o das correspondentes atribuições e de progressivos meios de trabalho.

## 1. ACTIVIDADES DA SEDE

No período que decorreu desde a publicação do último relatório, correspondente ao ano de 1964, não houve na Sede do Instituto — aparte as mudanças de director, em 1963 e 1967, e as pequenas alterações do quadro do pessoal, pelo despacho ministerial de 6/5/69 — e Portaria n.º 286/70, de 16 de Junho — actualização da estrutura orgânica, embora os laboratórios procurassem modernizar-se, dentro das possibilidades que se lhe ofereciam, e o ensino auxiliar de saúde pública tenha sido intensificado com dotações do III Plano de Fomento.

O ensino de saúde pública de pós-licenciatura foi, entretanto, extinto no Instituto, pela passagem, em 1966, dos cursos de Medicina Sanitária e de Medicina do Trabalho — o primeiro com a designação nova de Curso de Saúde Pública — para a Escola Nacional de Saúde Pública e de Medicina Tropical, então criada.

A reforma de 1971-1972, já referida no I Volume destes «Arquivos», deu ao INSA os seguintes órgãos e serviços (artigo 4.º do Regulamento):

- a) A direcção
- b) Um conselho consultivo
- c) Um conselho técnico
- d) Um conselho administrativo
- e) Departamento laboratoriais e outros departamentos especializados
- f) Centros de estudo e centros de investigação
- g) Serviços administrativos
- h) As delegações

dos quais, os correspondentes às alíneas a) a g) dizem respeito à Sede.

Junto da direcção funciona ainda a Comissão Coordenadora da Investigação Médica (artigo 12.º do Regulamento) e passam a funcionar na Sede do INSA os seguintes conselhos e comissões (artigo 5.º do Regulamento):

- a) O Conselho Técnico da Comprovação de Medicamentos
- b) A Comissão Nacional Permanente da Farmacopeia Portuguesa
- c) A Comissão Técnica dos Novos Medicamentos
- d) A Comissão Nacional para o Estudo dos Problemas da Nutrição
- e) O Grupo de Trabalho sobre a Poluição do Ar.

De acordo com os artigos 21.º (número 2) do Decreto-Lei n.º 413/71, de 27 de Setembro, e 23.º do Regulamento serão integrados no INSA o Centro Nacional da Gripe, o Centro de Estudos da Paramiloidose e o Instituto de Malariologia de Águas de Moura, funcionando já o primeiro dentro do INSA e tendo sido integrado o segundo, por despacho ministerial de 21 de Setembro de 1972. O Instituto de Malariologia só deverá ser integrado no decurso de 1973.

Pelo artigo 17.º do Regulamento, o INSA passa a dispor dos seguintes departamentos:

- a) Biologia e Imunologia
- b) Bioquímica e biofísica
- c) Higiene e saneamento do meio ambiente



- d) Medicina do trabalho e higiene industrial
- e) Nutrição e higiene dos alimentos
- f) Comprovação de medicamentos, vacinas, soros e outros produtos biológicos
- g) Epidemiologia e bioestatística
- h) Documentação e informática

divididos em secções e subsecções. Mas este esquema pode ser alterado pelo director, ouvido o conselho técnico, o que permitirá adaptar, progressivamente, os anteriores serviços laboratoriais, tal como são referidos ainda neste relatório, à nova estrutura.

Nas notas que se seguem, os responsáveis pelos serviços descrevem as actividades destes e fazem referências às instalações, ao equipamento e ao pessoal.

### 1.1 Laboratório de Química Sanitária

*Maria Ernestina da Silva Graça*

O campo de trabalho do sector de Química Sanitária — o mais antigo sector laboratorial do Instituto, designado inicialmente por Laboratório de Química Sanitária e mais tarde por Laboratório de Higiene da Alimentação e Bromatologia — tem sofrido nos últimos anos profundas modificações que obrigaram a encarar novos problemas e a utilizar métodos analíticos cada vez mais sensíveis e técnicas mais diferenciadas.

As razões destas modificações são múltiplas mas apontaremos as que nos parecerem mais determinantes: a actividade crescente desenvolvida pelos serviços de saúde; desenvolvimento da indústria alimentar extensivo a quase todos os géneros alimentícios, o que implica a necessidade de emprego duma gama cada vez mais extensa de substâncias aditivas; a introdução no mercado dum número sempre crescente de alimentos enriquecidos e dietéticos; maiores exigências no que diz respeito à composição e estado higiénico dos alimentos; o uso cada vez mais generalizado de embalagens de material plástico; finalmente, a preocupação mais esclarecida e consciente dos perigos que a poluição, seja da água, seja dos alimentos, representa para a saúde do homem.

Para corresponder às exigências que têm surgido nestes campos relacionados com a sua actividade, o Laboratório de Química Sanitária

tem montado e aperfeiçoado as necessárias técnicas dentro das suas reduzidas possibilidades em pessoal e em material.

As instalações já muito saturadas e a escassez de pessoal têm posto, porém, grandes dificuldades à necessária modernização do serviço de maneira a lhe ser possível satisfazer as exigências actuais.

A reestruturação do Instituto em consequência da legislação de 1971/72, abriu-lhe novas perspectivas, permitindo com o alargamento dos quadros, tendo já em vista a passagem dos serviços para as novas instalações, o início do recrutamento de pessoal em novos moldes, quer no que respeita à facilidade de ingresso quer à sua especialização para acesso. Assim, já este ano a entrada de novas unidades de trabalho com formação universitária e a experiência adquirida pelos elementos com a mesma formação recrutados no ano anterior, permitiram um marcado avanço na realização dos nossos planos de trabalho, resolvendo-se ou estando em vias de solução alguns dos problemas mais instantes.

Quanto a aparelhagem diferenciada, permitindo o emprego de técnicas instrumentais mais rápidas e precisas, foram adquiridos, em 1972, os seguintes aparelhos:

- Espectrofotofluorímetro Perkin-Elmer, modelo 203, para medidas de fluorescência.
- Espectrofotómetro de absorção atómica Perkin-Elmer, modelo 403, que completou o sector de espectrofotometria do laboratório. Este aparelho está já montado e em regime de experimentação para os elementos ferro e cobre.
- Cromatógrafo Perkin-Elmer, modelo F11, equipado com programador de temperatura e um forno para acopular com a unidade de captura de electrões adquirida anteriormente. Este equipamento amplia e completa o existente permitindo ao laboratório ficar a dispor dum cromatógrafo com detector de captura de electrões indispensável para o doseamento de resíduos de pesticidas.

No serviço de Química Sanitária consideram-se três sectores diferenciados, embora mantendo entre si, particularmente os dois últimos, grande ligação:

- 1 — Águas de abastecimento e residuais;
- 2 — Bromatologia;
- 3 — Toxicologia dos alimentos.

O número total de amostras analisadas foi de 1882, o que corresponde a um total de cerca de 20 000 determinações analíticas efectuadas.

Foram ainda realizadas no laboratório de Bromatologia 37 análises de recurso, respeitantes a bromatologia geral, relativas a Processos da Inspeção Geral dos Produtos Agrícolas e Industriais (IGPAI), solicitadas ao Instituto por aquela entidade.

Ainda dentro das actividades deste sector se mencionam as aulas práticas dos alunos dos Cursos de formação de pessoal de Saúde Pública — técnicos superiores de laboratório e preparadores — e os respectivos estágios; as demonstrações sobre prática de análise de águas de abastecimento aos alunos do Curso de Médicos de Saúde Pública e ainda os estágios realizados a seu pedido por licenciados, particularmente em Farmácia.

O quadro de pessoal sofreu durante o ano as modificações seguintes:

- Passagem dum Técnico especialista à categoria de Investigador.
- Passagem dum 2.º Assistente à categoria de 1.º.
- Contratadas como Bolseiras duas licenciadas em Farmácia que há alguns meses estagiavam nos laboratórios.
- Contratados como Bolseiros, em tempo integral, um licenciado em Farmácia, uma licenciada em Química e um aluno do curso de Farmácia a que apenas falta uma cadeira para completar o curso.
- Passagem duma Técnica auxiliar de 2.ª à categoria de 1.ª.
- Passagem de duas Preparadoras de 1.ª à categoria de Técnicas auxiliares de 2.ª.
- Entrada de duas Preparadoras de 2.ª.
- Desligaram-se do serviço dois Bolseiros, um em tempo integral, outro em meio tempo, ambos licenciados em Farmácia.
- Deixou de ser Bolseira do INSA por ter sido nomeada Técnica de 3.ª na Direcção-Geral dos Hospitais uma licenciada em Engenharia Química que continuou, porém, a prestar serviço no laboratório das águas.

No fim do ano o Quadro tinha a seguinte constituição:

|                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| Investigador .....                | 1 |
| Técnico especialista .....        | 1 |
| 1.º Assistente .....              | 1 |
| 2.ºs Assistentes .....            | 4 |
| Bolseiros em tempo integral ..... | 5 |
| Bolseiros em tempo parcial .....  | 1 |
| Técnicos auxiliares de 1.ª .....  | 2 |
| Técnicos auxiliares de 2.ª .....  | 3 |
| Preparadora de 1.ª .....          | 1 |
| Preparadores de 2.ª .....         | 4 |
| Ajudantes de laboratório .....    | 3 |
| Auxiliar de laboratório .....     | 0 |
| Serventuário .....                | 1 |

Um dos Técnicos auxiliares de 2.ª pertence ao Serviço de Profilaxia da Direcção-Geral de Saúde prestando serviço no laboratório das águas.

Faremos a seguir referência à actividade específica de cada um dos sectores da secção e ao quadro do seu pessoal.

#### 1.2.1. Águas de abastecimento e residuais

A actividade deste sector tem vindo a aumentar no que se refere quer à quantidade de trabalho quer à sua qualidade. O número de amostras entradas em 1972 foi na sua totalidade de 1008, o que corresponde em números redondos a 14 000 determinações analíticas realizadas.

A distribuição das amostras foi a seguinte:

1.2.1.1 *Águas de abastecimento* — num total de 569 amostras requisitadas, 481 por entidades oficiais, 88 por particulares.

Nestas amostras com um número médio de 12 determinações em cada uma, foram muitas vezes pedidos, além das determinações habituais, os doseamentos de sulfatos, cálcio, magnésio, sódio, fluor e ferro.

1.2.1.2 *Água do mar* — num total de 279 amostras. Estas análises inserem-se no plano de colaboração laboratorial do INSA com a Comissão Nacional do Ambiente tendo em vista o estudo de problemas de poluição da água do mar. Assim, para a execução do Projecto Pi-

loto para o estudo da poluição do Estuário do Tejo na sua margem norte, foram feitas em dois períodos — Agosto e Dezembro de 1972 — 271 amostras de água do estuário. Nestas amostras, enviadas diariamente ao laboratório, além do protocolo habitual de análise de águas residuais foram realizadas outras determinações tais como: gorduras, fenois, detergentes, fósforo total e ortofosfatos, carência de cloro, num total de 17 determinações por amostra.

A realização deste plano de trabalho, num prazo curto e em tão grande número de amostras, só foi possível pelo esforço e dedicação de todo o pessoal do laboratório das águas que trabalhou diariamente, incluindo ao domingo, por períodos de tempo que excediam o seu horário normal.

Ainda em colaboração com a Comissão Nacional do Ambiente foram feitas as análises de 7 amostras de água do mar, colhidas na Ilha do Sal, em Cabo Verde, e duas amostras de água da lagoa de Óbidos.

1.2.1.3 *Águas residuais* — num total de 170 amostras distribuídas por duas categorias: *urbanas e residuais*.

Das águas residuais urbanas, 88 amostras provinham de colectores da cidade de Lisboa, 9 de colectores da Costa do Sol. A finalidade destas análises foi conhecer as características dos esgotos para efeito de estudo de futuras estações de tratamento a montar.

No grupo das águas residuais industriais incluem-se 34 amostras de efluentes fabris, 19 dos afluentes onde são rejeitados e ainda 10 amostras de águas residuais colhidas no Estuário do Tejo, enviadas pela Capitania do Porto de Lisboa, e relacionadas com a poluição do estuário pelos derrames dos navios e de indústrias locais.

Os efluentes fabris provinham das mais variadas indústrias: alimentar, química e farmacêutica, dos têxteis, do papel e da celulose, da electrónica.

A análise das águas residuais industriais é muito mais complexa do que a das urbanas, podendo dizer-se que cada indústria tem os seus poluidores próprios, o que exige um protocolo de análise particular. Assim, além das determinações correntes nas águas residuais urbanas outras determinações tais como gorduras, açúcares, azoto orgânico, fenois, produtos do petróleo, detergentes, metais, metalóides, cianetos, etc., são indispensáveis para ajuizar da qualidade do efluente. Por cada

amostra de água residual deve contar-se com o mínimo de 17 determinações quantitativas, número pouco significativo por não traduzir as dificuldades técnicas e a morosidade que muitas delas apresentam.

Não podemos deixar de fazer referência à colheita de amostras de águas residuais, que é necessariamente feita por pessoal especializado do laboratório. Este pessoal tem assim que se deslocar, muitas vezes a lugares distantes, o que representa, além de grande fadiga, perda de tempo em relação ao trabalho do laboratório. Embora seja grande o número de pedidos de análises, o laboratório apenas pode proceder a colheitas uma vez por semana dadas não só as dificuldades de deslocação e o tempo perdido, mas ainda o volume de trabalho que estas análises exigem ao laboratório, muitas vezes já saturado com grande número de outras amostras de água.

Além do elevado número de análises realizadas tem sido feito um notável esforço no sentido de actualizar os métodos de análise e de introduzir na rotina novos métodos, segundo as recomendações internacionais.

Durante o ano de 1972 foram montados ou aperfeiçoados os métodos seguintes:

- Doseamento do ferro nos efluentes industriais, espectrofotometricamente, pela fenantrolina.
- Doseamento dos nitratos nos efluentes industriais, espectrofotometricamente, pelo ácido sulfanílico.
- Doseamento da sílica na água do mar, espectrofotometricamente, pelo nitromolibdato.
- Doseamento dos detergentes aniónicos por técnica proposta por Rodier (1971).
- Doseamento dos pigmentos da fotossíntese na água do mar permitindo distinguir as clorofilas A, B e C e os pigmentos astacínicos.

Realizaram estágios no laboratório das águas durante este ano os técnicos do Curso Intensivo de Saúde Pública, os alunos do Curso para Preparadores dos Laboratórios de Saúde e um técnico do Gabinete de Sines.

Ainda este ano um trabalho sobre águas residuais da indústria, a publicar nos Arquivos do INSA, foi redigido, estando em vias de impressão. Neste trabalho, «Subsídios para o

conhecimento da poluição dos cursos de água por efluentes industriais», dá-se conta dos resultados analíticos de cerca de 200 amostras de efluentes industriais, provenientes de 33 tipos de indústria, e dos respectivos afluentes receptores, colhidos a montante e a jusante do local da descarga, fazendo-se sobre eles os comentários que pareceram pertinentes. Estes resultados referem-se a amostras que têm vindo a ser analisadas nos últimos anos figurando já entre eles os respeitantes a 4 amostras das 63 analisadas este ano.

O pessoal do laboratório das águas é constituído pelos seguintes elementos:

- 1 1.º Assistente — licenciada em Farmácia
- 1 Técnica auxiliar de 2.º
- 1 Preparadora

Prestam ainda serviço neste laboratório uma Eng.ª química, Técnica de 3.ª da D. G. H., e uma Técnica de 1.ª dos Serviços de Profilaxia da D. G. S., elementos que no próximo ano devem ingressar nos quadros de pessoal do INSA.

Para as necessidades actuais de trabalho são indispensáveis quatro elementos mais: dois preparadores, um ajudante de laboratório e um auxiliar de laboratório. Nas futuras instalações do Instituto, continuando a verificar-se o aumento do número de pedidos de análises, julgamos que haverá necessidade de recrutar mais pessoal, em particular tendo em vista as colheitas de amostras.

### 1.2.2 Bromatologia

Neste sector dos serviços de Química, além da análise dos géneros alimentícios, tendo em vista a identidade e pureza, seja a composição, outros produtos são analisados tais como matérias-primas para o fabrico de géneros alimentícios, substâncias aditivas, rações para gado, etc., e até produtos não alimentares que tradicionalmente são aceites no Instituto para análise (produtos biológicos, óleos de peixe, óleos de fígados, adubos, ceras, etc.).

Para responder às exigências que derivam desta gama variada de produtos o sector da Bromatologia dispõe, além do laboratório geral, de secções diferenciadas de Vitaminas e de Cromatografia — em coluna, em papel, em camada fina e gás líquido — cujo apetrechamento e especialização se têm vindo a processar

desde há alguns anos. A determinação dos nutrientes minerais nos alimentos, por economia e aproveitamento de pessoal e de material, está actualmente a cargo do laboratório de Toxicologia dos alimentos, que tem em rotina os métodos de doseamento dos metais e metalóides e onde recentemente foi instalado o aparelho de espectrofotometria por absorção atómica.

O movimento de análises no sector de Bromatologia foi de 600 amostras, de natureza muito variada.

Dos produtos analisados destacaremos dois grupos que consideramos mais importantes, quer pela qualidade e quantidade de trabalho analítico que a sua análise exige, quer pela importância nos campos da nutrição e da higiene da alimentação. Referimo-nos aos alimentos compostos, entre os quais se incluem os «dietéticos», e às substâncias aditivas para géneros alimentícios.

No que respeita ao primeiro grupo a sua análise comporta, em geral, o doseamento dos componentes energéticos, dos nutrientes minerais e das vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, PP e C, muitas vezes ainda da A e da E.

Outras determinações são ainda indispensáveis para conhecimento de características essenciais para a apreciação do produto, quer quanto à composição declarada, quer quanto à presença de determinados aditivos quer, ainda, quanto ao estado de conservação.

A cromatografia em camada fina para a identificação dos diferentes tipos de hidratos de carbono e de aditivos presentes e a cromatografia gás/líquido para a identificação da qualidade da matéria gorda, têm sido valiosas permitindo grande avanço no campo analítico.

A grande lacuna do laboratório no que respeita à análise dos alimentos compostos está no campo das proteínas dado que para o doseamento dos ácidos aminados essenciais, tantas vezes indispensável para a apreciação dum produto dietético, dispomos apenas de métodos químicos clássicos, válidos só para alguns deles e de técnicas laboriosas e pouco exactas. Os métodos por cromatografia que têm sido ensaiados, ainda que permitam a sua separação, não são adequados à avaliação quantitativa. A aquisição dum auto-analisador torna-se indispensável num serviço que tem a seu cargo a análise dos produtos dietéticos para a sua apreciação.

Foram analisados vários tipos de elementos compostos — alimentos para lactentes (leites

ácidos, humanizados, enriquecidos, etc.), farinhas compostas, enriquecidas, massas dietéticas, extractos de leveduras, alimentos à base de cereais e de extractos de leveduras, produtos para diabéticos, etc.—num total de 38 amostras, número bem pouco significativo pois está longe de dar ideia da qualidade e volume do trabalho analítico realizado.

Estas análises foram requisitadas na sua quase totalidade por entidades particulares para conhecimento ou «contrôle» da composição ou para fins de apreciação como alimento dietético segundo as disposições do Dec.º n.º 315/70.

Quanto às substâncias aditivas para géneros alimentícios—corantes, conservantes, antioxidantes, estabilizantes, espessantes, agentes de enriquecimento, etc.—foram analisadas 172 amostras, com um número de determinações da ordem de 800. É toda uma gama de produtos para os quais, salvo para os corantes, não há especificações, métodos de análises, bases de apreciação, sendo por isso necessário consultar bibliografia, montar técnicas adequadas, por vezes muito diferenciadas, em resumo, procurar características e métodos de análise que permitam a apreciação do produto quanto à pureza e finalidade de emprego. Acresce ainda que muitas vezes o industrial importa um produto complexo, mistura de ingredientes de fabrico com os aditivos desejados, pretendendo desse produto um boletim de análise que lhe diga se ele «obedece à lei»...

Para a análise dos aditivos a cromatografia em camada fina tem sido um valioso auxiliar estando já em rotina técnicas, como adiante referiremos, para a identificação de algumas categorias de aditivos correntemente usados. Nos planos de trabalho do sector de estudo de métodos figura o estudo de técnicas analíticas para outros.

Faremos a seguir referências mais pormenorizadas às secções que actualmente consideramos na Bromatologia e que de futuro certamente deverão ser ajustadas às novas instalações do Instituto consoante o desenvolvimento do serviço e as suas necessidades.

**1.2.2.1 Bromatologia geral**—Este laboratório tem a seu cargo a análise corrente dos produtos que dão entrada na secção. Assim, ali se procede às determinações das necessárias características físicas, químicas e químico-higiénicas para apreciação da sua identidade, pureza

e estado de conservação e também ao doseamento global da gordura, proteína, açúcares, amido e minerais.

É, portanto, o laboratório geral que centraliza a entrada das amostras, elaborando para cada uma o protocolo de análise adequado ao fim em vista, realizando as determinações que estiverem no seu âmbito e encaminhando-as, quando necessário, para os sectores especializados onde a análise será complementada. Em nosso entender para eficiência e simplicidade do serviço todas as amostras destinadas ao sector de Química deverão continuar a dar entrada neste laboratório central e daí serem distribuídas para as secções competentes, excepto as amostras de água de abastecimento e residuais que darão entrada directamente no respectivo laboratório.

Este laboratório tem ainda a seu cargo as aulas práticas e os estágios dos alunos dos Cursos de formação de pessoal de Saúde Pública: técnicos superiores de laboratório e preparadores.

O quadro de pessoal tem actualmente a seguinte constituição:

- 1—Técnico especialista—Licenciada em Ciências Físico-Químicas
- 1—Assistente de 2.ª—Licenciada em Farmácia
- 2—Bolsseiros—Licenciadas em Farmácia
- 1—Técnica auxiliar de 2.ª
- 1—Preparadora

A Técnica especialista, com a sua larga experiência, dá também, como lhe compete, a sua colaboração aos outros sectores, nomeadamente ao de Toxicologia dos alimentos. Neste quadro há grande necessidade de mais um técnico auxiliar, um preparador e um auxiliar de laboratório.

**1.2.2.2 Vitaminas. Cromatografia em coluna, em papel e em camada fina**—Esta secção, onde estão integrados os elementos de formação universitária recrutados nos últimos dois anos, compreende, por economia e aproveitamento de pessoal, os sectores muito diferenciados de doseamento de vitaminas e de aplicação de técnicas de cromatografia em coluna, em papel e em camada fina à pesquisa ou doseamento de várias substâncias. Tem ainda a seu cargo o estudo de novos métodos de aná-

lise, montagem e aferição das respectivas técnicas, secção que consideramos indispensável num sector laboratorial.

Apontamos a seguir, sumariamente, as mais importantes actividades do laboratório durante o ano.

**1.2.2.2.1 Vitaminas** — Dada a complexidade da maior parte dos alimentos houve a necessidade de rever os métodos de doseamento das diferentes vitaminas, tendo-se actualizado as técnicas seguidas em conformidade com o disposto na última edição do «Vitamin Assay».

Para a vitamina A houve interesse em montar o método de absorção no U. V. para produtos enriquecidos. Mantém-se, contudo, o método colorimétrico de Carr-Price para muitos produtos alimentares, segundo as recomendações do «Vitamin Assay».

Para as vitaminas B<sub>1</sub> B<sub>2</sub> as técnicas foram melhoradas no sentido da purificação prévia das amostras a fim de eliminar substâncias interferentes.

Para o doseamento da Vitamina PP nos alimentos fortemente corados, em que a técnica corrente não é aplicável, houve necessidade de montar os métodos indicados no «Vitamin Assay» e designados por Método Químico II. Estes métodos, de técnicas laboriosas e demoradas, em particular o Químico II, estão a ser aplicados já na rotina, quando a cor do produto assim o exige.

#### 1.2.2.2.2 *Cromatografia em camada fina*

Técnicas estudadas e já em rotina:

- Separação e identificação de mono e oligosacarídeos.
- Separação e identificação de substâncias conservantes: ácido benzoico, ácido salicílico, ácido sórbico, ácido p-hidroxibenzoico e seus esteres metílico, etílico e propílico.
- Separação e identificação de alguns edulcorantes: ciclamato de sódio, sacarina e dulcina.

Técnicas ainda em estudo

- Separação e identificação de antioxidantes: butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianidol (BHA), difenil-p-fenilenadamina (DPPD), ácido nordihidroguarético (NDGA), galhatos,  $\alpha$ -tocoferol, hidroquinona, resorcina, eugenol, timol e vanilina.

**1.2.2.2.3 Doseamento da cafeína em cafés descafeinados e em bebidas não alcoólicas** (cola, pepsicola, etc.) — Foi estudado e está em rotina o método AOAC (1970), por cromatografia em coluna e espectrofotometria.

**1.2.2.2.4 Doseamento do sorbitol e da sacarina em produtos para diabéticos** — A sacarina foi doseada por espectrofotometria no U. V. e o sorbitol por titulação iodométrica.

**1.2.2.2.5 Doseamento da lactalbumina em leites humanizados** — O método clássico (AOAC; 1970) para determinação das fracções lactalbumina e caseína da proteína do leite, baseado na separação por acidificação das suas fracções, não se mostrou válido para o leite humanizado. Foi por isso ensaiado outro método, método alemão modificado para este produto nos laboratórios Nestlé, na Suíça, e que para este fim nos foi cedido.

O método, embora muito delicado, laborioso e dispendioso, foi aplicado não só a leite humanizado mas ainda a leite de mulher, tendo os bons resultados obtidos levado à sua montagem em rotina.

Por este método fez-se o estudo da composição proteica de 11 amostras de leite de mulher e 7 de leites humanizados. Apenas três destes leites apresentavam maternização proteica.

Sobre este trabalho será publicada uma nota na 2.ª Secção deste volume dos Arquivos do INSA.

**1.2.2.2.6 Doseamento da nicotina no tabaco** — Estando o Instituto, no campo da saúde, interessado em estudos sobre o tabaco, o doseamento da nicotina poderá considerar-se como a fase inicial desses estudos.

Foram ensaiados comparativamente os métodos gravimétrico e espectrofotométrico (AOAC 1970). Deu-se preferência ao segundo método pela boa reprodutibilidade que se verificou nos resultados obtidos e ainda por ser de técnica mais simples.

Foram analisadas trintas e três marcas diferentes de cigarros nacionais e estrangeiros. Os resultados obtidos figuram em nota da 2.ª Secção deste volume dos Arquivos do INSA.

**1.2.2.2.7 Doseamento do álcool no sangue (alcoolemia)** — Pelo «Grupo de Estudo dos diplomas relativos à condução sobre a influência do álcool» em que o INSA está representado, foi



solicitada a opinião do Instituto quanto ao método de doseamento do álcool no sangue dos condutores (alcoolemia) a figurar nos respectivos diplomas.

O método corrente na Europa para o doseamento do álcool no sangue dos condutores é o de Widmark, sendo largamente aplicado o de Kozelka-Hine para o sangue do cadáver, método em rotina no Instituto de Medicina Legal de Lisboa.

Em colaboração com o Instituto de Medicina Legal, foram feitos ensaios comparativos dos dois métodos em trinta e oito amostras de sangue que nos foram cedidas por aquele Instituto.

Foi proposto e aceite por aquela Comissão o método de Widmark, por ser de mais fácil execução e de menor exigência de material.

Além do estudo dos métodos apontados foram realizados no laboratório todos os doseamentos de vitaminas e a pesquisa e a identificação de hidratos de carbono e de substâncias aditivas nos alimentos.

A constituição do pessoal deste sector sofreu algumas alterações durante o ano, o que prejudicou, como é natural, o seu funcionamento. Assim, em Agosto desligou-se do serviço um bolseiro em tempo integral, licenciado em Farmácia e que se revelara um bom elemento de trabalho. No mês seguinte foi, porém, possível preencher aquela vaga por outro licenciado em Farmácia. Em Dezembro foi admitido um bolseiro, também em tempo inteiro, a que falta apenas uma cadeira para completar a licenciatura em Farmácia, e ainda uma preparadora.

Actualmente o sector é composto pelos seguintes elementos:

- 1 — Assistente de 2.ª — licenciada em Farmácia
- 2 — Bolseiros em tempo inteiro — licenciados em Farmácia
- 1 — Bolseiro em meio tempo — licenciado em Farmácia
- 1 — Técnica auxiliar de 1.ª — curso profissional de Farmácia
- 1 — Preparadora de 1.ª
- 1 — Preparadora de 2.ª

Para as futuras instalações do Instituto está previsto o recrutamento de mais um técnico auxiliar, dois preparadores e um auxiliar de laboratório.

A 2.ª Assistente, Dr.ª Eugénia Amaral, realizou durante o ano dois estágios, um no Instituto Nacional de Investigação Industrial (INII), outro na Suíça.

O estágio no INII, no sector de espectrometria de absorção no infra-vermelho, do Departamento de Química — 2.ª Secção, teve a duração de 5 semanas.

O estágio na Suíça, com a duração de dois meses, foi dividido em dois períodos: um mês nos Laboratórios do Serviço Federal de Higiene Pública — Subdivisão de Contrôlo de Produtos Alimentares, em Berna; o tempo restante nos laboratórios Nestlé, em Vevey e em Vuadens.

Estes estágios foram de grande interesse para os serviços.

**1.2.2.3 Cromatografia gás/líquido** — A cromatografia gás/líquido, técnica muito diferenciada e de alta sensibilidade, tem hoje largo emprego em muitos campos de análise. No nosso sector a sua aplicação tem, por enquanto, sido limitada à análise das gorduras, dada a necessidade de identificação e apreciação da pureza das gorduras alimentares, em natureza ou incorporadas nos alimentos, o que só é possível com base no conhecimento da sua composição qualitativa e quantitativa em ácidos gordos. A experiência apreciável já adquirida, quer quanto à técnica quer quanto à interpretação dos cromatogramas, tem permitido a solução de vários problemas analíticos neste campo.

Foram analisadas durante o ano amostras de diferentes produtos: manteiga, margarina, «shortning», azeite, leites em pó, dietéticos e humanizados, cacau, chocolate, num total de 100 amostras. Estas análises foram, umas pedidas pelos interessados, outra complementaram a análise bromatológica, outras ainda tiveram por finalidade o estudo do produto.

Neste campo destacaremos o estudo da gordura do cacau para estabelecimento da sua composição em ácidos gordos para o que foram analisadas cerca de 60 amostras de cacau e chocolate. Dos resultados deste estudo, já iniciado no ano anterior, se dará conta em trabalho que está a ser redigido e será publicado nos Arquivos do Instituto.

Nos planos de trabalho deste laboratório, para alargamento da sua actividade a outros

campos, figuram em primeiro lugar as determinações de esteróis e de resíduos de pesticidas nos alimentos.

Quanto aos esteróis, está já em vias de realização a montagem do método para a sua determinação, método em que a cromatografia em fase gasosa se associa à cromatografia em camada fina.

Embora num estágio que realizou nos laboratórios Wolff, em Paris, a 2.<sup>a</sup> Assistente, que tem a seu cargo o laboratório, tenha seguido estas técnicas e nelas colaborado, a sua afinação e a interpretação dos resultados requerem, pelas dificuldades que apresentam, experimentação aturada.

No que se refere à pesquisa e doseamentos de resíduos de pesticidas em alimentos, o problema é ainda mais complexo dada a vasta gama — sempre crescente — de pesticidas utilizados e a exigência de emprego de métodos muito diferenciados e de grande sensibilidade.

Numa primeira fase é nossa intenção considerar apenas 3 ou 4 pesticidas de uso corrente no mercado nacional e para os quais o Comité de Pesticidas da Comissão do Codex Alimentarius já estabeleceu para os seus resíduos em alguns alimentos limites máximos considerados toleráveis.

Com esse fim tem sido feita a necessária pesquisa bibliográfica para conhecimento da sua estrutura, propriedades, finalidades e sobretudo dos métodos de extracção e de purificação indispensáveis para aplicação do método de doseamento. Embora se disponha de métodos químicos para o doseamento de alguns pesticidas, o método por cromatografia em fase gasosa em particular com captura de electrões é o mais sensível, sendo mesmo para alguns tipos de pesticidas o único aplicável. Neste método a cromatografia gás/líquido é muitas vezes precedida de uma cromatografia em camada fina destinada a purificar o produto que se pretende dosear.

Além da consulta bibliográfica, e do estudo das técnicas de cromatografia em camada fina, procedeu-se à montagem do cromatógrafo Perkin-Elmer F11 com a unidade de captura de electrões. Nos ensaios realizados com padrões verificou-se, porém, que a fonte radioactiva do detector está desactivada, o que obrigou a interromper o trabalho até que se faça a substituição daquela fonte cuja chegada se aguarda já há alguns meses.

Para obter um melhor e mais rápido rendimento de trabalho a 2.<sup>a</sup> Assistente, Dr.<sup>a</sup> Beatriz

Monteiro, irá fazer um estágio no Laboratório de Fitofarmacologia, em Oeiras, na respectiva secção.

Estagiaram neste laboratório durante o ano uma assistente do I. P. C. P. e uma engenheira química realizou ali o seu estágio de fim de curso do I. S. T. com a duração regular de três meses.

Este laboratório tem estado a cargo duma única funcionária, 2.<sup>a</sup> Assistente licenciada em Biologia, que tem sido auxiliada apenas por uma preparadora que também presta serviço no laboratório de Toxicologia, o que muito limita a sua eficácia em relação a cada uma das secções. Em 1971, foi adstrito ao laboratório um licenciado em Farmácia na qualidade de bolseiro. Foi, porém, um auxiliar fugaz dado que passados poucos meses, em Fevereiro deste ano, se desligou dos serviços por ter sido colocado na Universidade de Luanda.

Em Outubro foi, porém, possível contratar novo bolseiro e assim, a partir de Novembro, presta serviço no laboratório uma licenciada em Química, sendo portanto o pessoal do laboratório actualmente constituído por dois elementos:

1 — 2.<sup>a</sup> Assistente — licenciada em Biologia

1 — Bolseiro — licenciada em Química

A falta de pessoal auxiliar é evidente, estando prevista, de momento, a entrada de um preparador e de um técnico auxiliar.

Pela 2.<sup>a</sup> Assistente, Dr.<sup>a</sup> Beatriz Monteiro, foi realizado no Departamento de Bromatologia da Faculdade de Farmácia de Madrid um estágio sobre cromatografia em fase gasosa aplicada ao estudo de gorduras comestíveis, em Fevereiro de 1972.

Este estágio, embora com a curta duração de 15 dias, teve grande interesse por esclarecer algumas dúvidas surgidas na aplicação daquela técnica a determinadas gorduras, em particular à do cacau.

### 1.2.3 *Toxicologia dos alimentos*

Esta secção, distinta da de Bromatologia mas muito ligada a ela, tem a seu cargo a análise toxicológica corrente dos géneros alimentícios, das embalagens para géneros alimentícios, de líquidos biológicos, etc.

Nos géneros alimentícios suspeitos de conterem substâncias estranhas, tóxicas ou não, que os tornem impróprios ou inadequados para



consumo, é feita a pesquisa de arsénio e, se necessário, o seu doseamento e a prova biológica em ratinhos de laboratório. Estes ensaios são complementados com outros julgados necessários, tais como: exame microscópico, pH, pesquisa de alcalóides, de sal, de sulfato de sódio, determinação de características que identifiquem o produto e permitam ajuizar da sua pureza, etc. Além do arsénio, outros elementos, tais como o chumbo e o cobre, são frequentemente pesquisados e doseados. É todo um protocolo de análise a elaborar consoante a suspeita formulada e a natureza do produto.

Foram analisadas 56 amostras de géneros alimentícios abrangendo os mais variados produtos, entre eles alguns já cozinhados.

O problema da contaminação dos alimentos pelas embalagens que os acondicionam, seja qual for a sua natureza, tem merecido a nível internacional grande atenção nos últimos anos, dado o uso cada vez mais generalizado da venda de produtos pré-embalados. Em particular as embalagens de material plástico, que podem acondicionar os géneros alimentícios por apreciáveis períodos de tempo, muitas vezes em condições de temperaturas desfavoráveis, levantam problemas sanitários de considerar pela possibilidade de migração para os alimentos de substâncias adjuvantes que entram no seu fabrico. Daí os pedidos de análise destas embalagens, pelos fabricantes ou pelas firmas embaladoras, terem vindo a aumentar, o que de resto é também motivado pela exigência legal de, para dados géneros alimentícios e para águas de abastecimento, haver uma apreciação sanitária da embalagem ou do tubo pela D. G. S., com base em análise realizada no Instituto.

Além das embalagens já fabricadas os industriais para seu esclarecimento pedem muitas vezes a análise das substâncias de fabrico: resinas, pigmentos, estabilizantes, etc.

Foram analisadas 9 amostras de embalagens para géneros alimentícios — bidões, garrafas, garrafões, película retráctil —, 4 de vedantes, 1 de tubagens para condução de água de abastecimento e ainda 10 amostras de resinas e pigmentos de fabrico.

Nestas amostras, com um extenso protocolo de análise, além da pesquisa e doseamento de fósforo, bário, chumbo, arsénio e algumas vezes cádmio, procede-se à realização de ensaios de extracção adequados que permitam avaliar a possível migração para o género alimentício dos componentes do material da em-

balagem. Nas 24 amostras o número de determinações realizadas excede 300, mas este número pouco diz quanto às dificuldades técnicas e ao volume de trabalho que a análise de cada amostra representa.

Além das embalagens de material plástico foram analisadas 3 amostras de sacos de papel destinados a acondicionamento de açúcar e de massas alimentícias.

Foram doseados também elementos tóxicos em produtos biológicos: chumbo em duas amostras de urina e sete de sangue; arsénio em uma amostra de urina e duas de cabelos; cobre em uma amostra de urina e outra de sangue.

Quanto a pessoal, durante o ano de 1972, como já sucedera no ano anterior, o funcionamento deste laboratório foi mantido com esforço pela Técnica especialista, uma Técnica de 1.ª e uma Preparadora que davam ainda a sua colaboração ao sector da Bromatologia. Esta situação anormal resultou da saída, em comissão de serviço por dois anos em Luanda, da 2.ª Assistente que tinha a seu cargo o laboratório, e ainda de se ter desligado do serviço a Técnica auxiliar de 2.ª desta secção, possuidora já de grande experiência. Com regresso, em fins de Novembro, da 2.ª Assistente, o pessoal desta secção ficou assim constituído:

1 — 2.ª Assistente — licenciada em Farmácia

1 — Técnica auxiliar de 1.ª — Curso profissional de Farmácia

1 — Preparadora, comum a este laboratório e ao de Cromatografia g/l

A necessidade de pessoal auxiliar é flagrante, sendo desde já previsto o recrutamento de um preparador, de um ajudante de laboratório e de um auxiliar de laboratório.

Além do trabalho de rotina tem sido realizado no laboratório o doseamento do estanho em conservas de alimentos enlatados à venda no mercado. A finalidade deste estudo é, além do interesse sanitário, dar satisfação às solicitações da Comissão do Codex Alimentarius que pretende fixar o limite tolerável deste contaminante nos géneros alimentícios enlatados, considerando simultaneamente o aspecto toxicológico e as possibilidades reais de contaminação do alimento pela embalagem. Este estudo, já iniciado pela 2.ª Assistente, foi por ela retomado depois do seu regresso ao serviço, devendo os seus resultados constituir uma nota dos Arquivos do INSA.

1.2.4 A reestruturação do Instituto, a que fizemos referência, e a passagem dos serviços no próximo ano para as novas instalações ampliam consideravelmente as funções e a capacidade de trabalho do Sector de Química Sanitária o que exige o alargamento do quadro do seu pessoal. A entrada do INSA em regime de instalação veio permitir a ampliação progressiva desse quadro de maneira a corresponder às exigências decorrentes das suas atribuições.

Para uma primeira fase, correspondente a 1973-1974, propõe-se para o quadro a composição seguinte:

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| Investigador .....               | 1 |
| Técnico especialista .....       | 1 |
| 1.º Assistente .....             | 3 |
| 2.º Assistente .....             | 6 |
| Técnicos auxiliares de 1.º ..... | 3 |
| Técnicos auxiliares de 2.º ..... | 6 |
| Preparadores de 1.º .....        | 4 |
| Preparadores de 2.º .....        | 8 |
| Ajudantes de laboratório .....   | 5 |
| Auxiliares de laboratório .....  | 5 |

estando já em curso a preparação dos elementos técnicos a recrutar.

## 1.2 Laboratório de Bacteriologia

*Adriana de Figueiredo*

Para poder satisfazer as exigências da natural evolução dos Serviços de Saúde Pública, o Laboratório de Bacteriologia está, desde 1949, estruturado de modo a permitir a individualização de secções especializadas em assuntos que, quer pelo número de exames solicitados ao Laboratório, quer por necessidade de emprego de técnicas muito diferenciadas, precisassem de pessoal especialmente treinado para manter uma rotina com rendimento e de bom nível técnico-científico.

A preparação dos técnicos responsáveis pelas secções foi sendo feita de acordo com as necessidades e as disponibilidades, através de

bolsas para estágios em laboratórios estrangeiros internacionalmente reconhecidos como centros especializados nos respectivos assuntos.

Alguns desses núcleos sectoriais, que por razões inerentes à organização interna dos serviços laboratoriais do Instituto tiveram início no Laboratório de Bacteriologia Sanitária embora trabalhando noutro assunto, desenvolveram-se de tal forma que constituem hoje laboratórios independentes: Laboratório de Virologia, Laboratório de Química Clínica e Hematologia.

Durante o ano de 1972 o Laboratório de Bacteriologia funcionou dividido em 9 secções:

Águas de Abastecimento  
Alimentos  
Enteropatogénicos e Bacteriologia Geral  
Infecções das Vias Respiratórias  
Doenças Venéreas  
Fagotipia  
Serologia  
Toxoplasma  
Meios de Cultura e Material,

com o seguinte pessoal:

3 Técnicos Especialistas  
2 Assistentes de 1.º  
4 Assistentes de 2.º  
3 Bolseiros  
1 Técnico Auxiliar de Laboratório de 1.º  
3 Técnicos Auxiliares de Laboratório de 2.º  
2 Preparadores de 1.º  
5 Preparadores de 2.º  
5 Ajudantes de Laboratório  
4 Auxiliares de Laboratório  
1 Colector de Águas  
3 Serventuários.

Um dos Técnicos Especialistas foi, em Outubro, nomeado investigador e outro esteve ausente durante todo o ano em comissão de serviço no Ultramar; dois dos Bolseiros, um dos quais em tempo parcial (3 horas por dia), iniciaram o trabalho em Março; três dos preparadores entraram ao serviço entre Julho e Agosto.

## ORGANIZAÇÃO DAS SECÇÕES

### — *Águas de Abastecimento*

#### Pessoal:

- 1 Técnico Auxiliar de Laboratório de 2.ª
- 1 Ajudante de Laboratório
- 1 Colector de Águas
- 1 Serventuário.

Desde Setembro de 1971 que o Serviço de Bacteriologia do Laboratório da Junta Sanitária de Águas passou a ser orientado por um dos Técnicos Especialistas do Laboratório de Bacteriologia do Instituto e com o seu pessoal se constituiu o núcleo que deu origem a esta secção individualizada, a qual passou a realizar todos os Exames Bacteriológicos de águas de abastecimento, quer fossem solicitados, por entidades oficiais, à Junta Sanitária de Águas ou, por entidades particulares, ao Instituto. Até essa data, os Exames Bacteriológicos de Águas pedidos ao Instituto eram feitos na Secção de Enteropatógenos e Bacteriologia Geral.

### — *Alimentos*

#### Pessoal:

- 1 Assistente de 1.ª
- 3 Bolseiros (um em tempo parcial)
- 1 Preparador de 1.ª
- 1 Auxiliar de Laboratório.

Inicialmente realizados na Secção de Enteropatógenos e Bacteriologia Geral, os Exames Bacteriológicos de Alimentos — para avaliação das suas características higieno-sanitárias ou para esclarecimento da sua possível relação com surtos de toxo-infecção alimentar — multiplicaram-se em número e em variedade de forma a justificarem a criação, em 1967, de uma secção especializada em Bacteriologia de Alimentos a qual se tem mantido em constante expansão e é actualmente uma das secções mais importantes deste Laboratório.

### — *Enteropatógenos e Bacteriologia Geral*

#### Pessoal:

- 1 Técnico Especialista (nomeado investigador em Outubro)
- 1 Assistente de 2.ª
- 1 Técnico Auxiliar de Laboratório de 1.ª
- 1 Técnico Auxiliar de Laboratório de 2.ª
- 1 Auxiliar de Laboratório.

Foi a primeira secção a ser organizada (1950) e destinava-se a trabalhar em *Enterobacteriaceae*, especialmente em *Salmonella*.

Por conveniência de serviço a secção foi alargando o seu campo de trabalho e actualmente, além da sua actividade especializada com Enteropatógenos, funciona não só como laboratório de apoio às outras secções — em casos de impedimento temporário do respectivo pessoal, excesso de trabalho, etc. — mas também como Laboratório de Bacteriologia Geral realizando os exames não incluídos nos programas das diferentes secções.

### — *Infecções das Vias Respiratórias*

#### Pessoal:

- 1 Assistente de 2.ª
- 1 Preparador de 2.ª (admitido em Agosto).

Em 1970 julgou-se oportuno concentrar numa secção os Exames Bacteriológicos relacionados com infecções das vias respiratórias e iniciar estudos sobre *Mycoplasma* com a finalidade de montar em rotina técnicas de isolamento e serológicas apropriadas ao diagnóstico laboratorial das infecções causadas por *Mycoplasma pneumoniae*.

### — *Doenças Venéreas*

#### Pessoal:

- 1 Assistente de 1.ª
- 1 Preparador de 1.ª

Em 1957 o Dispensário de Higiene Social de Lisboa criou um pequeno núcleo laboratorial que foi instalado no Laboratório de Bacteriologia Sanitária do Instituto e se dedicou essencialmente ao diagnóstico laboratorial de Gonococias, Trichomoníases e Candidíases. Em Setembro de 1970 este núcleo foi extinto e os seus técnicos incorporados no Quadro do Pessoal Técnico do Instituto, constituindo esta secção que continuou a mesma orientação de trabalho.

### — *Fagotipia*

#### Pessoal:

- 1 Assistente de 2.ª
- 1 Preparador de 2.ª (admitido em Julho).

Desde 1950 que o Laboratório de Bacteriologia Sanitária funciona como Laboratório Nacional de Referência para Fagotipia de *Salmonella* em ligação com o respectivo «Comité» Internacional, sendo a Fagotipia das *S. typhi* e *S. paratyphi B* mantida em rotina na secção de Enteropatogénicos. A necessidade de intensificar estes trabalhos e de estender esta técnica laboratorial, fundamental em muitos estudos epidemiológicos, a outros tipos de *Salmonella* (principalmente *S. typhimurium*) e a outros géneros bacterianos (principalmente *Staphylococcus*) levou a iniciar em 1970 a organização desta secção especializada.

#### — Serologia

##### Pessoal:

- 1 Técnico Especialista (ausente no Ultramar)
- 1 Assistente de 2.ª
- 1 Preparador de 2.ª (admitido em Julho).

Organizada em 1950 com o objectivo de se dedicar exclusivamente a Serologia da Sífilis, esta secção tem, também, nos últimos anos realizado outros exames imunológicos de rotina: Reacções de Imunofluorescência para diagnóstico da Toxoplasmose, determinações de Grupo Sanguíneo e Factor Rh, Testes de Coombs Indirectos, Reacções de Waaler-Rose, etc.

#### — Toxoplasma

##### Pessoal:

- 1 Técnico Especialista
- 1 Técnico Auxiliar de Laboratório de 2.ª

Conhecida a importância da Toxoplasmose na nosologia nacional organizou-se, em fins de 1970, uma secção com a finalidade de realizar em rotina o diagnóstico laboratorial desta infecção. Após especialização adequada de um técnico no Laboratório de Toxoplasmose do Hospital de S. Vicente de Paula em Paris, a secção iniciou o seu trabalho em 1971 e rapidamente atingiu um movimento de análises considerável.

Por conveniência dos Serviços esta secção ficou também com o trabalho da verificação das Vacinas Antivariolíticas.

#### — Meios de Cultura e Material

##### Pessoal:

##### Meios de Cultura

- 1 Preparador de 2.ª

- 1 Ajudante de Laboratório

##### Preparação e Esterilização do Material

- 2 Ajudantes de Laboratório

##### Lavagem de Material

- 1 Auxiliar de Laboratório

- 1 Serventuário.

Sendo uma secção fundamental em qualquer laboratório de Bacteriologia é evidente que, tanto em qualificação — principalmente no sector de meios de cultura — como em número, o pessoal desta secção é insuficiente para satisfazer as actuais necessidades do Laboratório. Só com sacrifício do pessoal e com a colaboração de muitos dos técnicos das diferentes secções é que se tem conseguido superar, até certo ponto, as deficiências.

Como serviço de apoio às diferentes secções existe um pequeno sector de recepção de produtos para análise, registo e separação de soros, que está a cargo de um Preparador de 2.ª, o qual orienta a distribuição dos produtos pelas secções apropriadas.

Para o serviço externo — principalmente colheitas de águas de abastecimento e residuais, alimentos, etc. — está destacado um ajudante de Laboratório o qual também está incumbido de muito trabalho realizado com animais de laboratório.

Directamente ligado ao Laboratório de Bacteriologia, mas servindo todos os Laboratórios do Instituto que o necessitem, especialmente o de Virologia, existem instalações para animais de laboratório que são tratados por um Auxiliar de Laboratório.

O Serviço de limpeza do Laboratório é assegurado por duas Serventuárias.

|                                                                                                        | N.º de Exames | N.º de Determinações |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|----------------------|
| Exames Bacteriológicos de Águas de Abastecimento .....                                                 | 1 177         | 5 885                |
| » » » Águas de Mar e Rio .....                                                                         | 423           | 1 299                |
| Pesquisas de Salmonella em Águas de Mar e Rio .....                                                    | 209           | 209                  |
| Exames Bacteriológicos de Águas Residuais Domésticas .....                                             | 41            | 123                  |
| Pesquisas de V. cholerae em Águas Residuais Domésticas .....                                           | 329           | 329                  |
| Exames Bacteriológicos de Leites .....                                                                 | 13            | 104                  |
| » » » Manteigas .....                                                                                  | 66            | 528                  |
| » » » Gelados .....                                                                                    | 201           | 2 211                |
| » » » Leites em pó .....                                                                               | 31            | 341                  |
| » » » Ovos em pó .....                                                                                 | 25            | 250                  |
| » » » Outros produtos desidratados em pó .....                                                         | 11            | 89                   |
| » » » Carne moída .....                                                                                | 144           | 288                  |
| » » » Carne seca .....                                                                                 | 79            | 632                  |
| » » » Refrigerantes .....                                                                              | 12            | 48                   |
| » » » Conservas de frutos e vegetais .....                                                             | 6             | 51                   |
| » » » Semi conservas de peixe e carne .....                                                            | 10            | 86                   |
| » » » Refeições congeladas .....                                                                       | 28            | 256                  |
| » » » Sal .....                                                                                        | 16            | 96                   |
| » » » Farinhas de Peixe .....                                                                          | 22            | 44                   |
| » » » Outros produtos alimentares .....                                                                | 24            | 141                  |
| » » » Alimentos incriminados em Toxinfecções Alimentares .....                                         | 23            | 184                  |
| Exames Bacteriológicos de Expectorações, Exs. Faringeos e Nasais, Amígdalas e Adnoides .....           | 534           | 1 119                |
| Pesquisas de Str. $\beta$ hemolítico .....                                                             | 107           | 107                  |
| » » Staphylococcus coag. positiva .....                                                                | 51            | 51                   |
| » » C. diphtheriae .....                                                                               | 17            | 17                   |
| » » N. meningitidis .....                                                                              | 136           | 136                  |
| » » Myc. tuberculosis (Ex. directo e homogeneização) .....                                             | 77            | 95                   |
| » » Myc. tuberculosis (Ex. cultural) .....                                                             | 27            | 71                   |
| Exames Bacteriológicos de urinas .....                                                                 | 681           | 3 421                |
| Coproculturas para pesquisa de Salmonella e Shigella .....                                             | 615           | 615                  |
| » » » E. coli enteropatogénico .....                                                                   | 502           | 502                  |
| » » » V. cholerae .....                                                                                | 519           | 519                  |
| » » » Staphylococcus coag. positiva .....                                                              | 287           | 287                  |
| Exames Bacteriológicos de Exsudados Vaginais e Uretrais (aerobiose, anaerobiose, microaerofilia) ..... | 384           | 1 536                |
| Pesquisas de N. gonorrhoeae (Ex. cultural) .....                                                       | 6 998         | 6 998                |
| » » Trichomonas (Ex. cultural) .....                                                                   | 904           | 904                  |
| » » Candida (Ex. cultural) .....                                                                       | 868           | 868                  |
| Exames de esfregaços de Exsudados Vaginais e Uretrais .....                                            | 430           | 430                  |
| Hemoculturas (Meios de Thiol, Triptose e Biliados) .....                                               | 46            | 46                   |
| Exames Bacteriológicos de Outros Produtos (Pús, Exs. Conjuntivais, Liquor, etc.) .....                 | 63            | 138                  |
| Exames Micológicos de Cabelos, Expectorações e Fezes .....                                             | 18            | 28                   |
| Antibiogramas .....                                                                                    | 1 246         | 1 246                |
| Autovacinas .....                                                                                      | 52            | 52                   |
| Classificações Serológicas de Str. $\beta$ hemolítico (Grupos Lancefield) ..                           | 23            | 23                   |
| » » » Salmonella (exceptuando S. typhi e S. paratyphi B) .....                                         | 112           | 112                  |
| Classificações Serológicas de Shigella .....                                                           | 9             | 9                    |
| » » » E. coli enteropatogénico .....                                                                   | 22            | 22                   |
| » » » por Fagotipia de S. typhi .....                                                                  | 94            | 94                   |
| » » » por Fagotipia de S. typhimurium .....                                                            | 59            | 59                   |
| Reacções de Widal .....                                                                                | 56            | 224                  |
| » » Huddleson .....                                                                                    | 39            | 39                   |
| » » Wright .....                                                                                       | 9             | 9                    |
| » » Weil-Felix .....                                                                                   | 27            | 81                   |
| » » V.D.R.L. qualitativas .....                                                                        | 6 839         | 6 839                |
| » » » quantitativas (Titulação de Reaginas) .....                                                      | 5 439         | 5 439                |
| » » » Fixação de Complemento com antígeno de Cardiopina .....                                          | 5 570         | 5 570                |
| » » » Fixação de Complemento com antígeno de Lipoide .....                                             | 1 850         | 1 850                |
| » » » Fixação de Complemento com antígeno de Reiter (R. P. C. F.) .....                                | 1 853         | 1 853                |
| Reacções de Imunofluorescência para diagnóstico da Sífilis (F. T. A.) ..                               | 209           | 209                  |

|                                                                                                                            | N.º de Exames | N.º de Determinações |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|----------------------|
| Reacções de Hemaglutinação para diagnóstico da Sífilis (T P H A) ...                                                       | 195           | 195                  |
| » » Imobilização dos Treponemas (T P I) .....                                                                              | 71            | 71                   |
| » » Lise para o diagnóstico da Toxoplasmose (Dye Test) ...                                                                 | 1 006         | 1 006                |
| » » Imunofluorescência para diagnóstico da Toxoplasmose ...                                                                | 1 006         | 1 006                |
| Inoculações para isolamento de Toxoplasma .....                                                                            | 5             | 5                    |
| Reacções de Weinberg .....                                                                                                 | 17            | 17                   |
| Titulações de Antiestreptolisina O .....                                                                                   | 64            | 64                   |
| Pesquisas de Proteína C. Reactiva .....                                                                                    | 40            | 40                   |
| Reacções do Latex (R. A. Test) .....                                                                                       | 38            | 38                   |
| » de Waaler-Rose .....                                                                                                     | 6             | 6                    |
| Determinações de Grupo Sanguíneo (A B O) e Factor Rh .....                                                                 | 3 495         | 3 495                |
| Provas de Coombs indirectas .....                                                                                          | 243           | 243                  |
| Verificações de Vacinas Antivariólicas .....                                                                               | 10            | 20                   |
| Exames Diversos (Provas de esterilização, Índices fenólicos, Pesquisas de Myc. leprae, Leptospira, Plasmodium, etc.) ..... | 38            | 38                   |
| TOTAL .....                                                                                                                | 45 896        | 61 056               |
| Material de colheitas enviado para diversas Instituições dos Serviços de Saúde (tubos, zaragatoas, balões, etc.) .....     |               | 14 345               |
| Tubos com meios de cultura (Stuart, Löeffler) .....                                                                        |               | 5 920                |

### 1.3 Virologia

*Laura Ayres*

1. Em 1950, no então Instituto Superior de Higiene, foi criado o Centro Nacional da Gripe, integrado na rede de laboratórios ligados à Organização Mundial de Saúde que se destinam a estudar e prevenir a gripe no Mundo. Os Centros Nacionais têm por missão receber comunicações sobre gripe, ou síndromas gripais, que grassem nos respectivos países, isolar os vírus causadores, classificá-los e enviá-los para os Centros Mundiais para ulterior confirmação.

O Centro Nacional da Gripe (CNG) de Lisboa, dirigido pelo Prof. Arnaldo Sampaio, constituiu o núcleo a partir do qual se desenvolveu o laboratório de Virologia do Instituto Superior de Higiene, hoje Instituto Nacional de Saúde (INSA).

2. Em 1956 foram contratados dois licenciados para o Departamento de Bacteriologia Sanitária do Instituto Superior de Higiene, encarregados de colaborarem com o Director do CNG e de desenvolverem outros sectores da Virologia, para lá do estudo da gripe. Um desses licenciados (Medicina) fez a sua especialização de Virologia em Londres e o outro (Farmácia) fez a sua preparação no país e estágios em Londres e Copenhaga.

A secção de Virologia foi a pouco e pouco alargando o seu campo de acção, recebendo

novos elementos, incluindo os que, de 1960 a 1971, tinham constituído o quadro do pessoal do CNG. Em 1971, com a reforma do Instituto Superior de Higiene, passou a constituir uma secção do Departamento de Microbiologia do INSA. Actualmente conta 15 elementos (pessoal técnico e auxiliar). Destes elementos 6 são licenciados. Além dos referidos anteriormente há mais 4, um licenciado em Farmácia (especializado em vírus do aparelho respiratório), um licenciado em Medicina (especializado em técnicas de imuno-electroforese e imunofluorescência) e dois licenciados em Ciências Biológicas. Estes dois últimos são bolseiros; fazem actualmente a sua preparação básica em Virologia. Os dois primeiros têm feito estágios largos, respectivamente em Inglaterra e Holanda e em França.

3. O laboratório de Virologia do Instituto e o CNG têm orientado os seus trabalhos quer no campo da Medicina Clínica quer no da Medicina Preventiva. Em relação ao primeiro aspecto procuram dar apoio a clínicos e serviços hospitalares, nomeadamente de Pediatria e de Doenças Infecto-Contagiosas, tentando estabelecer o diagnóstico etiológico das chamadas viroses, quer pelo isolamento do agente quer pela pesquisa e titulação dos anticorpos. Em relação ao aspecto da Medicina Preventiva têm procurado conhecer a história natural de algumas das mais importantes e frequentes infecções virais em Portugal, por meio de inquéritos serológicos e outros de maior ou menor extensão, prospectivos e retrospectivos.

4. O estudo da gripe tem sido preocupação dominante do CNG e do laboratório de Virologia, embora neste campo tenham de lamentar a pequena contribuição que lhes é prestada pelos clínicos em geral. Em 1957 e 1969 foram estudadas particularmente as epidemias de gripe designadas, respectivamente Asiática e Hong-Kong. Além do isolamento de estirpes de vírus da gripe e sua classificação e de estudos serológicos, foi feito o controlo de vacinas, quer das preparadas no país, quer das importadas. Fizeram-se estudos epidemiológicos e trabalhos de investigação, nomeadamente, em 1957, a análise antigénica de algumas estirpes isoladas.

5. Em 1957 iniciou-se o estudo dos enterovírus, em particular do vírus da poliomielite. Em relação ao campo da Medicina Preventiva procedeu-se, em 1960, a um inquérito serológico retrospectivo, numa população infantil de 2400 crianças dos 0 aos 9 anos de idade. O trabalho recebeu o prémio Sanitas de Saúde Pública, em 1961, e serviu de base, no que se referiu à poliomielite, à organização da Campanha Nacional de Vacinação.

6. Também em 1957, com a colaboração de cientistas da Escola Nacional de Saúde Pública da Universidade de Harvard, foi iniciado o estudo do tracoma que ainda prossegue. As primeiras estirpes do «vírus» do tracoma foram isoladas em Portugal em 1960. Sobre este assunto têm sido publicados vários trabalhos, quer sobre estudos laboratoriais quer de divulgação.

7. Ainda em 1957 foi iniciado um estudo sobre encefalites, interrompido anos mais tarde e retomado em 1969 com o estudo da panencefalite esclerosante subaguda (sarampo).

8. Em 1958 montaram-se as técnicas para o estudo dos vírus (varíola e vacina) que têm permitido, em muitas situações de dúvida, pôr de lado o diagnóstico presuntivo de varíola.

9. Em 1964 o CNG alargou o seu campo de acção passando a estudar outros vírus do grupo dos myxovírus (além do vírus da gripe) particularmente o do sarampo e o da parotidite epidémica e em 1967 iniciou um trabalho de pesquisa de adenovírus de amígdalas e adenóides que se prolongou durante três anos. Os resultados deste trabalho foram já publicados.

10. Em 1969 foi iniciado o estudo da rubéola e do síndrome da rubéola congénita. Como em outras viroses tem-se procurado dar apoio a clínicas e serviços hospitalares, esclarecendo o diagnóstico, tantas vezes difícil, das doenças exantemáticas do tipo morbiliforme. No aspecto epidemiológico tenta-se determinar a percentagem de susceptíveis à doença na população feminina dos 15 aos 45 anos, conhecimento importante para se estabelecerem correctamente as bases da vacinação anti-rubéola. Foram já publicados alguns resultados deste estudo. Neste campo ainda se tem dado particular importância ao estudo de malformações congénitas.

11. Em 1972 começaram a montar-se técnicas para o estudo do vírus de inclusões citomegálicas.

12. Em 1965 foram montadas técnicas de imuno-electroforese e de imunofluorescência. Esta subsecção constitui o núcleo do laboratório de Imunologia do INSA, actualmente em formação.

13. Desde 1965 o laboratório de Virologia e o CNG colaboram na preparação de pessoal em cursos de Técnicos Superiores de Laboratório, Preparadoras, Agentes e Fiscais Sanitários.

## **ESTRUTURA DO LABORATÓRIO E PESSOAL**

1. O laboratório de Virologia compreende 4 secções que são — secção de vírus entéricos, secção de vírus respiratórios, secção do vírus da rubéola onde são estudados, também, os vírus das inclusões citomegálicas, do herpes e dos vírus pox e secção do «vírus» do tracoma.

2. Compreende ainda 3 secções de apoio — secção de recepção e tratamento de produtos para análise, secção de lavagem e preparação de material de laboratório e secção de cultura de tecidos. Esta última poderá, no futuro, desde que o aumento do quadro do pessoal o permita, não só servir mais cabalmente as várias outras secções do laboratório como também outros laboratórios de Saúde Pública, nomeadamente os distritais.

3. O laboratório de Virologia tem contado com o apoio de uma secção de imuno-electro-

forese e imunofluorescência que constitui, actualmente, o núcleo a partir do qual será organizado o laboratório de Imunologia do INSA.

4. Algumas das secções referidas poderão ser desdobradas e outras novas poderão ser criadas à medida que se desenvolvam novas técnicas e que aumentem as solicitações, quer de clínicos quer dos Serviços de Saúde Pública.

5. Actualmente, com a incorporação dos elementos técnicos do CNG, o laboratório de Virologia compreende o seguinte pessoal:

- 1 — Investigador
- 3 — Assistentes de 1.ª classe
- 3 — Preparadoras de 1.ª classe
- 1 — Preparadora de 2.ª classe
- 2 — Auxiliares de laboratório
- 2 — Serventuários
- 2 — Bolseiros

6. O pessoal encontra-se distribuído pelas várias secções da maneira que se indica no quadro 1. A análise deste quadro mostra:

- a) que há um número reduzido de técnicos de todas as categorias o que não permite um rápido desenvolvimento do serviço;
- b) que há falta de técnicos menos especializados, quer no quadro de técnicos superiores quer no quadro de técnicos auxiliares. Isto dá em resultado que tarefas simples tenham de ser executadas por pessoal muito qualificado com prejuízo de tarefas importantes que não podem, em consequência, ser realizadas. Para obstar a este inconveniente previu-se, até ao fim do ano de 1973, o alargamento do quadro que ficaria constituído como segue:

- 1 — Investigador
- 2 — Técnicos especialistas
- 3 — Assistentes de 1.ª classe
- 3 — Assistentes de 2.ª classe
- 2 — Estagiários
- 1 — Técnico auxiliar de laboratório de 1.ª classe

2 — Técnicos auxiliares de laboratório de 2.ª classe

4 — Ajudantes de laboratório

8 — Auxiliares de laboratório

2 — Serventuários

No entanto, tal desideratum parece ser difícil de conseguir. Por um lado a exiguidade das instalações não tem permitido o recrutamento acelerado de novos elementos. Não tem havido condições físicas de espaço que permitam, sem grandes sacrifícios, o treino prático e o ensino teórico de novos elementos. Por outro lado, no que se refere a elementos licenciados, particularmente licenciatura em Medicina, a procura é pequena.

7. Em Novembro de 1972 e Janeiro de 1973 foram contratados, com vista ao aumento do quadro, 2 bolseiros, ambos licenciados em Ciências Biológicas, que fazem actualmente a sua aprendizagem básica em Virologia segundo o plano que se indica a seguir.

Os bolseiros percorrerão durante 1 ano as várias secções do laboratório de Virologia indicadas no quadro 1 onde farão a sua aprendizagem teórica e prática. Desta maneira tomarão conhecimento das técnicas gerais de virologia e serão apreciados por todos os técnicos superiores em relação à sua aptidão técnica, rendimento de trabalho, ritmo de progressos. Por outro lado, poderão indicar o sector em que mais gostariam de trabalhar e serem encaminhados mais tarde para ele, se se conjuga-rem necessidades do mesmo e boa informação do técnico respectivo, nos aspectos acima indicados.

O seu estágio é distribuído da seguinte forma:

- 2 — meses na secção «V. respiratórios»;
- 2 — meses na secção «V. entéricos»;
- 2 — meses na secção «Cultura de tecidos, lavagem e preparação de material»;
- 2 — meses na secção «Imunofluorescência»;
- 2 — meses na secção «V. rubéola e outros»;
- 1 — mês na «Recepção e tratamento de produtos»;
- 1 — mês de férias.

Durante o ano de estágio os bolseiros serão também apreciados do ponto de vista teórico por meio de testes, interrogatórios e apresentações de trabalhos sobre temas relativos ao



seu trabalho e que lhe sejam fornecidos previamente.

No fim do 1.º ano de estágio os bolsheiros serão apreciados de acordo com a ficha de apreciação do pessoal, elaborada recentemente.

Uma vez aprendidas as técnicas básicas da Virologia serão enviados para centros estrangeiros onde poderão adquirir uma especialização em qualquer assunto no Campo da Virologia, com interesse para o laboratório.

QUADRO 1

|                            | Lavagem e Preparação de Material | Cultura de Tecidos | V. Entéricos | V. Respiratórios | V. Rubéola e outros «V» Tracoma | Imunofluorescência e Imuno-electroforese |
|----------------------------|----------------------------------|--------------------|--------------|------------------|---------------------------------|------------------------------------------|
| Investigador 1             |                                  |                    |              |                  | ×                               |                                          |
| Assist. 1. <sup>a</sup>    |                                  |                    | ×            |                  |                                 |                                          |
| Assist. 1. <sup>a</sup>    |                                  |                    |              | ×                |                                 |                                          |
| Assist. 1. <sup>a</sup>    |                                  |                    |              |                  |                                 | ×                                        |
| Prepar. 1. <sup>a</sup>    |                                  | ×                  |              | ×                |                                 |                                          |
| Prepar. 1. <sup>a</sup>    |                                  | ×                  | ×            |                  |                                 |                                          |
| Prepar. 1. <sup>a</sup> *  |                                  | ×                  |              |                  | ×                               |                                          |
| Prepar. 2. <sup>a</sup> ** |                                  | ×                  |              |                  |                                 | ×                                        |
| Ajud. Lab.                 | ×                                |                    |              |                  |                                 |                                          |
| Ajud. Lab. ***             |                                  |                    | ×            |                  |                                 |                                          |
| Servent.                   | ×                                |                    |              |                  |                                 |                                          |
| Servent. ****              | ×                                |                    |              |                  |                                 |                                          |

1 — Chefe do laboratório de Virologia.

\* — Colabora com a secção V. entéricos no trabalho «Pesquisa de anticorpos anti Coxsackie».

\*\* — Colabora com a secção V. entéricos no trabalho «Isolamento de Vírus de Esgotos e Água do Mar».

\*\*\* — Colabora com as secções V. entéricos e «V» tracoma e Cultura de Tecidos.

\*\*\*\* — Acumula a lavagem de material com funções de limpeza.

## ORIENTAÇÃO

1. O laboratório de Virologia tem orientado os seus trabalhos em 3 linhas principais

- Medicina Clínica
- Medicina Preventiva
- Formação de Pessoal

2. *Medicina Clínica* — As doenças transmissíveis por vírus são importantes em Saúde Pública como causa de doença e de morte e ainda por razões de sequelas, transitórias ou permanentes, graves. No momento actual não há tratamento específico para elas salvo casos especiais de situações de longo período de incubação e de outras com manifestações locais e de fácil acesso terapêutico. No entanto, começam a ser usados fármacos promissores tanto em tratamento como em profilaxia.

Por estas razões o diagnóstico laboratorial das doenças transmissíveis por vírus é neces-

sário, quer para apoio de clínicos e serviços hospitalares, quer como base de trabalhos epidemiológicos que visem estabelecer taxas de morbilidade, assentes em bases etiológicas seguras.

Em qualquer dos casos torna-se imprescindível obter a colaboração de serviços hospitalares de doenças infecto-contagiosas e de pediatria e de serviços de Saúde Pública, centrais e periféricos. Até à data apenas se tem conseguido colaborações isoladas, sem continuidade e, por vezes, em más condições no que diz respeito a colheitas de produtos e obtenção de dados. O que se consegue representa um esforço talvez demasiado grande para o resultado obtido, pelo que nos interrogamos sobre se valerá a pena continuá-la nos moldes tentados até agora. A colaboração dos elementos de Saúde Pública, quer nos centros quer na periferia, é ainda menos, se possível. Temos tentado avaliar as razões deste facto ressaltando entre outras as seguintes: a falta de conhecimento quanto aos produtos que devem ser colhidos e quanto ao modo como se deve fazer

a colheita e o seu envio ao laboratório e a falta de material para colheitas nos respectivos locais de trabalho (informações obtidas durante o 2.º Curso Intensivo da E. S. P. M. T.).

De qualquer forma, e a despeito de se tentarem encontrar outras formas para a solução do problema, parece-nos fundamental continuar as tentativas de educação em assuntos de Virologia, quer em escritos quer em contratos pessoais, individuais, quer em palestras em serviços hospitalares como as que foram feitas, no decurso de 1972 (2 no Serviço de Infecto-Contagiosas do Hospital de Santa Maria e 1 para médicos pediatras, integrada nas Jornadas de Pediatria na Ilha da Madeira).

Parece-nos de extrema importância, também, que se desenvolvam rapidamente as técnicas de fluorescência e outras para o diagnóstico rápido de doenças por vírus.

**3. Medicina Preventiva** — A contribuição que um laboratório de Virologia poderá dar à Medicina Preventiva é grande. Podemos esboçar da seguinte forma algumas das atribuições:

- elucidação da história natural das doenças transmissíveis com o fim de se conhecerem taxas de morbilidade, taxas de infecções inaparentes, de se indicarem as vacinas a introduzir num país e os grupos que devem ser vacinados e determinar o valor protector das vacinas introduzidas;
- controlo de campanhas de vacinação.

De uma maneira geral os trabalhos referentes à Medicina Preventiva, quer eles tenham como base pesquisa de vírus quer tenham como base inquéritos serológicos, não poderão fazer-se, a nosso ver, sem o apoio de Centros de Epidemiologia que, em íntima colaboração, dêem algumas indicações sobre os problemas que se devam considerar prioritários e também apoio quer na elaboração de programas quer na colheita dos produtos necessários.

Para o apoio de inquéritos seroepidemiológicos temos vindo a organizar um Banco de Soros conservando em boas condições de armazenamento amostras de quase todos os soros recebidos para análise, separados em óptimas condições de assepsia.

Sublinhamos também a necessidade de se montarem rapidamente microtécnicas para a colheita de sangues e para o processamento de produtos.

**4. Formação de Pessoal** — A formação de pessoal de nível superior e de preparadoras, por meio de cursos teóricos e práticos ou só de cursos básicos de carácter essencialmente prático, é fundamental. Os cursos básicos visam a formação de pessoal capaz de, nos centros periféricos, procederem à colheita de material para estudos virológicos, à sua preparação e envio aos laboratórios distritais ou centrais.

Os cursos teóricos e práticos visam a formação de pessoal capaz de executar provas laboratoriais que não impliquem o emprego de técnicas ou aparelhagem especiais e para as quais os laboratórios centrais fornecerão soros e anti-génios ou, no futuro, tubos de culturas de células.

Para lá da formação de pessoal técnico superior e auxiliar que se destina a laboratórios distritais e Centros de Saúde parece-nos importante a formação de pessoal técnico capaz de, no INSA, desenvolver determinadas secções ainda embrionárias.

Esta preparação deverá ser feita no próprio Instituto para aquisição das bases teóricas e práticas necessárias e em serviços afins, estrangeiros.

Em relação às actuais preparadoras, parece-nos que também a sua formação não deve ser descurada no aspecto teórico. De acordo com este facto temos tentado fazer reuniões semanais em que são feitas apresentações curtas de temas de virologia, seguidas de discussão.

5. De acordo com o indicado apresentamos a seguir o que foi o trabalho efectuado em 1972, na continuação de trabalhos anteriores e os projectos de desenvolvimento do laboratório nos anos próximos de 1973-1974.

6. Em relação ao ano de 1972 indicam-se a seguir as actividades de cada secção, separando-se as que constituem tarefas de rotina ligadas ao diagnóstico de doenças transmissíveis por vírus incluindo a preparação dos meios necessários (culturas de tecidos, soros e anti-génios) e tarefas especiais para esclarecimento de problemas que possam interessar quer a Medicina Clínica quer a Medicina Preventiva.

#### **Cultura de tecidos**

- Preparação de meios.
- Manutenção de linhas contínuas de células.
- Tripsinização de órgãos (placenta e rim de macaco).
- Distribuição de suspensões de células e mudanças de meios de cultura.

## V. respiratórios

### a. Rotina

- Manutenção de linhas de células.
- Preparação de tubos para uso na subsecção.
- Preparação de soros de antígenos.
- Isolamento e classificação de estirpes de myxovírus e adenovírus isolados.
- Diagnóstico serológico de doenças produzidas por aqueles vírus.

### b. Trabalhos especiais

- Estudo etiológico da panencefalite esclerosante subaguda.
- Estudo etiológico de pneumopatias em crianças.

## V. entéricos

### a. Rotina

- Manutenção de linhas de células.
- Preparação de tubos para o uso na subsecção.
- Preparação de soros e antígenos.
- Isolamento e classificação de estirpes de enterovírus isolados.
- Diagnóstico serológico de doenças produzidas por aqueles vírus.

### b. Trabalhos especiais

- Estudo de um surto epidémico de poliomielite ocorrido no Funchal.
- Montagem da técnica de inibição metabólica para o estudo serológico de enteroviroses.
- Montagem de técnicas de diferenciação de estirpes de poliomielite selvagem e vacinal.
- Montagem de técnicas de isolamento de enterovírus a partir de esgotos e águas do mar.

## V. da rubéola e outros e «V» tracoma

### a. Rotina

- Manutenção de linhas de células.
- Preparação de tubos para uso na subsecção.

- Isolamento e classificação de estirpes de vírus isolados (rubéola, tracoma).
- Preparação de soros e antígenos.

### b. Trabalhos especiais

- Estudo serológico da infecção natural pelo vírus da rubéola.
- Estudo de malformações congénitas.
- Montagem de técnicas para o estudo dos vírus herpes e de inclusões citomegálicas.

## Imunofluorescência e Imuno-electroforese

### a. Rotina

- Preparação de conjugados e imunossoros.
- Aplicação de técnicas de imunofluorescência e de imuno-electroforese no diagnóstico de doenças transmissíveis.

### b. Trabalhos especiais

- Colaboração no estudo etiológico da panencefalite esclerosante subaguda.
- Estudo das imunoglobulinas do L. C. R. nas doenças do sistema nervoso.
- Montagem de técnicas de imunofluorescência para o diagnóstico rápido das doenças por vírus.
- Estudo de imunoglobulinas em casos de malformações congénitas por síndromas da rubéola.

7. Em relação aos anos próximos indicamos a seguir alguns dos projectos a executar:

a) desenvolvimento da secção de cultura de tecidos com o fim de que possa dar o máximo apoio às outras secções. Em futuro mais longínquo encaramos a possibilidade de se prestar apoio a laboratórios periféricos, quer pelo envio de meios de cultura, quer pelo envio de tubos de culturas de células;

b) desenvolvimento das outras secções já referidas, quer do ponto de vista qualitativo pelo aperfeiçoamento e introdução de novas técnicas, particularmente microtécnicas, quer do ponto de vista quantitativo pela realização de inquéritos seroepidemiológicos e outros;

- c) criação da secção de controlo de vacinas. Actualmente o INSA faz o controlo das vacinas virais antivariólica e antigripal mas não foi ainda criada a respectiva secção, fundamental;
- d) criação da secção de preparação de soros e antígenos;
- e) estudo de alguns problemas importantes em Saúde Pública e que são:
  - papel dos vírus nas malformações congénitas. É um trabalho para realizar em colaboração com clínicos, epi-

- demiólogistas e técnicos de outras secções laboratoriais;
- etiologia viral de encefalites e meningo-encefalites. Trabalho para realizar com outros virologistas interessados no problema;
- inquéritos seroepidemiológicos particularmente no que diz respeito a poliomielite para estudo do estado de imunização da população, rubéola e outras viroses para o conhecimento da sua história natural e consequente estabelecimento de campanhas de vacinação.

## ESTATÍSTICA

Corresponde a produtos de 966 indivíduos (doentes, contactos de doentes e inquéritos serológicos)

|                                                      | N.º de Amostras | Classificação de Vírus<br>Tipo — Número |
|------------------------------------------------------|-----------------|-----------------------------------------|
| 1. <i>Exames directos para pesquisa de inclusões</i> |                 |                                         |
| Raspado da conjuntiva                                | 12              |                                         |
| Urina                                                | 2               |                                         |
| 2. <i>Isolamento</i>                                 |                 |                                         |
| Biópsias de cérebro                                  |                 |                                         |
| Crostras                                             | 3               | * 2                                     |
| Expectoração                                         | 1               |                                         |
| Fezes(ou zaragatoa rectal)                           | 1               |                                         |
|                                                      | 233             | 27 — V. Polio                           |
| Líquido céfalo raquidiano                            | 48              | 4 — V. Coxsackie                        |
| Líquido pericárdico                                  | 1               | 18 — V. não classificados               |
| Líquido pustular                                     | —               | 2 — V. Echo                             |
| Líquido vesicular                                    | 1               |                                         |
| Punção pulmonar                                      | 3               |                                         |
| Raspado da conjuntiva                                | 10              |                                         |
| Urina                                                | 17              |                                         |
| Zaragatoa (ou lavado) faringio                       | 81              | 10 — V. influenza                       |
|                                                      |                 | 8 — Adenovirus                          |
|                                                      |                 | 13 — V. Rubéola (?)                     |
| Zaragatoa (ou lavado) nasal                          | 31              | 13 — V. Rubéola (?)                     |
| Produtos não analisados **                           | 39              |                                         |

\* — Presença de antígeno (s) do sarampo em esfregaços directos e em cultura de cérebro (FA).

\*\* — Por não terem chegado em condições ao laboratório ou, no caso de soros, por não terem sido obtidos os soros da convalescença, respectivos.

|                                                  |              | N.º de Amostras              |
|--------------------------------------------------|--------------|------------------------------|
| 3. <i>Reacções serológicas</i>                   |              |                              |
| <i>Aglutinação</i>                               |              |                              |
| (Paul-Bunnel)                                    |              | 35                           |
| <i>Inibição de hemaglutinação</i>                |              |                              |
| Influenza                                        |              | —                            |
| Rubéola                                          |              | 795                          |
| <i>Fixação do complemento</i>                    |              |                              |
| Influenza A                                      |              | 72                           |
| Influenza B                                      |              | 70                           |
| Para influenza 1                                 |              | 17                           |
| Para influenza 2                                 |              | 17                           |
| Para influenza 3                                 |              | 17                           |
| Parotidite epidémica V                           |              | 81                           |
| Parotidite epidémica S                           |              | 81                           |
| R. S.                                            |              | 22                           |
| Sarampo                                          |              | 155                          |
| Adenovírus                                       |              | 49                           |
| «Psitacose»                                      |              | 8                            |
| «Febre Q»                                        |              | 2                            |
| <i>Neutralização</i>                             |              |                              |
| Poliomielite 1                                   |              | 288                          |
| Poliomielite 2                                   |              | 288                          |
| Poliomielite 3                                   |              | 288                          |
| Coxsackie B1                                     |              | 108                          |
| Coxsackie B2                                     |              | 108                          |
| Coxsackie B3                                     |              | 108                          |
| Coxsackie B4                                     |              | 108                          |
| Coxsackie B5                                     |              | 108                          |
| Coxsackie B6                                     |              | 108                          |
| Echo (poli)                                      |              | 2                            |
| 4. <i>Imunoelectroforese</i>                     |              |                              |
| Soros                                            | 1            |                              |
| Líquido céfalo raquidiano<br>(após concentração) | 48           |                              |
| Humor aquoso                                     | 1            |                              |
| 5. <i>Imunofluorescência</i>                     |              |                              |
|                                                  | N.º de casos | N.º de lâminas<br>observadas |
| Gripe A                                          | 3            |                              |
| Gripe B                                          | 3            |                              |
| P. E. E. S.                                      | 5            |                              |
| Rubéola                                          | 9            |                              |
| Total                                            |              | 31                           |
|                                                  |              | 622                          |

## TRABALHOS PUBLICADOS

### 1. De 1956 a 1965

- Sampaio, A., Ayres, L. e Nunes, M. I. P. — Aspectos laboratoriais da epidemia de «Gripe Asiática». *Bol. Serv. Saúde Pública*, 5: N.º 4, 1958.
- Sampaio, A. e Ayres, L. — Análise antigénica das estirpes de gripe isoladas em Portugal na epidemia de 1957. — *Arq. Port. de Bioquímica*, 2: 136, 1958.
- Ayres, L., Nunes, M. I. P., Figueiredo, M. V. T. e Sampaio, A. — Estirpes de vírus da poliomielite isoladas no laboratório de Virologia do Instituto Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge. *J. Soc. Ciências Méd. Lisboa*, 125: N.º 8, 1961.
- Sampaio, A., Ayres, L., Sá, R., Caeiro, M., Nunes, M. I. P., Figueiredo, M. V. T. — Aspectos epidemiológicos da poliomielite em Portugal I. Distribuição de anticorpos neutralizantes contra os vírus da poliomielite no distrito de Viana do Castelo — Outubro 1960. *J. Soc. Ciências Méd. Lisboa*, 125: N.º 8, 1961.
- Ayres, L., Nunes, M. I. P. e Sampaio, A. — Aspectos laboratoriais do tracoma em Portugal. *J. Soc. Ciências Méd. Lisboa*, 125: N.º 5, 1961.
- Sampaio, A. e Ayres, L. — Isolamento do vírus do tracoma em doentes portugueses. *J. Soc. Ciências Méd. Lisboa*, 125: N.º 5, 1961.
- Ayres, L. — Diagnóstico laboratorial das doenças por vírus. *Bol. Serv. Saúde Pública* 8: N.º 4, 1961.
- Ayres, L. — Contribuição para o estudo do tracoma. *Bol. Serv. Saúde Pública* 10: N.º 1, 1963.

### 2. De 1965 a 1971

- Figueiredo, M. V. T. e Sampaio, A. — Adenoviroses em Portugal. *Saúde Pública* 14: N.º 1, 1967.
- Ayres, L. — Tracoma. Progressos recentes. *O Médico* N.º 853, 1968.
- Carvalho, M. V. — Vírus da gripe. Sua biologia. *O Médico* N.º 911, 1969.
- Figueiredo, M. V. T. — Adenoviroses. *O Médico* 54: N.º 957: 56-64, 1970.

### 3. Em 1972

- Figueiredo, M. V. T. — Gripe A/Hong-Kong/68 ( $H_3 N_2$ ) I. Estudo Laboratorial das estirpes isoladas. *Arq. INSA* 1: 129, 1972.
- Teixeira, I. — Gripe A/Hong-Kong/68 ( $H_3 N_2$ ) II. Epidemiologia. *Arq. INSA* 1: 137, 1972.
- Ayres, L., Nunes, M. I. P. e Teixeira, I. — Gripe A/Hong-Kong/68 ( $H_3 N_2$ ) III. Vacinação. Estudos em voluntários. *Arq. INSA* 1: 149, 1972.
- Figueiredo, M. V. T. — Adenovirus latentes em Amígdalas e Adenóides de indivíduos da região de Lisboa (estudo de 2246 amostras). *Arq. INSA* 1: 159, 1972.
- Ayres, L. e Ferreira, M. I. — Seroepidemiologia da Rubéola. *Arq. INSA* 1: 177, 1972.
- Ayres, L. e Teixeira I., Importância das infecções inaparentes na epidemiologia das infecções de vírus. *Arq. INSA* 1: 261, 1972.

## 1.4 Laboratório de Higiene Industrial

Júlia Vilar

O Laboratório de Higiene Industrial, criado por despacho ministerial de 6 de Maio de 1969, deu início às suas funções específicas em Janeiro de 1971.

A necessidade de um laboratório para análise e estudo das condições do trabalho profissional há muito se fazia sentir entre nós. A crescente industrialização do País, com recurso a mão-de-obra não especializada a maior parte, muita, até, tendo passado sem transição de uma actividade agrícola rudimentar para uma actividade industrial com máquinas e materiais, cujos riscos esses trabalhadores não compreendem nem para os quais estão preparados a defender-se, tornava urgente que fossem encarados objectivamente alguns aspectos mais críticos dos problemas da higiene e segurança do trabalho. De facto, sendo a finalidade da higiene industrial a correcção de todos os factores inerentes aos ambientes de trabalho susceptíveis de comprometer a saúde, bem-estar e conforto dos trabalhadores e da comunidade, necessário é, para que possa atingir os seus fins, um apoio laboratorial que faculte a detecção, quantificação e avaliação dos factores de risco ou incomodidade. Pois só se pode corrigir, eficazmente, quando se conhece exactamente o que tem de ser corrigido e até onde essa correcção é indispensável e possível.

Além dos aspectos relativos à higiene do trabalho, incumbe, também, ao Laboratório de Higiene Industrial a vigilância e estudo da poluição atmosférica, nomeadamente da poluição química e acústica.

## I — ESTRUTURA E PESSOAL

De acordo com o disposto no Decreto-Lei n.º 35/72, de 31 de Janeiro, que regulamenta o INSA, o Laboratório de Higiene Industrial participa na actividade dos departamentos laboratoriais de «Higiene e Saneamento do Meio» e de «Medicina do Trabalho e Higiene Industrial». Por isso compreende, presentemente, duas secções:

1 — Poluição atmosférica;

2 — Higiene dos locais de trabalho.

## 1 — Secção da poluição atmosférica

Compete a esta secção dar apoio às entidades de Saúde Pública e efectuar estudos, por si ou em colaboração, nomeadamente sobre:

- a) A natureza e distribuição da poluição do ar por agentes químicos e físicos;
- b) Os índices químicos e biológicos mais adequados para caracterizar a poluição;
- c) A avaliação da exposição a poluentes de acção específica (chumbo, mercúrio, monóxido de carbono, cádmio, hidrocarbonetos cancerígenos, etc.);
- d) Os efeitos biológicos da poluição atmosférica;
- e) O comportamento e reacções dos poluentes na atmosfera;
- f) As relações entre a poluição no exterior e no interior dos locais habitados;
- g) As técnicas de colheita e de análise mais adequadas para os diferentes tipos de poluentes.

Esta secção está a colaborar com a Comissão Nacional do Ambiente e com o Grupo de Trabalho sobre Poluição do Ar (GTPA) que, pelo Decreto-Lei n.º 413/71, de 27 de Setembro, funciona no INSA.

Compreende presentemente o seguinte pessoal:

- a) Um técnico especialista responsável pela chefia;
- b) Dois estagiários bolseiros (um engenheiro em tempo parcial e um agente técnico de engenharia em tempo completo);
- c) Um agente técnico de engenharia, da CML;
- d) Dois preparadores, também da CML.

## 2 — Secção de higiene dos locais de trabalho

Esta secção tem, de momento, duas tarefas fundamentais:

- a) Efectuar sondagens e inquéritos sobre as condições de trabalho em indústrias que apresentam maior risco para a saúde dos trabalhadores;

- b) Dar apoio às entidades de Saúde Pública e de Medicina do Trabalho, entidades patronais e outras interessadas na promoção das condições de trabalho.

O apoio referido traduz-se por:

- a) Análise dos ambientes de trabalho para avaliação de:
  - contaminação do ar ambiente por gases, vapores, poeiras, fumos e nevoeiros;
  - ruídos e vibrações;
  - iluminação;
  - ventilação;
  - calor e humidade;
- b) Estudo dos trabalhadores para avaliação do grau de absorção de produtos tóxicos;
- c) Orientação sobre as medidas técnicas a empreender para evitar situações nocivas ou incómodas.

Paralelamente com estes trabalhos, e para lhes dar as bases específicas indispensáveis, deve esta secção efectuar estudos, como está previsto, nomeadamente no que respeita:

- a) Aperfeiçoamento de métodos de análise biológica e do meio ambiente;
- b) Reacções metabólicas dos produtos tóxicos;
- c) Mecanismo de acção dos produtos tóxicos e dos agentes físicos do ambiente;
- d) Relações entre os níveis de exposição e os parâmetros biológicos;
- e) Critérios e processos aplicáveis à avaliação da exposição profissional a agentes químicos e físicos;
- f) Testes de avaliação da eficácia dos dispositivos de protecção individual;
- g) Normas de colheita e análise de poluentes;
- h) Normas de protecção de equipamento;
- i) Poluição do ar e das águas de origem industrial.

Esta secção dá, também, apoio laboratorial aos cursos de Saúde Pública e de Medicina do

Trabalho da Escola Nacional de Saúde Pública que funciona no INSA, de acordo com o disposto no Decreto-Lei n.º 372/72, de 2 de Outubro.

Compreende presentemente o seguinte pessoal:

- a) Um técnico especialista responsável pela chefia;
- b) Um estagiário;
- c) Um técnico auxiliar de laboratório de 1.ª classe;
- d) Três preparadores (um deles bolseiro em tempo parcial).

O Laboratório começou a funcionar com as duas secções, em 1971, sob a orientação do técnico especialista Eng.ª Júlia Vilar.

## II — ORIENTAÇÃO

O trabalho das duas secções foi orientado, como se impunha, para o estudo de problemas prioritários da comunidade, no sentido de fazer face a necessidades mais urgentes.

### 1 — Secção da poluição atmosférica

Começou-se pelo estudo da poluição na cidade de Lisboa e na região do Barreiro-Seixal.

Desde 1966, data da criação do GTPA, que a colheita de alguns dados para o estudo da poluição nas áreas referidas, estava a ser feita de forma coordenada e com equipamento pertencente à SACOR, na cidade de Lisboa, e à CUF e Siderurgia Nacional, na região do Barreiro-Seixal.

Como primeira tarefa, tornava-se necessário não só alargar os estudos empreendidos mas também averiguar se os índices de poluição adoptados eram os mais adequados para caracterizar as poluições em causa.

Partindo da premissa de que a poluição na cidade de Lisboa era fundamentalmente devida à circulação automóvel, procurou-se, nesta fase, determinar o nível e distribuição dos principais poluentes por ela originados, como sejam o anidrido sulfuroso, os óxidos de azoto e o óxido de carbono.

Na região do Barreiro-Seixal, seguiu-se o mesmo critério, com a diferença de que, nesta área, se procurou avaliar o grau de poluição originado por alguns dos principais poluentes

emitidos pelas indústrias locais: ácido fluorídrico, anidrido sulfuroso, amoníaco e óxidos de ferro.

Numa segunda fase, a que já se começou a dar início, procurar-se-á estudar:

- a) A exposição a alguns poluentes de acção específica (chumbo, óxido de carbono, hidrocarbonetos leves e pesados);
- b) Sondagem da poluição acústica na cidade de Lisboa;
- c) A poluição originada pela indústria cimenteira e centrais térmicas;
- d) Os índices biológicos de poluição;
- e) A epidemiologia da poluição do ar.

### 2 — Secção da higiene do trabalho

A higiene do trabalho quase não tem tido existência prática entre nós.

De facto é insuficiente a orgânica funcional e o número de técnicos ao serviço dos organismos oficiais competentes nesta matéria e, por outro lado, a falta de compreensão, indiferença ou ignorância de muitas entidades patronais pelos problemas de higiene do trabalho fazem que, com grande frequência, se deparem condições de trabalho que em pouco diferem das do início da era industrial.

Os encargos económicos da prevenção, com que tantas vezes se procuram justificar situações nocivas para a saúde dos trabalhadores, não reflectem mais do que uma concepção arcaica de gestão das empresas, pois está mais que provado que a higiene do trabalho é um apreciável investimento de capital pelos resultados favoráveis que traz.

Dado, pois, o deplorável panorama actual, orientaram-se os trabalhos, numa primeira fase, no sentido de se despistarem e denunciarem as más condições de trabalho, como tentativa de consciencialização e para que não seja o desconhecimento dos problemas concretos a desculpa para a inacção.

É, contudo, um trabalho que necessita, para ser eficiente, de muito pessoal e equipamento e não serão um ou dois laboratórios que o poderão levar a efeito nas condições necessárias. A higiene do trabalho só poderá entrar em vias de desenvolvimento eficaz quando nos laboratórios distritais das zonas mais industrializadas, pelo menos, houver pessoal habilitado a fazer a avaliação técnica das



# QUADRO I

## Polluição Atmosférica

### Determinações e Análises Efectuadas

— 1971 e 1972 —

| 1971                | Tipo de Determinação                         | Número de Determinações | Número de Análises |
|---------------------|----------------------------------------------|-------------------------|--------------------|
| Posto n.º 21        |                                              |                         |                    |
|                     | Acidez forte gasosa (SO <sub>2</sub> ) ..... | 24                      | 16                 |
|                     | Fumos .....                                  | 24                      | 16                 |
|                     | Totais .....                                 | 48                      | 32                 |
| 1972                | Tipo de Determinação                         | Número de Determinações | Número de Análises |
| Postos n.ºs 21 e 22 |                                              |                         |                    |
|                     | Acidez forte gasosa (SO <sub>2</sub> ) ..... | 483                     | 387                |
|                     | Fumos .....                                  | 486                     | 585                |
|                     | Anidrido carbónico .....                     | 25                      | 75                 |
|                     | Amoníaco .....                               | 125                     | 97                 |
|                     | Cloretos .....                               | 121                     | 97                 |
|                     | Sulfatos .....                               | 122                     | 196                |
|                     | Totais .....                                 | 1357                    | 1437               |
| Laboratório móvel   |                                              |                         |                    |
|                     | Determinações instantâneas de CO .....       | 102                     | —                  |
|                     | Colheitas de curta duração:                  |                         |                    |
|                     | Aldeídos .....                               | 11                      | 22                 |
|                     | Amoníaco .....                               | 42                      | 77                 |
|                     | Anidrido sulfuroso .....                     | 101                     | 200                |
|                     | Fluor .....                                  | 41                      | 82                 |
|                     | Fosfatos .....                               | 2                       | 4                  |
|                     | Oxidantes .....                              | 2                       | 4                  |
|                     | Óxidos de azoto .....                        | 40                      | 80                 |
|                     | Óxidos de ferro .....                        | 8                       | 8                  |
|                     | Totais .....                                 | 349                     | 477                |
|                     | Oxycarbonémia .....                          | 15                      | 59                 |
|                     | Totais gerais .....                          | 1721                    | 1973               |

## QUADRO II

### Higiene do Trabalho

Determinação e Análises Efectuadas a Pedido

— 1971 —

| Tipo de Determinação                   | Número de Determinações | Número de Análises |
|----------------------------------------|-------------------------|--------------------|
| Factores ambientais                    |                         |                    |
| Químicos                               |                         |                    |
| Acidez forte do ar .....               | 10                      | 20                 |
| Ácido clorídrico .....                 | 4                       | 4                  |
| Amoníaco .....                         | 2                       | 2                  |
| Dinitroetilenoglicol .....             | 4                       | 7                  |
| Totais .....                           | 20                      | 33                 |
| Físicos                                |                         |                    |
| Iluminação (por secção) .....          | 4                       | 4                  |
| Ruído (global e bandas de frequências) | 19                      | 19                 |
| Totais .....                           | 23                      | 23                 |
| Totais gerais .....                    | 43                      | 56                 |

As determinações de creatinina e de densidade, que constam do Quadro IV, são efectuadas com vista à correcção dos teores de excreção urinária de produtos tóxicos e dos metabolitos dos produtos tóxicos. Procede-se a estas determinações em todas as amostras de urina analisadas com o fim de reduzir o erro resultante de quantidades diferentes de diurese dado que, na rotina da higiene industrial, se trabalha com amostras correspondentes a uma micção e não com amostras de 24 horas.

#### 1.5 Laboratório de Química Clínica e Hematologia

*Maria do Carmo Cavalheiro Morais Martins*

##### I — Evolução

Desde há muitos anos que, no Instituto Nacional de Saúde, se realizam análises nos campos da Química Clínica e da Hematologia. Efectuavam-se, em princípio, na dependência do Serviço de Bacteriologia e não requeriam instalações ou pessoal a elas especialmente dedicados, eram em número relativamente re-

duzido, a responder às solicitações feitas pelas autoridades sanitárias ou simples particulares.

Depois, perante muito maior número de determinações, mercê de acordo efectuado com o Instituto Maternal, começou a surgir em 1968, a necessidade de pessoal que a elas se devotasse em tempo inteiro e, integrando-o e preparando-o, fornecendo-lhe os meios técnicos adequados, a Direcção do Instituto fazia nascer, incipiente primeiro e depois de forma decidida, um serviço que tem individualidade desde 1970.

De uma fase prévia em que se actualizaram algumas técnicas e introduziram de novo muitas outras, por forma a responder mais completamente aos pedidos de análises, crescentes em número e qualidade, passou-se para uma outra fase em que, pessoal e equipamento, permitiam os primeiros passos na estruturação de um Laboratório moderno de Química Clínica e Hematologia.

Na realidade, no que se refere a pessoal passou-se de um só técnico superior inicial para quatro em 1972, de zero preparadores para três e mais um ajudante de laboratório e um técnico de Secretaria. No que se refere

# QUADRO III

## Higiene do Trabalho

Determinação e Análises Efectuadas a Pedido

— 1972 —

| Tipo de Determinação                    | Número de Determinações | Número de Análises (1) |
|-----------------------------------------|-------------------------|------------------------|
| <b>Factores ambientais</b>              |                         |                        |
| <b>Químicos</b>                         |                         |                        |
| Ácido sulfídrico .....                  | 6                       | 6                      |
| Alcool metílico .....                   | 15                      | 160                    |
| Amónia .....                            | 5                       | 23                     |
| Anidrido carbónico .....                | 6                       | 6                      |
| Anidrido sulfuroso .....                | 39                      | 39                     |
| Chumbo .....                            | 51                      | 68                     |
| Cianetos .....                          | 4                       | 81                     |
| Monóxido de carbono .....               | 12                      | 12                     |
| Óxidos de Azoto .....                   | 1                       | 3                      |
| Poeiras (análise ponderal e numérica)   | 159                     | 161                    |
| Sílica livre em poeiras e matéria-prima | 15                      | 23                     |
| Sulfureto de carbono .....              | 8                       | 65                     |
| Tricloroetileno .....                   | 8                       | 40                     |
| Totais .....                            | 329                     | 687                    |
| <b>Físicos</b>                          |                         |                        |
| Condições térmicas .....                | 23                      | 92                     |
| Iluminação (por secções) .....          | 5                       | 5                      |
| Ruído (global e bandas de frequências)  | 78                      | 78                     |
| Totais .....                            | 106                     | 175                    |
| <b>Índices biológicos de exposição</b>  |                         |                        |
| <b>Sangue</b>                           |                         |                        |
| Chumbo .....                            | 8                       | 26                     |
| <b>Urina</b>                            |                         |                        |
| Ácido $\delta$ — aminolevulínico .....  | 46                      | 240                    |
| Ácido tricloroacético .....             | 15                      | 75                     |
| Chumbo .....                            | 45                      | 100                    |
| Compostos triclorados totais .....      | 9                       | 34                     |
| Totais .....                            | 123                     | 475                    |
| <b>Totais gerais .....</b>              | <b>558</b>              | <b>1337</b>            |

(1) Inclui análises para calibração dos métodos.

## QUADRO IV

### Higiene do Trabalho

#### Determinações e Análises para Estudo

— 1971 e 1972 —

| 1971 | Tipo de Determinação                    | Número de Determinações | Número de Análises (1) |
|------|-----------------------------------------|-------------------------|------------------------|
| Ar   | Tricloroetileno .....                   | 48                      | 312                    |
|      | Urina                                   |                         |                        |
|      | Ácido Tricloroacético .....             | 83                      | 282                    |
|      | Compostos triclorados totais .....      | 83                      | 284                    |
|      | Creatinina .....                        | 77                      | 355                    |
|      | Densidade .....                         | 77                      | —                      |
|      | Totais .....                            | 368                     | 1233                   |
| 1972 | Tipo de Determinação                    | Número de Determinações | Número de Análises (1) |
|      | Poeiras (análise numérica e ponderal)   | 93                      | 99                     |
|      | Silica livre em poeiras e matéria-prima | 10                      | 16                     |
|      | Urina                                   |                         |                        |
|      | Ácido $\delta$ — Aminolevulínico .....  | 53                      | 274                    |
|      | Ácido hipúrico .....                    | 6                       | 36                     |
|      | Chumbo .....                            | 53                      | 103                    |
|      | Creatinina .....                        | 121                     | 372                    |
|      | Densidade .....                         | 111                     | —                      |
|      | Fenol .....                             | 5                       | 30                     |
|      | Totais .....                            | 452                     | 930                    |

(1) Inclui análises para calibração dos métodos e verificação da estabilidade das amostras.

a equipamento foi também notória a evolução pois um velho fotocolorímetro foi substituído primeiro por Coleman Junior 2 A e depois, desde 1971, o laboratório vem sendo equipado com a aparelhagem moderna que o seu desenvolvimento justifica: fotómetro Eppendorf adaptado a estudo de enzimas e à mais actual metodologia de Química Clínica pois que com registador acoplado, termoestatização e deslocção automática de cuvets, sistema permitindo a migração electroforética de proteínas e lipoproteínas em diferentes meios de suporte e a respectiva desintometria com integração em muito boas condições técnicas, um aparelho Coulter D e respectivos acessó-

rios a permitir pôr de lado as fatigantes contagens de eritrócitos e leucócitos ao microscópio. Entretanto, servindo tudo, foram crescendo o equipamento e material de apoio, centrífugas, potenciómetros, banhos-maria, sistemas de distribuição de reagentes, micropipetas de vários tipos.

### II — Orientação e Finalidade

Ainda que procure continuar a fase de estruturação, estudo e controlo de novas determinações, o laboratório procura agora orientar-se para a execução diária de muito maior número de análises mecanizando a sua exe-

cação. Poderá, realizando-o, vir a desempenhar de forma eficiente, a dupla finalidade que lhe incumbe:

- a) apoio aos Serviços de Saúde ou outros;
- b) execução de trabalho específico no campo da Saúde Pública por realização de programas de rastreio de doenças crónico-degenerativas e genéticas, quantificação da saúde através de elementos bioquímicos.

### III — Estrutura e pessoal

O Laboratório realiza trabalho nos campos de Química Clínica e de Hematologia, esboçando-se pois as duas subsecções respectivas:

- 1) A Hematologia compete a realização das análises hematológicas ditas de rotina, o controlo das técnicas existentes e dos aparelhos nelas usados.

Dispõe do pessoal seguinte:

- 2 técnicos superiores;
- 1 preparador e 1 ajudante de laboratório.

### 2) A Química Clínica compete:

- a) a realização das análises respectivas consideradas como serviço de rotina;
- b) a efectivação de trabalho especial que vem decorrendo desde há um ano e meio e respeita às determinações em relação com o metabolismo dos lípidos em indivíduos sãos, e clinicamente doentes (problemas cardio-vasculares) com classificação dos tipos hiperlipidémicos encontrados, segundo Fredrickson;
- c) actividades inerentes ao funcionamento e desenvolvimento do laboratório compreendendo a actualização das técnicas existentes, a introdução de novas determinações, o controlo de qualidade em ordem à reprodutibilidade e exactidão dos resultados.

Dispõe do pessoal seguinte:

- 2 técnicos superiores;
- 2 preparadores;
- 1 ajudante de laboratório;
- 1 escrivão de 2.ª classe.

### IV — Dados Estatísticos

|                                                   | 1971     |               | 1972     |               |
|---------------------------------------------------|----------|---------------|----------|---------------|
|                                                   | Análises | Determinações | Análises | Determinações |
| Hemogramas                                        | 1 117    | 5 585         | 1 657    | 8 285         |
| Rubros + hemoglobina + hematócrito                | 1 179    | 3 537         | 1 339    | 4 017         |
| Eritrócitos com granulação basófilas              | —        | —             | 5        | 5             |
| Plaquetas                                         | 3        | 3             | 30       | 30            |
| Leucograma                                        | —        | —             | 8        | 8             |
| Velocidade de Sedimentação                        | 936      | 936           | 828      | 828           |
| Tempos de Hem + coagulação + Retracção do Coágulo | 178      | 356           | 261      | 583           |
| Tempo de Protrombina                              | 30       | 30            | 44       | 44            |
| Transaminases                                     | 92       | 184           | 104      | 222           |
| Fosfatase alcalina                                | 10       | 10            | 20       | 20            |
| Fosfatase ácida                                   | 1        | 1             | 2        | 2             |
| $\alpha$ amilase                                  | 1        | 1             | 2        | 2             |
| Desidrogenase láctica                             | 2        | 2             | 4        | 4             |
| Glucose 6 fosfato desidrogenase                   | —        | —             | 2        | 2             |
| Cálcio                                            | 15       | 15            | 22       | 22            |
| Clóretos                                          | 11       | 11            | 22       | 22            |
| Sódio                                             | 15       | 15            | 14       | 14            |
| Potássio                                          | 15       | 15            | 18       | 18            |
| Fósforo                                           | 3        | 3             | 8        | 16            |

|                                                             |              |               |               |               |
|-------------------------------------------------------------|--------------|---------------|---------------|---------------|
| Glucose                                                     | 652          | 652           | 993           | 993           |
| Provas de tolerância de Glucose                             | 32           | 256           | 56            | 432           |
| Ureia                                                       | 380          | 380           | 614           | 614           |
| Creatinina                                                  | 6            | 6             | 4             | 4             |
| Provas de dep. (ureia e creatinina)                         | 3            | 6             | 7             | 14            |
| Colesterol                                                  | 170          | 170           | 745           | 745           |
| Esteres do Colesterol                                       | —            | —             | 30            | 30            |
| Colesterol e Lipoproteínas                                  | 71           | 71            | 558           | 558           |
| Trigliceridos                                               | 83           | 83            | 637           | 637           |
| Lipoproteínas de baixa densidade                            | 71           | 71            | 561           | 561           |
| Lipidograma                                                 | 71           | 71            | 558           | 558           |
| Lípidos totais                                              | 11           | 11            |               |               |
| Ácido úrico                                                 | 24           | 24            | 120           | 120           |
| Proteínas totais e fracções                                 | 64           | 64            | 84            | 152           |
| Electroforese das proteínas                                 | 43           | 86            | 80            | 160           |
| Reacção de Hanger                                           | 211          | 211           | 305           | 305           |
| Reacção de Timol                                            | 211          | 211           | 305           | 305           |
| Reacção de Kunkel                                           | 1            | 1             | 4             | 4             |
| Reacção sulfato de cádmio                                   | —            | —             | 4             | 4             |
| Reacção de Takata-Ara                                       | 34           | 34            | 66            | 66            |
| Retenção da Bromosulfaleína                                 | 6            | 6             | 6             | 6             |
| Bilirrubina                                                 | 20           | 20            | 47            | 94            |
| Siderémia e capacidade de fixação do ferro                  | 37           | 40            | 98            | 98            |
| Liquor (ex. químico)                                        |              |               | 1             | 1             |
| Urinas (tipo II)                                            | 2 974        | 20 818        | 4 384         | 30 892        |
| Diagnóstico de gravidez                                     | 272          | 272           | 637           | 637           |
| Exame parasitológico de fezes                               | 29           | 29            | 28            | 28            |
| Várias (eosinófilos no ex. nasal, esperma, cálculos renais) | 6            | 6             | 10            | 10            |
| <b>TOTAL</b>                                                | <b>9 090</b> | <b>34 303</b> | <b>15 334</b> | <b>52 172</b> |

## 1.6 ACTIVIDADES DAS COMISSÕES

### 1.6.1 Grupo de Trabalho sobre a Poluição do Ar

De acordo com a alínea e) do artigo 25.º do Decreto-Lei n.º 413/71, de 27 de Setembro, e alínea e) do artigo 5.º do Decreto n.º 35/72, de 31 de Janeiro, o Grupo de Trabalho sobre a Poluição do Ar, criado pela Portaria n.º 22 035, de 6 de Junho de 1966, passou a funcionar no INSA, por transferência da Direcção-Geral de Saúde.

A primeira sessão, na sede do INSA, teve lugar no dia 12 de Maio de 1972, mantendo o Grupo a sua constituição:

- Dr. António José de Lemos Salta, representante da Direcção-Geral de Saúde;
- Eng.º António José dos Santos Gonçalves, representante da Direcção-Geral dos Serviços Industriais;
- Dr.ª Maria Ernestina da Silva Graça Mendes, representante do Instituto Nacional de Saúde;

Eng.º Jaime Pereira, representante da Câmara Municipal de Lisboa;

Eng.º Diógenes Loureiro Machado Palha, representante da Direcção-Geral dos Combustíveis;

Eng.ª Vera Peres Costa Bruto da Costa, representante do Instituto Nacional de Investigação Industrial;

Dr. Alfredo Simões Mendes, representante do Serviço Meteorológico Nacional;

Eng.º Manuel Joaquim Frias dos Santos Rézio, representante da Direcção-Geral de Viação;

Dr. Paulo de Tarso Pacheco Carreiro, representante da Comissão Interministerial de Cooperação Económica Externa;

Eng.º Rui Fernando da Cruz Vasconcelos, representante da SACOR;

Eng.º Joaquim dos Santos Viseu, representante da Siderurgia Nacional; e

Eng.º Vítor Manuel Chagas dos Santos, representante da CUF.

A presidência do Grupo, nos termos da alínea c) do artigo 7.º do Decreto n.º 35/71, pas-

sou a ser exercida pelo director do INSA, e o apoio administrativo ficou a cargo dos serviços administrativos do INSA.

Na primeira reunião foi feito o balanço da situação em que se encontrava o Grupo, quanto às suas diversas atribuições e actividades desenvolvidas, e estudados alguns aspectos que foram considerados mais urgentes na orientação e programas de trabalho a seguir:

- a) apreciação das reacções que tinham suscitado as propostas de organização do Secretariado do Grupo, que deveria ser dotado de capacidade para decidir dos planos de trabalho, da sua execução e do uso de meios financeiros adequados;
- b) responsabilidades de trabalho a atribuir aos laboratórios e outros serviços dos organismos com representantes no Grupo;
- c) definição das relações de trabalho do Grupo com a Comissão Nacional do Ambiente, criada pela Portaria n.º 316/71, de 19 de Junho.

A proposta de elaboração de uma nota esquemática que resumisse os trabalhos do Grupo, relativamente à colheita de dados até então empreendida, que indicaria a situação na cidade de Lisboa e na região Barreiro-Seixal e tiraria as conclusões adequadas, utilizando todas as informações disponíveis de ordem laboratorial e meteorológica até ao fim do Verão de 1972, de forma a tornar conhecida da Comissão Nacional do Ambiente e das entidades superiores directamente relacionadas com o problema a situação existente e a evolução recente dos seus principais aspectos, suscitou dúvidas que levaram a adiamentos sucessivos da sua apresentação definitiva.

Por outro lado, o atraso na recolha dos dados provenientes dos postos a cargo das empresas e sua apresentação ao Grupo, que num dos casos vinha de 1969, data do último relatório de conjunto do Grupo, contribuiu para que a referida nota não fosse ultimada.

A recolha dos elementos entretanto disponíveis levou, em Novembro de 1972, à apresentação de um relatório prévio, que não satisfiz os objectivos definidos durante 1972 pelo Grupo, por não incluir novos dados de interesse fundamental, entretanto obtidos, e que servem para uma análise mais exacta da situação, e por não fazer as apreciações ou reco-

mendações que deveriam habilitar as entidades superiores a apreciar concretamente o problema da poluição nas áreas referidas.

Está presentemente entregue a dois redactores a tarefa da elaboração da nota a que se refere a proposta inicial feita ao Grupo pelo Presidente, cujas dificuldades de redacção trazem bem a divergência de pontos de vista, no seio do Grupo, sobretudo quanto a referências a valores de índices de poluição baixos, indicados por organismos internacionais, como é o caso da OMS, e países em que o assunto está a ser considerado seriamente.

Entre o critério de que os interesses das populações, em diminuir ao mínimo possível a poluição evitável, defendido pelas autoridades de saúde, e o de que é inevitável um grau elevado de poluição com o desenvolvimento industrial, defendido com argumentos já ultrapassados no tempo pelos representantes da indústria, há que tomar posição, naturalmente, em defesa da saúde dos indivíduos e das colectividades, esclarecendo, a tempo e horas, os diversos aspectos da questão.

É, nesta emergência, que o Grupo encontra dificuldades, por ter de indicar saídas concretas para o problema da poluição em aumento entre nós.

#### 1.6.2 *Comissão Técnica dos Novos Medicamentos*

Em conformidade com o disposto na alínea c) do artigo 25.º do Decreto-Lei n.º 413/71, de 27 de Setembro, e alínea c) do artigo 5.º do Decreto n.º 35/72, de 31 de Janeiro, a Comissão Técnica dos Novos Medicamentos, criada pelo Decreto n.º 41 448, de 18 de Dezembro de 1957, passou a funcionar no INSA, em Abril de 1972, por transferência da Direcção-Geral de Saúde.

Esta Direcção-Geral comunicou ao INSA, pelo ofício n.º 278, de 22 de Março, recebido em 11 de Abril, que, a partir desta data, todos os trabalhos da Comissão tinham ali terminado.

A primeira sessão, na sede do INSA, teve lugar em 17 de Abril, mantendo a Comissão a mesma constituição do seu corpo de vogais e de representantes do Ministério do Ultramar:

Prof. Dr. José João Andresen Leitão, representante da Faculdade de Medicina de Lisboa;

Prof. Dr. Albano Pereira Júnior, representante da Faculdade de Farmácia de Lisboa;

Dr. António Perquilhas Teixeira, representante da Ordem dos Farmacêuticos;

Dr. Augusto José Ferreira de Almeida, representante da Ordem dos Médicos;

Dr.<sup>a</sup> Edith de Oliveira Machado, representante da Comissão Reguladora dos Produtos Químicos e Farmacêuticos;

Dr. João Augusto Rosa Azevedo, representante da Direcção-Geral dos Produtos Pecuários;

Prof. Dr. Fernando Simões da Cruz Ferreira, Professor Catedrático do Instituto de Higiene e Medicina Tropical; e

Dr.<sup>a</sup> Maria Sílvia Antunes Rosas, Técnica Farmacêutica da Direcção-Geral de Saúde e Assistência do Ministério do Ultramar.

A presidência da Comissão, nos termos da alínea c) do artigo 7.º do citado Decreto, passou a ser exercida pelo director do INSA, e o apoio administrativo ficou a cargo dos serviços administrativos do INSA.

A Comissão iniciou as suas actividades no INSA, continuando com o estudo dos processos já distribuídos anteriormente pelos vogais ou em análise e os pendentes de esclarecimentos solicitados às firmas interessadas e, ainda, com a imensa sobrecarga de mais 113 processos que, durante esse mês de Abril, a Direcção-Geral lhe enviou.

Contando com a boa vontade e grande capacidade de trabalho de todos os vogais, foi possível estabelecer uma orientação e um ritmo de trabalho que concorreram, directa ou indirectamente, para o encurtamento do tempo que mediava entre a apresentação dos pedidos e a sua apreciação final, demora que os interessados consideravam excessiva e da qual se queixavam.

Não foi tarefa fácil para a Comissão, na parte que lhe competia, dado não só o elevado número de processos com que se viu a braços no início do seu trabalho no INSA, como pelos ajustamentos que havia a fazer com as restantes entidades envolvidas, desde a organização dos processos à efectivação do apoio analítico.

Ao terminar o ano de 1972, verificava-se já que se recebiam na Comissão os processos enviados pela Direcção-Geral apenas com um intervalo de quatro (4) meses, após a sua

entrada ali, enquanto que inicialmente esse intervalo era de onze (11) meses.

Com tal ritmo de trabalho, de todos quantos prestam o seu concurso à Comissão, incluindo o apoio analítico, é de prever que até ao fim do ano de 1973 seja possível reduzir para quatro (4) meses o máximo de tempo total para o estudo completo, com resolução final, dos processos de novos medicamentos e suas modificações, que se apresentam convenientemente organizados e instruídos, se tal interessar à Direcção-Geral de Saúde.

Durante o período de Abril a Dezembro de 1972, a Comissão Técnica dos Novos Medicamentos teve o seguinte movimento:

a) Processos recebidos da Direcção-Geral de Saúde, para apreciação:

— 380, referentes a pedidos de introdução no mercado de novos medicamentos;

— 168, referentes a pedidos de novas formas farmacêuticas, de modificações das já existentes ou de alterações de literaturas;

b) Processos devolvidos à Direcção-Geral de Saúde, devidamente apreciados:

— 301, relativos a pedidos de introdução no mercado de novos medicamentos;

— 107, relativos a pedidos de novas formas farmacêuticas, de modificações das já existentes ou de alteração de literaturas;

c) Pedidos de análises aos laboratórios da Comissão Reguladora dos Produtos Químicos e Farmacêuticos, do Instituto Bacteriológico Câmara Pestana e do Centro Nacional da Gripe:

— 248, respeitantes a produtos com uma ou mais formas farmacêuticas;

d) Análises recebidas das entidades indicadas na alínea anterior:

— 190, respeitantes a produtos com uma ou mais formas farmacêuticas;

e) Sessões realizadas:

— 36, que motivaram o seguinte expediente:



- 1) 36 actas, com um total de 247 folhas dactilografadas
- 2) 756 pareceres, com um total de 1126 folhas dactilografadas
- 3) 1071 officios expedidos;

- f) Registo em fichas e nos livros regulamentares de todo o movimento de entradas, saídas, distribuição de processos e arquivos respectivos;
- g) Serviço de transporte, para distribuição e recolha dos materiais de trabalho da Comissão.

Pelo número de pareceres emitidos pelos vogais da Comissão, pode avaliar-se da intensa actividade desta durante o referido período de tempo, e do apoio que recebeu das entidades colaboradoras já referidas.

Ao terminar o ano de 1972, não havia processos retidos no INSA, para estudo. Todos tinham sido distribuídos aos vogais da Comissão, à medida que foram sendo recebidos da Direcção-Geral de Saúde, e os pareceres ainda não concluídos aguardavam as respostas dos laboratórios de análise.

## 2. ACTIVIDADES DA DELEGAÇÃO

*Aloísio José Moreira Coelho*

### SUMÁRIO

1. Introdução
2. Relatório referente ao período 1965-1972
  - 2.1 Instalações
  - 2.2 Equipamento
  - 2.3 Pessoal
  - 2.4 Actividade da Delegação
    - 2.4.1 Laboratórios
      - 2.4.1.1 Laboratórios de Biologia e Imunologia
        - 2.4.1.1.1 Laboratório de Bacteriologia
        - 2.4.1.1.2 Laboratório de Parasitologia
        - 2.4.1.1.3 Laboratório de Virologia
        - 2.4.1.1.4 Laboratório de Imunologia e Sero-logia
      - 2.4.1.2 Laboratório de Bioquímica
      - 2.4.1.3 Laboratório de Nutrição e Higiene dos Alimentos
      - 2.4.1.4 Laboratório de Higiene e Saneamento do Meio Ambiente e de Higiene Industrial
    - 2.4.2 Serviços administrativos
    - 2.4.3 Ensino

- 2.4.4 Bolsas de estudo, Cursos, Estágios, etc.
- 2.4.5 Participação em Reuniões, Congressos, etc.
- 2.4.6 Trabalhos publicados
3. Agradecimentos
4. Anexos (Quadros)

## 1. INTRODUÇÃO

O período decorrido desde que pela última vez foi dado à estampa o Relatório da Delegação do Instituto Nacional de Saúde no Porto (relatório correspondente ao ano de 1964) caracterizou-se por vários acontecimentos da maior importância para a vida da Delegação, de que se salientam, pelo seu particular interesse, a remodelação dos seus serviços, realizada no âmbito da reorganização geral do Instituto, levada a efeito em 1971. Em relação com esta remodelação, é ainda de salientar a criação de dois novos laboratórios, em consequência da contínua expansão das actividades do Serviço.

1.1 Ao finalizar a primeira década da sua existência, salientava-se no Relatório acima referido — repetindo, aliás, uma ideia em que se vinha insistindo desde 1961 — que a Delegação atingira, em relação à actividade dos seus serviços administrativos e laboratoriais, o máximo rendimento a esperar do quadro de pessoal e das disponibilidades financeiras de que então se dispunha, acentuando-se, como se vinha fazendo desde 1962, a necessidade urgente de modificar o quadro do pessoal e a dotação de algumas rubricas do orçamento, a fim de se poderem alargar as possibilidades de trabalho do Serviço de forma a poder corresponder às necessidades sempre em aumento.

De facto, depois duma fase inicial de estruturação e desenvolvimento dos Serviços, que se prolongou por cerca de quatro anos, pode dizer-se que as diferentes secções dos laboratórios vieram a atingir o seu pleno desenvolvimento por volta de 1958, de tal forma que, no relatório correspondente a esse ano, foi possível afirmar que, no decurso do mesmo, tinham sido atingidos todos os objectivos que haviam sido fixados no plano de trabalho da Delegação para esse período. Nessa época e nos quatro ou cinco anos que se lhe seguiram, puderam os laboratórios da Delegação desempenhar de forma bastante satisfatória as suas funções, não só no domínio da prestação de serviços analíticos de rotina às autoridades sanitárias da região, mas também e sobretudo

no estudo de diversos problemas de saúde de interesse local ou geral. A pouco e pouco, porém, o serviço de rotina foi progressivamente aumentando e veio a atingir tais proporções que, por volta de 1968, tinha submergido quase por completo as restantes actividades dos laboratórios. Conforme se referia no relatório correspondente a este último ano (não publicado), de 1958 a 1968, o serviço de rotina teve um acréscimo de perto de 200% — enquanto o quadro do pessoal permaneceu sempre o mesmo.

A situação continuou a agravar-se e, nestas condições, compreende-se que tenha sido com grande satisfação e não menor alívio que se tomou conhecimento da remodelação do quadro do pessoal, finalmente iniciada em 1970 (Portaria 286/70) e completada em 1971 (Decreto-Lei n.º 413/71). Graças a esta remodelação, foi possível normalizar em grande medida as condições de trabalho dos serviços laboratoriais e administrativos, sendo de esperar que o aproveitamento integral dos benefícios possibilitados pelo novo quadro possa vir a alcançar-se no decurso dos próximos anos. Deve contudo frisar-se que o actual quadro não pode considerar-se definitivo, pois tudo leva a pensar que, ao ritmo a que se tem processado o desenvolvimento dos serviços e em face das perspectivas que se oferecem para um futuro próximo (construção de novas instalações), dentro de poucos anos necessitará de ser revisto.

1.2 Se a tão desejada remodelação do quadro do pessoal veio permitir à Delegação ajustar melhor o seu trabalho às necessidades que lhe compete satisfazer — tendo inclusive possibilitado a organização de novos laboratórios, cuja criação se impunha (como sejam o de Parasitologia e o de Higiene Industrial e Poluição do Meio Ambiente) — a verdade é que esta grande melhoria não fez desaparecer todas as dificuldades da Delegação, que atravessa um momento extremamente difícil pelo que se refere às instalações.

Alojada num velho edifício (parte do Convento de Santa Clara) que teve de sofrer obras de adaptação programadas para um determinado volume de trabalho, facilmente se adivinha que, ao fim de perto de vinte anos de crescimento contínuo das actividades laboratoriais, o espaço, explorado até ao extremo limite, terá deixado de ser suficiente para as necessidades, não só dos serviços laborato-

riais, como também dos serviços administrativo e do sector do ensino.

A situação sob este aspecto é extremamente preocupante, pois as limitações do espaço — às quais se juntam as resultantes da deterioração progressiva das instalações, constantemente necessitadas de obras de reparação — coarctam de forma dramática as possibilidades de expansão do Serviço. Embora se possam encarar para este problema algumas soluções de compromisso, a sua solução definitiva só poderá ser conseguida em bases satisfatórias com a construção das novas instalações, prevista desde há quatro ou cinco anos, e com verbas já inscritas no III e IV Planos de Fomento, mas ainda não iniciada.

1.3 A reorganização do Instituto — que, para poder corresponder ao novo âmbito das suas atribuições, viu a sua denominação alterada, de Instituto Superior de Higiene, para Instituto Nacional de Saúde — teve, como não podia deixar de ser, reflexos profundos na Delegação, à qual são cometidas, dentro das possibilidades respectivas e em relação à sua área territorial, as mesmas atribuições que competem à Sede do Instituto, e que, como é sabido, se repartem por três sectores fundamentais: investigação nos domínios da saúde, acção laboratorial de Saúde Pública e ensino.

De acordo com a nova orgânica do Instituto, todos os serviços da Delegação foram remodelados, de acordo com as normas constantes do Regulamento publicado em 31 de Janeiro de 1972 (Decreto n.º 35/72), conforme adiante se refere em mais pormenor.

## **2. RELATÓRIO REFERENTE AO PERÍODO 1965-1972**

Descritos assim sumariamente alguns aspectos fundamentais da vida da Delegação nos últimos anos, apresenta-se a seguir um relato das actividades desenvolvidas desde a publicação do último relatório, ou seja do período correspondente aos anos de 1965 a 1972.

Começarão por fazer-se algumas considerações de ordem geral, passando-se a seguir em revista os aspectos particulares respeitantes a cada secção e, a fim de não alongar demasiado o Relatório, só se referirá em pormenor o ano de 1972.

### **2.1 Instalações**

Em relação a instalações, os principais factos a mencionar neste período, além dos

referidos na introdução em relação com a actual insuficiência das mesmas, são os seguintes:

- a instalação dos laboratórios de Parasitologia e de Imunologia nas dependências anexas ao edifício principal que, durante muitos anos, foram ocupadas pela Comissão Arbitral do Porto;
- a instalação do Laboratório de Higiene Industrial no último piso do edifício principal, onde foi ocupar parte da área destinada ao ensino;
- a instalação de um pequeno refeitório para o pessoal técnico numa dependência do primeiro andar;
- a remodelação do Laboratório de Virologia, com alargamento da área respectiva;
- a montagem de um gabinete para imunofluorescência;
- a remodelação do biotério;
- a instalação de um monta-cargas eléctrico para servir todos os andares dos laboratórios do edifício principal;
- a construção de uma sala de esterilização para autoclaves.

Todas as obras mencionadas implicaram, além das despesas de equipamento (mobiliário, bancadas, sistemas de exaustão, etc.), trabalhos de construção civil, por vezes bastante dispendiosos, que, duma forma geral, foram levados a cabo, com grandes dificuldades, através das dotações normais da Delegação.

## 2.2 Equipamento

No período que estamos a considerar, verificou-se um grande reforço do equipamento da Delegação, sobretudo no que diz respeito à aparelhagem de laboratório. Este reforço, que acompanhou e em certa medida é consequência e causa do constante aumento de actividade verificado, fez-se também, duma forma geral, à custa das dotações normais, salvo no ano de 1970, em que foi possível contar para o efeito com uma dotação especial de 1000 contos, inscrita no III Plano de Fomento.

Além de numerosos aparelhos correntes de toda a ordem (banhos-maria, centrífugas, estufas, frigoríficos, microscópios, etc.), foi possível ainda adquirir neste período alguns aparelhos especiais, de que se salientam os seguintes: um congelador para  $-70^{\circ}\text{C}$ ; um con-

gelador de azoto líquido; uma máquina eléctrica para lavagem de material de vidro; um equipamento para leitura automática de electroforeses; um liofilizador; um criostato; um equipamento de microscopia para imunofluorescência completo, com sistema de fotografia automático; e um espectrofotómetro de absorção atómica.

Também os serviços administrativos foram equipados com aparelhagem aperfeiçoada própria do sector (fotocopiadores, polícopiador, máquina de calcular, etc.).

Da mesma forma, o sector do ensino foi muito enriquecido no que respeita a meios audio-visuais, com a aquisição de um projector de filmes de 16 mm, um projector de filmes fixos, um projector de diapositivos, um retro-projector e um gravador. Estas aquisições foram, no geral, efectuadas com o auxílio de verbas inscritas no III Plano de Fomento e destinadas aos Cursos de formação de pessoal técnico para os serviços de saúde.

Pode considerar-se que, pelo que se refere a equipamento, e graças ao esforço feito neste domínio, a Delegação se encontra actualmente muito razoavelmente apetrechada, quer em quantidade, quer em qualidade; mas o ritmo a que continua a processar-se o desenvolvimento das suas actividades obriga a encarar a necessidade de se continuar a reforçar o equipamento dos laboratórios, com vista sobretudo à mecanização e automatização das técnicas.

## 2.3 Pessoal

Neste domínio há dois factos principais a mencionar: a mudança da Direcção, em 1967, e a entrada em vigor do novo quadro de pessoal, em 1969-71.

A mudança da Direcção deu-se em Fevereiro de 1967, quando o Prof. Francisco António Gonçalves Ferreira, primeiro Director da Delegação foi transferido para Lisboa, a fim de tomar conta da Direcção da Sede do Instituto. Tendo sido encarregado da montagem da Delegação em 1954, o Prof. Gonçalves Ferreira acompanhou e moldou os destinos desta desde a primeira hora, tendo-lhe imprimido logo de entrada uma orientação de trabalho cuja marca indelével ainda perdura.

Para substituir o Prof. Gonçalves Ferreira foi nomeado o Dr. Aóísio José Moreira Coelho, que, desde 1963, exercia as funções de Chefe dos Serviços de Laboratório da Delegação e que, a partir de 11 de Outubro de

1972, passou a ocupar o lugar de Subdirector do Instituto, em Lisboa, não tendo ainda sido substituído.

Conforme se refere na Introdução, a remodelação do quadro do pessoal, iniciada em 1969, constituiu uma medida absolutamente vital para a Delegação. Com efeito, tendo nascido, em 1954, com um quadro de 12 elementos (dos quais 5 correspondentes ao pessoal técnico), quadro esse que foi ampliado em 1957 para 17 elementos (8 dos quais correspondentes ao pessoal técnico), a Delegação viveu uma situação verdadeiramente difícil até Maio de 1969, data em que se iniciou a remodelação do quadro, que, em Junho de 1970, passou então a contar com 49 elementos (dos quais 39 correspondentes ao pessoal técnico). Com a reforma do Instituto, em Setembro de 1971 (Decreto-Lei n.º 413/71), abriu-se a possibilidade de se vir a alargar ainda mais este quadro para um total de 78 elementos (dos quais 61 correspondentes ao pessoal técnico).

Nestas condições, e pelo que se refere ao pessoal, é possível esperar que a Delegação venha a estar, nos anos que se avizinham, em situação de poder dar realização às tarefas que lhe incumbe realizar a bem da saúde pública no Norte do País.

## 2.4 Actividades da Delegação

### 2.4.1 Laboratórios

As actividades laboratoriais repartiram-se pelos sectores habituais referidos nos anteriores relatórios, embora com acentuada predominância dos trabalhos de rotina, que, conforme se acentuou de entrada, monopolizaram quase por completo a actividade do pouco pessoal existente, que deixou de estar disponível para outro tipo de trabalhos.

Com efeito, comparando os números referentes ao ano de 1964, último de que foi publicado Relatório, com os de 1972 (V. Quadro I) verifica-se que continuou a manter-se a habitual tendência para o aumento do número de determinações efectuadas. No período considerado, o aumento cifrou-se em cerca de 20%, o que corresponde a um acréscimo considerável visto que incidiu sobre números já muito elevados em relação às possibilidades de pessoal do Serviço.

Como se verifica pelo Quadro I, que adiante se analisa em mais pormenor, o aumento do número de determinações incidiu sobretudo nos sectores de Bacteriologia Sanitária, da

Serologia, da Hematologia e da Parasitologia. O aumento bastante significativo, de mais de 5 vezes, verificado em relação à Hematologia, deve-se sobretudo ao facto de a Delegação ter passado a prestar apoio laboratorial ao Instituto Maternal.

Anota-se com satisfação o acréscimo ocorrido no sector da Bacteriologia Sanitária (de 675 determinações, em 1964, para 11 520, em 1972), indicativo de que a Delegação está a desenvolver de forma muito acentuada a sua acção laboratorial no domínio da Saúde Pública.

Apresentam-se seguidamente alguns elementos de pormenor referentes à actividade de cada um dos laboratórios no ano de 1972.

**2.4.1.1 Secção de Biologia e Imunologia** — Esta Secção, criada pelo novo Regulamento do Instituto, engloba um certo número de laboratórios diferenciados que anteriormente se encontravam ligados ao Laboratório de Bacteriologia. São eles:

- a) Bacteriologia e micologia
- b) Parasitologia
- c) Virologia
- d) Citologia e anatomia patológica
- e) Hematologia
- f) Imunologia e Serologia
- g) Biotério

Um destes laboratórios — o de Citologia e Anatomia Patológica — ainda não pôde ser montado, por dificuldade de recrutamento de pessoal especializado.

Dos restantes, continua a estar ligado à Bacteriologia, por razões de instalação e pessoal, o Laboratório de Hematologia; e colocou-se na dependência da Parasitologia o Biotério, dadas as estreitas ligações funcionais entre ambos os Serviços — o que não impede que o Biotério seja utilizado por todas as secções que dele têm necessidade.

A concentração, até há pouco verificada, das actividades referentes ao 1.º, 2.º, 5.º e 6.º sectores assinalados, num único laboratório — constante apenas de 3 salas de trabalho de pequenas dimensões — aliada ao aumento de serviço de rotina, fez com que, nos últimos anos, se tenha vindo a criar no Laboratório de Bacteriologia uma situação cada vez mais difícil, que acabou por ter de se considerar verdadeiramente insustentável. Assim, a diferenciação funcional dos diferentes laboratórios, feita pelo Regulamento do Instituto, veio a coin-

cidir com a necessidade imperiosa de correspondente diferenciação física, no que respeita às respectivas instalações.

Deste modo, foi possível, ainda em 1972, transferir para novo local o Laboratório de Serologia, estando previstas para 1973 mais as seguintes alterações: ocupação do actual gabinete de colheitas (que serão transferidas para o rés-do-chão) pelo Gabinete da Tuberculose; e aproveitamento do compartimento que tem servido de gabinete de trabalho ao Chefe de Serviços de Laboratório (entidade que deixou de existir no quadro do pessoal) para trabalhos de laboratório.

O Laboratório de Parasitologia, conforme adiante se indica, havia já passado a dispor de instalações privativas no princípio de 1971.

Este conjunto de alterações terá como resultado que o Laboratório de Bacteriologia vai passar a dispor de 5 compartimentos de trabalho contíguos, um dos quais será reservado em exclusivo para a Hematologia, ficando outro para a Bacteriologia Clínica, outro para a Tuberculose e dois para a Bacteriologia Sanitária (águas e alimentos).

Todas estas alterações são consideradas da maior importância, dado que o aumento do número de análises, as exigências de ambiente e isolamento, como no caso da tuberculose, e a obtenção de espaço para uma disposição mais funcional de equipamento e postos de trabalho, são factores a tomar na devida conta para um melhor funcionamento dos serviços, tendo em vista a eficiência na rotina, a realização de trabalhos de estudo e a preparação de estagiários, que, actualmente, são permanentes em todos os laboratórios.

As condições de trabalho beneficiarão assim de forma sensível, embora tenham de continuar a considerar-se pouco satisfatórias, não só quanto a espaço, mas inclusive quanto ao estado de conservação das instalações.

Como consequência das alterações efectuadas na distribuição dos laboratórios e também pela necessidade de melhorar e alargar as possibilidades de trabalho, tornou-se necessário encarar a aquisição de uma série de aparelhos e outros tipos de equipamento, no valor de algumas centenas de contos, que, no entanto, só poderá vir a materializar-se em 1973.

**2.4.1.1.1 Laboratório de Bacteriologia** — Durante o ano este laboratório continuou a contar sensivelmente com o mesmo pessoal do ano anterior, o que quer dizer que continua a lutar com dificuldades, tanto mais que se

deparou com alguns obstáculos relativamente ao pessoal técnico auxiliar (Preparadores).

O Laboratório continuou a ser chefiado por um Assistente de 1.ª classe (no decurso do ano promovido a Técnico especialista) e a contar com o concurso de dois Assistentes de 2.ª classe, três Técnicos auxiliares de laboratório de 2.ª classe, uma Preparadora de 1.ª classe, três Preparadoras de 2.ª classe (das quais só uma esteve ao serviço, devido às dificuldades de recrutamento acima referidas), três Ajudantes de laboratório e quatro Auxiliares de laboratório. Neste pessoal inclui-se o que presta serviço no sector da Lavagem, Esterilização e Preparação de Meios (num total de seis elementos). O grande aumento do do volume de trabalho deste último sector, sobretudo em relação com o apoio prestado aos recém-inaugurados Centros de Saúde, tem feito sentir de forma premente a necessidade de se reforçar o respectivo pessoal com mais um ou dois elementos, a nível de Preparador ou de Auxiliar de Laboratório.

As actividades do Laboratório processaram-se mais ou menos dentro da mesma orientação do ano anterior.

O movimento analítico (\*), como se verifica pelos Quadros, continuou a demonstrar tendência ascendente. Houve um aumento global relativamente ao ano anterior (mais 1574 produtos e 10 271 determinações), correspondendo este aumento sobretudo às análises serológicas, hematológicas e de águas e alimentos. Os aumentos verificados estão em grande parte relacionados com o apoio agora prestado aos Centros de Saúde.

Do trabalho com carácter especial realizado em 1972, destaca-se:

— O «contrôle» laboratorial de Salmonelas no pessoal duma grande empresa da indústria alimentar, que este ano incidiu sobre 605 amostras (367 em 1971).

— O trabalho de apreciação das características microbiológicas de alimentos, refrigerantes e águas minerais, efectuado em 193 amostras, a pedido da I. G. P. A. I. e I. G. E. A.

— O trabalho de estudo da flora microbiana do líquido jejunal, realizado em colaboração e por solicitação do Prof. Gouveia Monteiro (ser-

---

(\*) Como só no fim do ano é que o Laboratório de Imunologia e Serologia se tornou independente, consideram-se ainda os respectivos números em conjunto com os da Bacteriologia.

viço de Gastrenterologia da Faculdade de Medicina de Coimbra), para estudo de doentes com polioneuropatia amiloidótica familiar.

O laboratório colaborou no Curso Intensivo para médicos de Saúde Pública, com aulas teórico-práticas sobre a análise bacteriológica das águas de abastecimento, e no Curso de Agentes Sanitários, com aulas versando os seguintes temas: Noções gerais de Microbiologia; Esterilização; e Técnica de colheita de águas para análise bacteriológica. Colaborou ainda, como habitualmente, no Curso de Preparadoras.

Durante o ano as diferentes secções do Laboratório receberam 12 estagiários, sendo 7 licenciados em Farmácia e 5 Preparadoras. Quatro dos licenciados e todas as preparadoras destinavam-se aos Laboratórios de Saúde Pública.

O Laboratório manteve estreita ligação com os Laboratórios de Saúde Pública da região, a quem prestou importante apoio, tendo-se alguns dos responsáveis deslocado mais que uma vez a vários deles, para ajudar a resolver problemas locais.

Também se manteve a habitual colaboração com a sede, sobretudo para estudo da uniformização de métodos relativamente à análise de águas e à serologia da sífilis.

**2.4.1.1.2 Laboratório de Parasitologia** — Este Laboratório é, com o da Higiene Industrial, o mais recente do Instituto, pois só veio a diferenciar-se formalmente em Fevereiro de 1971.

A individualização de um Laboratório de Parasitologia na Delegação resultou do desejo de se obviar à grande carência que, sob o ponto de vista técnico-científico, se verificava neste domínio no Norte do País. A directriz que presidiu à sua estruturação foi a de criar um serviço de rotina para o diagnóstico das parasitoses mais frequentes, utilizando como métodos de diagnóstico não só os processos clássicos, mas também os modernos métodos imunológicos, apoiando-se qualquer das referidas metodologias numa infra-estrutura de investigação. Houve ainda a preocupação de aproveitar o material de rotina para estudo e para fins didácticos.

A técnica do Serviço tem sido constituída pelos trabalhos de investigação referentes a *Fasciola* e *Schistosoma*, mas, como se disse, as circunstâncias prevaletentes fizeram dedicar grande atenção aos aspectos relacionados com o diagnóstico parasitológico de rotina.

Embora desde o início existisse o propósito de organizar um serviço de rotina operante segundo os dois tipos de metodologia citados, houve, contudo, que optar, de entrada, pelo primeiro, visto ser o que oferecia maiores possibilidades de concretização imediata, quer por razões de equipamento quer por razões de pessoal.

Ao fim de alguns meses foi possível fazer-se o diagnóstico coprológico em condições de rentabilidade tal que permitiram, até ao fim do ano de 1971, não só realizar perto de 1000 análises de rotina, como ainda dispor do material necessário para:

- a) Preparação de aulas práticas para os cursos teórico-práticos de formação de pessoal técnico (agentes sanitários, preparadores, técnicos superiores de laboratório) realizados no Porto e em Lisboa; para um curso destinado a médicos de saúde pública; e ainda para uma série de lições realizadas na Faculdade de Farmácia pelo Chefe do Laboratório;
- b) Realização de vários estudos sobre métodos de diagnóstico coprológico e sobre a incidência de diversas parasitoses em alguns grupos populacionais do Norte do País, conforme adiante se refere.

Aquando da sua criação, e dadas as dificuldades de espaço existentes, o Laboratório de Parasitologia teve de ocupar umas instalações extremamente exíguas no 2.º andar do edifício principal, constituídas apenas por uma sala de trabalho e um pequeno gabinete anexo, que tiveram de ser adaptados para o efeito.

No fim de 1972, depois de obras muito longas e dispendiosas, fez-se a transferência para a parte das instalações deixadas pela Comissão Arbitral do Porto no edifício anexo, onde se procurou conseguir uma compartimentação mais adequada às necessidades do Serviço. As novas instalações continuam no entanto a mostrar-se insuficientes, o que constitui motivo de grande preocupação, dado que o Serviço se encontra em fase de grande expansão, que não convém restringir.

Além das instalações de laboratório, o Serviço conta ainda com instalações de apoio, na cerca e nos armazéns, para os trabalhos experimentais.

O Biotério encontra-se também sob a sua orientação.



Tendo começado apenas com um Assistente de 1.ª classe (entretanto promovido a Técnico especialista), licenciado em Ciências Biológicas, com um Técnico auxiliar de laboratório de 2.ª classe (também licenciado em Ciências Biológicas) e com um Auxiliar de laboratório (ulteriormente promovido a Ajudante de laboratório), o Serviço conta actualmente com o concurso de mais dois Ajudantes de laboratório e ainda com o apoio, em tempo parcial de um Médico-veterinário e de uma Preparadora. Recebe, além disso, apoio quase exclusivo do Auxiliar de laboratório encarregado do Biotério.

Há necessidade urgente de reforçar este pessoal com mais uma Preparadora e, se possível, com mais um técnico licenciado.

Dado que o Serviço foi criado de novo, houve que equipá-lo de raiz, não só pelo que se refere a mobiliário, mas igualmente quanto a aparelhagem, vidraria e outro material de laboratório. Além da aparelhagem de carácter geral (banhos-maria, centrífuga, microscópios, frigoríficos, etc.), houve ainda que adquirir certo tipo de equipamentos especiais, relacionados sobretudo com a cultura de algas e moluscos, com vista à manutenção de estirpes parasitárias *in vitro*.

As actividades do Serviço — que, além do trabalho de laboratório propriamente dito, comportam também trabalho de campo em proporção muito significativa — repartem-se por vários sectores que se interpenetram, mas que, por comodidade de exposição, podemos considerar reduzidos a três:

#### a) Diagnóstico parasitológico de rotina

Desde o início do seu funcionamento, em Fevereiro de 1971, até ao fim de 1972, o Laboratório efectuou 2180 exames — na sua grande maioria exames coprológicos.

A pesquisa de ovos de helmintas foi feita por métodos qualitativos (Ritchie, Willis, Telleman-Lima, Faust, etc.) e, quando necessário, por métodos quantitativos (Stoll e Parfitt).

O material foi aproveitado não só para fins didácticos, como já se referiu, mas também para um estudo comparativo do valor diagnóstico dos diferentes métodos utilizados (trabalho em curso).

Por outro lado, através da casuística do Laboratório, assim como de estudos feitos em alguns grupos populacionais e dum inquérito efectuado na região de Vizela, foi possível colher uma ideia bastante significativa da inci-

dência de algumas parasitoses correntes em algumas populações do Norte do País. Assim, por exemplo:

- 1 — Numa população de emigrantes, constituída por 434 indivíduos predominantemente provenientes de zonas rurais, observou-se uma taxa de infecção com a seguinte distribuição:

|                                |         |
|--------------------------------|---------|
| <i>Trichuris trichiura</i>     | — 77,4% |
| <i>Ascaris lumbricoides</i>    | — 76,2% |
| <i>Giardia lamblia</i>         | — 3,7%  |
| <i>Hymenolepis nana</i>        | — 2,8%  |
| <i>Enterobius vermicularis</i> | — 2,3%  |
| <i>Taenia sp.</i>              | — 0,9%  |

Dos indivíduos parasitados 43,3% apresentavam infecções simples, 52,7% infecção dupla e 75,6% infecção tripla.

- 2 — Em dois grupos de trabalhadores que manipulam géneros alimentícios, num total de 294 indivíduos, verificou-se que 68,7% se encontravam parasitados com mono, duplas e triplas infecções por *Trichuris*, *Ascaris*, *Giardia* e *Strongyloides*, por ordem decrescente de frequência.
- 3 — Resultados ainda mais espectaculares forneceu o estudo efectuado na região de Vizela, em que as observações correspondentes a 10 freguesias revelaram 91,2% de indivíduos parasitados. Este trabalho, que está a ser levado a cabo em colaboração com o Centro de Saúde de Vize'a (que se tem encarregado das colheitas do material e do tratamento dos doentes), permitiu fazer o estudo de grande número de crianças a partir dos três meses de idade, tendo-se encontrado já algumas parasitadas com *Ascaris*, *Trichuris* ou *Giardia*, a partir dos quatro meses — embora a frequência das parasitoses se accentue sobretudo a partir dos dezasseis meses de idade.

Este estudo, que se reputa do maior interesse pelas suas incidências práticas, prossegue, estando agora a realizar-se nas escolas e orfanatos da região.

Julgamos poder considerar que o grande esforço realizado pelo Serviço no domínio do diagnóstico parasitológico foi duplamente bem sucedido. Com efeito, não só se conseguiu dar

378



Laboratório a Lyon (Prof. Kien) e a Lille (Prof. Capron). Este trabalho prossegue, aguardando-se para breve a oportunidade de o continuar no próprio Serviço.

#### c) Outros trabalhos de investigação

Além dos trabalhos de índole imunológica, o Laboratório continua os seus trabalhos de estudo sobre a biologia da *Fasciola* e do *Schistosoma*, tendo recentemente dado início a um trabalho de colaboração com o Doutor Simone Vicente (Laboratório de Parasitologia do Centro de Higrobologia e Edafologia da Universidade de Salamanca) para estudo de *S. bovis* na Península. Os ensaios até agora efectuados não só têm possibilitado a manutenção da estirpe no laboratório, com a produção de mais de 30 000 vermes em escassos meses, como permitiram também demonstrar a susceptibilidade do *Bulinus* português à estirpe de *S. bovis* de Salamanca.

Conforme atrás se indicou o Laboratório de Parasitologia deu colaboração a vários cursos realizados no Instituto (Porto e Lisboa) e fora deste (Faculdade de Farmácia do Porto). Esta colaboração traduziu-se na realização de aulas teóricas e práticas, a cargo da Chefe do Laboratório, e ainda na orientação de estágios (cursos de Preparadoras e de Técnicos Superiores de Laboratório). Os estágios de Preparadores e licenciados prolongam-se praticamente todo o ano.

O Laboratório manteve grande ligação com os Laboratórios de Saúde Pública e Centros de Saúde da área, sobretudo com os do distrito de Braga, quer para prestar apoio especializado a estes Serviços, quer em relação com os trabalhos de estudo em curso, atrás referidos.

**2.4.1.1.3 Laboratório de Virologia** — No ano de 1972, o Laboratório de Virologia continuou com as dificuldades de instalações que já desde há alguns vem suportando, a despeito das beneficiações introduzidas em 1970 e que consistiram no aproveitamento de uma sala contígua ao Laboratório, para montagem de uma secção de lavagem e esterilização privativa.

Dado que esta medida não se mostrou suficiente para resolver todos os problemas existentes, foi já decidido efectuar nova ampliação, a realizar no início de 1973, o que aumentará a área total do Laboratório para 70 m<sup>2</sup>. Este

alargamento não só trará benefícios de espaço, como permitirá ainda que o trabalho possa realizar-se em melhores condições técnicas, já que passará a ficar separada a zona séptica das restantes zonas do Laboratório. Trata-se duma solução imediata, relativamente económica, que não constitui, no entanto, a solução definitiva, a qual só será possível quando a Delegação vier a ser instalada no novo edifício cuja construção se encontra já programada (e no qual a área prevista para o sector da Virologia é de 150 m<sup>2</sup>, ou seja, sensivelmente o dobro da área actualmente disponível).

Pelo que se refere a equipamento, o Laboratório tem vindo a ser progressivamente enriquecido (microscópios, destilador de água, bomba de vácuo, agitadores, congeladores, incluindo azoto líquido, estufas, sistemas de pipetagem, equipamento para micrométodos, etc.) e pensa-se que, com as aquisições previstas para 1973, as suas necessidades virão a ficar asseguradas para um período de alguns anos.

O pessoal do Laboratório é actualmente constituído por uma Assistente de 2.ª classe, uma Preparadora e uma Ajudante de Laboratório. Prevê-se que, em 1973, este pessoal venha a ser reforçado com, pelo menos, mais dois elementos — um técnico auxiliar de laboratório e um preparador. Este reforço afigura-se absolutamente necessário para o desenvolvimento dos planos de trabalho existentes.

As actividades do Laboratório prosseguiram nos moldes habituais.

Continuaram a usar-se culturas primárias de células amnióticas (3 a 4 por mês) e mantiveram-se as linhas Hela e Hep2, fornecidas pela Sede do Instituto.

Receberam-se 280 amostras de produtos para isolamento de vírus e 170 amostras de sangue (na sua maioria em duplicado) para serologia.

Dentro do trabalho de rotina realizado, há a destacar o diagnóstico laboratorial de encefalites por vírus da parotidite e da leucoencefalite esclerosante subaguda; diagnosticaram-se alguns casos de rubéola durante a gravidez e, em relação a um deles, estudou-se a pequena epidemia familiar que lhe deu origem.

Além de algumas entidades particulares, os serviços estranhos ao Instituto a quem se prestou apoio laboratorial foram o Hospital de Joaquim Urbano, o Hospital de St.º António (Neurologia e Pediatria), o Hospital de S. João (Neurologia e Doenças infecto-contagiosas) e os Hospitais da Universidade de Coimbra.

Os trabalhos além da rotina repartiram-se por três domínios: rubéola, leucoencefalite esclerosante subaguda e polineuropatia amiloidótica familiar.

#### a) *Rubéola*

Em Outubro de 1972 foi posto em marcha um plano para a pesquisa de anticorpos para o vírus da rubéola num grupo populacional restrito sujeito a grande risco de infecção (pessoal ligado a serviços de saúde e ensino). Este trabalho, que prossegue, tem uma dupla finalidade: preventiva — no sentido de ser possível identificar indivíduos a quem seja aconselhável aplicar a vacina; e educativa — no sentido de se chamar a atenção para a doença nas mulheres em idade de procriação.

As entidades a incluir no estudo são o Instituto Maternal, a Maternidade Júlio Dinis, o Hospital Joaquim Urbano, o Hospital de S. João, o Hospital de St.º António e as Escolas de Enfermagem. Em todas estas instituições se estudarão médicas e enfermeiras até aos 40 anos, reservando-se para uma segunda fase o estudo de pessoal ligado ao ensino (Professoras).

Efectuou-se já o estudo no Instituto Maternal, que, em resumo, se processou da forma seguinte:

- 1 — Contactou-se um elemento responsável do Instituto Maternal, a quem se explicou a finalidade do trabalho e se entregaram fichas destinadas a serem preenchidas pelas pessoas que, voluntariamente, desejassem participar no estudo.
- 2 — Duas semanas depois recolheram-se as fichas verificando-se que havia 80 enfermeiras, entre 18 e os 40 anos, interessadas no inquérito.
- 3 — Durante dois dias (30 e 31 de Outubro) foram feitas as colheitas de sangue, tendo comparecido apenas 74 das interessadas.
- 4 — Em 13 de Novembro iniciou-se o estudo serológico ( reacção de inibição da hemaglutinação — microtécnica) tendo os resultados sido enviados ao Instituto Maternal em 6 de Dezembro.
- 5 — Verificou-se que, num total de 74 mulheres entre os 18 e os 40 anos, cuja profissão é a de enfermeiras em Dis-

pensários Materno-Infantis da cidade do Porto e concelhos limítrofes, apenas 2 (3%) apresentaram um título de anticorpos inferior a 1:8.

Os soros usados no ensaio foram liofilizados, pelo que poderão vir a ser usados ulteriormente para outras finalidades.

Em 2 de Dezembro iniciaram-se os contactos com a Maternidade Júlio Dinis, para se dar andamento ao estudo nesta instituição.

#### b) *Leucoencefalite esclerosante subaguda*

Do Instituto de Neurologia do Hospital de St.º António receberam-se, durante o ano, várias amostras de líquido, fezes e sangue, pertencentes a doentes com o diagnóstico de encefalite. Foi possível, a partir deste material, reunir 6 casos de leucoencefalite esclerosante subaguda (SSPE), aos quais se veio a juntar mais 1 caso do Hospital de S. João. De entrada não foi possível adiantar o estudo, por dificuldades de ordem técnica, mas, depois dum estágio efectuado pela Assistente do Serviço em Oxford, pensa-se que será agora possível dar andamento ao estudo de um assunto de tanta actualidade e interesse.

#### c) *Polineuropatia amiloidótica familiar (PAF)*

Tem prosseguido a colaboração prestada pelo Serviço ao Centro de Estudos da Paramiloidose. Aproveitando a experiência do laboratório de Virologia no domínio das culturas celulares, foi possível durante o ano dar apoio ao sector da Imunologia para o estudo da PAF, tendo-se efectuado algumas dezenas de culturas de linfócitos em indivíduos normais e em doentes com PAF, para avaliação da capacidade imunológica destes indivíduos. Estes trabalhos prosseguem.

Há também o projecto de estudar nestes doentes os níveis de anticorpos para certos vírus que têm sido relacionados com afecções do sistema nervoso central (sarampo, coriomeningite linfocitária, vírus citomegálico, rubéola).

Como habitualmente, a Assistente do Serviço prestou colaboração ao Curso de Agentes Sanitários, encarregando-se da disciplina «Profilaxia das doenças evitáveis». Prestou também colaboração ao Curso Intensivo para Médicos de Saúde Pública, de que foi secretária e docente de Virologia.

Além dos serviços hospitalares a que acima se faz referência, o Sector manteve ainda estreita ligação com o Laboratório de Virologia da Sede do Instituto, para questões de ordem técnica.

#### 2.4.1.1.4 *Laboratório de Imunologia e Serologia*

— Embora este Laboratório só tenha sido oficialmente criado pelo novo Regulamento do Instituto, de 1972, a sua diferenciação relativamente ao Laboratório de Bacteriologia tem vindo a processar-se já desde há alguns anos, por razões de ordem funcional. No entanto, só passou a ocupar instalações próprias no fim do ano de 1972. A zona que lhe foi destinada, no anexo ao edifício principal da Delegação (anteriormente ocupado pela Comissão Arbitral e que agora partilha com a Parasitologia), é constituída por uma sala de trabalho, um pequeno gabinete para microscopia de fluorescência, uma sala para lavagem de material e um pequeno gabinete para o Chefe de Laboratório.

Nos últimos dois ou três anos, foi o Laboratório equipado com a aparelhagem necessária à prática das modernas técnicas imunológicas (incluindo um criostato, equipamento para imunofluorescência e imuno-electroforese, equipamento para cromatografia em coluna, gelfiltração, etc.).

Sob a responsabilidade e orientação técnica directa do Director da Delegação, o Sector conta actualmente com a colaboração de 1 Assistente de 2.ª classe, 1 Técnico auxiliar de 1.ª classe, 1 Preparador e 1 Auxiliar de Laboratório.

O movimento analítico, da secção de Serologia foi já referido atrás (V. 2.4.1.1.1 — Laboratório de Bacteriologia e Quadro I).

Continuam a merecer o maior interesse a esta secção os problemas do «contrôle» da qualidade. Além da sua preocupação em conseguir soros padrão de confiança, que têm sido obtidos em organismos internacionais (sobretudo OMS, SerumInstitut de Copenhague e Instituto Nacional de Saúde, de Utrecht) a secção tem continuado a participar num programa internacional de «contrôle» de qualidade interlaboratorial para a Serologia da sífilis, dos Serviços de Saúde norte-americanos (Programa do Center for Disease Control, de Atlanta).

Ainda no domínio da sífilis, procedeu-se à montagem da técnica da imunofluorescência, tendo-se encontrado algumas dificuldades em relação com a utilização dos antigénios comer-

ciais, problema que se espera resolver com o auxílio da Sede do Instituto, mediante recurso ao uso de antigénio fresco.

Pelo que se refere à Secção da Imunologia, o Laboratório montou as principais técnicas básicas (imunodifusão nas suas diferentes variantes, imunofluorescência, hemaglutinação passiva, gelfiltração, etc.) e, no campo de imunidade celular, iniciaram-se, em colaboração com o Laboratório de Virologia, as técnicas para estudo da reactividade linfocitária «in vitro» (cultura de linfócitos, com estimulação por vários mitogénios).

O Laboratório tem prestado o seu apoio ao Instituto de Neurologia do Hospital de St.º António (Dr. Corino Andrade) para o estudo imunológico da Polineuropatia amiloidótica familiar e, a pedido da Direcção-Geral da Educação, Desportos e Saúde Escolar, fez a determinação dos níveis das imunoglobulinas séricas (IgA, IgG e IgM) em algumas dezenas de crianças em idade escolar.

#### 2.4.1.2 *Secção de Bioquímica*

— Pelo novo Regulamento do Instituto, o Laboratório de Bioquímica, que anteriormente se encontrava integrado no Laboratório de Higiene da Alimentação e Bromatologia, passou a constituir um laboratório individualizado e independente, o que se justifica não só pelo tipo diferenciado das actividades que lhe compete realizar, mas também pelo volume que essas actividades têm vindo progressivamente a assumir.

No ano de 1972, o Laboratório permaneceu ainda nas instalações que desde início ocupou, embora se tenha feito o projecto de o transferir para o segundo andar do edifício principal, onde irá ocupar um espaço contíguo ao novo laboratório de Higiene Industrial, espaço esse que tem estado a ser ocupado pelo Laboratório de Parasitologia. A demora na mudança deste último não permitiu que se pudesse efectuar a transferência na data prevista, embora esta transferência esteja a tornar-se premente. Com efeito, as instalações onde actualmente se encontra o Laboratório limitam-se a duas salas, uma das quais (sala de aparelhos) tem de ser partilhada com o Laboratório da Nutrição e Higiene dos Alimentos. O constante desenvolvimento do Laboratório de Bioquímica que tem necessidade de levar a cabo os trabalhos da rotina, de efectuar trabalhos de estudo e trabalhos especiais, e ainda de receber numerosos estagiários, acabou por tornar o espaço disponível francamente insuficiente para as actuais ne-

cessidades, tanto mais que o Laboratório tem necessidade de alargar o âmbito da sua actividade analítica a novos sectores especializados, como seja o dos doseamentos hormonais. Espera-se que em 1973 se possa fazer a desejada mudança, a qual, embora não resolvendo por completo os problemas de espaço do Laboratório, lhe permitirá apesar de tudo trabalhar com um pouco mais de desafogo.

Devido às necessidades de serviço, o pessoal do Laboratório foi reforçado, a partir de Julho, com mais um elemento — uma Preparadora de 2.<sup>a</sup> classe. O trabalho passou então a ser assegurado por: uma Assistente de 1.<sup>a</sup> classe (ulteriormente promovida a Técnica especialista); uma Assistente de 2.<sup>a</sup> classe; duas Preparadoras de 2.<sup>a</sup> classe; e duas Auxiliares de laboratório.

O movimento analítico do Laboratório continuou a ser intenso (V. Quadros), tendo entrado mais 636 produtos e tendo-se efectuado mais 841 determinações do que no ano anterior. Como habitualmente, uma parte considerável do trabalho efectuado correspondeu ao apoio analítico prestado ao Hospital Joaquim Urbano (1362 produtos; 5523 determinações).

Durante o ano de 1972 o Laboratório deu grande atenção aos problemas da standardização de métodos e do «contrôle» de qualidade. Procedeu-se a uma larga revisão e actualização das técnicas usadas, tendo merecido particular interesse o problema dos micrométodos, dado o crescente número de determinações efectuadas em crianças assistidas pelo Instituto Maternal.

Espera-se que em 1973 alguns dos micrométodos já ensaiados passem a fazer parte da rotina, para o que se tornará necessário proceder à aquisição de algum equipamento especializado.

Como em anos anteriores, o Laboratório prestou o seu apoio ao Curso de Preparadoras para Laboratórios de Saúde Pública, tendo colaborado nas aulas teóricas, práticas e estágios.

Durante o ano estagiaram no Laboratório 7 licenciadas em Farmácia, algumas delas destinadas aos laboratórios distritais de Saúde Pública, e 5 Preparadoras. Ao todo, e sem contar com os alunos do Curso de Preparadoras, a Secção recebeu 12 estagiários (dos quais 7 licenciados) para treino especializado.

O Laboratório manteve estreitas ligações com os Laboratórios de Saúde Pública da sua área, a alguns dos quais prestou grande apoio. Manteve igualmente ligação com a Sede do

Instituto, sobretudo para estudo de uma orientação comum quanto a uniformização de métodos e aquisição de aparelhagem. Neste capítulo, é desejo da Secção recorrer tanto quanto possível à mecanização das técnicas.

Espera-se que, uma vez conseguidas novas condições de espaço e um reapetrechamento adequado, a Secção possa vir a desenvolver um certo número de trabalhos de estudo que até agora não tem podido realizar por falta de condições.

*2.4.1.3 Laboratório da Nutrição e Higiene dos Alimentos* (incluindo as secções das Águas de Abastecimento e das Águas Residuais do Laboratório de Higiene do Saneamento do Meio Ambiente e Higiene Industrial).

De acordo com o novo Regulamento do Instituto, o Laboratório de Higiene da Alimentação e Bromatologia passou a designar-se Laboratório de Nutrição e Higiene dos Alimentos, constando de três secções: Higiene e composição dos alimentos e produtos dietéticos; Aditivos, pesticidas e outros contaminantes alimentares; e Nutrição.

O mesmo Regulamento criou um novo laboratório na Delegação — o *Laboratório de Higiene e Saneamento do Meio Ambiente e Higiene Industrial e dos Locais de Trabalho* — com quatro secções distintas: Águas de abastecimento; Esgotos e águas residuais; Poluição atmosférica, do solo e das águas; Higiene Industrial e dos Locais de Trabalho.

Por razões de ordem funcional, entendeu-se colocar duas das secções deste Laboratório — a das Águas de Abastecimento e a das Águas Residuais — sob a orientação do responsável do Laboratório de Nutrição e Higiene dos Alimentos, dada a grande experiência deste último laboratório neste domínio. Esta decisão correspondeu, aliás, a manter na Secção dos Alimentos um sector de que esta já normalmente se encarregava — o das águas de abastecimento — e veio a revelar-se extremamente vantajosa, pois deste modo foi possível dar um rápido desenvolvimento à recém-criada secção das águas residuais.

O Laboratório continuou a ocupar as instalações em que se encontra há muitos anos, mas há a perspectiva de, muito em breve, poder aproveitar duas salas contíguas que têm pertencido ao Laboratório de Bioquímica e que vão ficar disponíveis pela passagem deste último para o segundo andar. Este facto virá aumentar a área do Laboratório em cerca de 40 m<sup>2</sup>, o que constituirá apreciável benefício,

dado o alargamento das suas actividades ao novo sector das Águas Residuais.

Embora o âmbito da sua acção se tenha alargado, o Laboratório manteve o mesmo pessoal do ano anterior, a saber: um Assistente de 1.ª classe (ulteriormente promovido a Técnico Especialista); um Técnico auxiliar de laboratório de 1.ª classe; uma Preparadora de 2.ª classe (ulteriormente promovida a Preparadora de 1.ª classe); uma Ajudante de laboratório; e uma Auxiliar de laboratório.

O movimento analítico do laboratório da secção, referido nos Quadros, foi sensivelmente idêntico ao do ano anterior, tendo o grosso das determinações efectuadas correspondido a análises de água de abastecimento.

No mês de Outubro deu-se início às análises de águas residuais, tendo-se montado as técnicas apropriadas, que foram submetidas previamente a ensaio rigoroso durante um período experimental. Começou já a fazer-se o estudo das águas de esgoto da cidade, estando previsto para 1973 um trabalho de fundo a realizar em conjunto com os Laboratórios de Bacteriologia e de Virologia, destinado a estudar a capacidade de depuração das águas do rio Douro. Este trabalho, que deverá prolongar-se por cerca de um ano, irá ocasionar grande sobrecarga para o laboratório, pelo que se admite que venha a ser necessário contratar mais um técnico. Esta previsão é reforçada pelo facto de se pensar que o Laboratório irá certamente ter de prestar o seu apoio à indústria neste domínio.

Durante o ano o Laboratório colaborou nos Cursos técnicos professados na Delegação — Curso intensivo para Médicos de Saúde Pública, Curso de Agentes Sanitários e Curso de Preparadoras de Laboratório. Esta colaboração traduziu-se na realização de aulas teóricas e práticas pelo responsável do serviço e ainda, no caso do Curso de Preparadores, pela orientação dos estágios no laboratório.

Além das Preparadoras do Curso, o Laboratório recebeu ainda 4 Preparadoras para estágio de adestramento, destinadas aos Laboratórios Distritais de Saúde Pública, que fizeram estágio só na secção das Águas de Abastecimento. O mesmo aconteceu com 4 licenciadas em Farmácia, também destinados aos Centros de Saúde. Receberam-se ainda mais 4 estagiários licenciados, que, além dos trabalhos relacionados com as águas de abastecimento, executaram as técnicas gerais de Bromatologia, dentro das possibilidades da secção e das limitações do tempo de estágio,

que habitualmente é de dois meses. Ao todo, e além dos alunos dos Cursos o laboratório recebeu 12 estagiários, 8 dos quais licenciados.

O laboratório manteve ligações, por um lado, com os Laboratórios de Saúde Pública do Norte do País, sobretudo para orientação e apoio no sector das águas de abastecimento; e, por outro lado, com a Sede do Instituto em Lisboa, principalmente para esclarecimento de problemas relacionados com o sector dos alimentos.

*2.4.1.4 Laboratório de Higiene e Saneamento do Meio Ambiente e de Higiene Industrial* (Secções da Poluição atmosférica, do solo e das águas e da Higiene Industrial e dos Locais de Trabalho).

Este Laboratório, habitualmente designado por Laboratório de Higiene Industrial, é o mais recente da Delegação.

Pelas razões de ordem fundamental expostas no número anterior, a sua acção limitou-se às secções da Poluição do Meio Ambiente e da Higiene Industrial.

Criado pelo Regulamento de Janeiro de 1972, veio preencher uma lacuna importante e é de esperar que venha a desempenhar papel de relevo no Norte do País, pelo que se refere ao apoio a dar à indústria e ao estudo dos problemas da poluição.

A falta de espaço a que se aludiu no início do presente Relatório obrigou a instalar o Laboratório de Higiene Industrial em condições que se consideram razoáveis, mas não inteiramente satisfatórias. Com efeito, todo o serviço de laboratório tem que ser realizado num único compartimento, que foi obtido à custa da amputação de uma das grandes salas de aula do 2.º andar. É de prever que o desenvolvimento do laboratório venha a obrigar a encerrar outras soluções, dentro em breve.

Feitas as obras de adaptação necessárias (compartimentação, instalação de hotte, bancadas, ligações de água, esgotos, gás, electricidade, etc.), procedeu-se ao equipamento do laboratório que, devido à demora na entrega da aparelhagem, só agora começa a ficar em condições de funcionar. Espera-se que, no primeiro semestre de 1973, será já possível dispor das condições necessárias para se proceder ao estudo de poeiras, gases, tóxicos, ruídos, humidade, temperatura e luminosidade nos locais de trabalho.

O pessoal do Laboratório reduziu-se de entrada a um Técnico (licenciado em Engenharia)

e uma Auxiliar de laboratório, mas está prevista para o princípio de 1973 a entrada de outro técnico licenciado (em Farmácia) e de um Médico do Trabalho, o que certamente muito concorrerá para o desenvolvimento do Serviço.

Dentre os planos para o ano de 1973, conta-se um estudo, a levar a cabo com o Serviço de Reanimação Respiratória do Hospital de Santo António, para avaliação dos efeitos da poluição do ar nos locais de trabalho sobre a árvore respiratória dos trabalhadores de determinadas indústrias.

Quer para a sua organização quer para a elaboração dos seus planos de trabalho, o Laboratório tem mantido estreita ligação com o Laboratório de Higiene Industrial da sede do Instituto.

#### 2.4.2 Serviços Administrativos

O movimento da Secretaria, independentemente do que se refere à elaboração de folhas de vencimento e de assiduidade do pessoal, de documentos relacionados com o recrutamento de pessoal e de outros documentos internos, incluindo a manutenção dos registos da correspondência e inventário, traduziu-se pelos seguintes números:

|                                                           |        |
|-----------------------------------------------------------|--------|
| N.º de produtos registados para fins analíticos .....     | 27 183 |
| N.º de ofícios recebidos .....                            | 2 096  |
| N.º de ofícios expedidos .....                            | 3 298  |
| N.º de processos de aquisição organizados .....           | 36     |
| N.º de requisições passadas ....                          | 546    |
| N.º de processos referentes ao movimento de pessoal ..... | 15     |

O pessoal da Secretaria esteve ainda encarregado de todo o serviço de Biblioteca e do expediente dos cursos professados na Delegação.

Em 31-12-1972 o número de volumes da Biblioteca era de 1981.

Durante o ano assinaram-se 32 revistas (39 991\$00).

O número de livros adquirido por compra foi de 42 (15 666\$00) e o número de livros e outras publicações adquiridas por oferta foi de 108.

Em Maio de 1972 a Delegação, que não possuía qualquer viatura para o seu serviço

privativo, adquiriu uma carrinha «Volkswagen» (mista), que entrou ao serviço em 25-5-72, tendo percorrido até ao fim do ano 6196 km em serviço de colheitas de águas e noutras tarefas relacionadas com os trabalhos de campo dos laboratórios.

#### 2.4.3 Ensino

Durante o ano de 1972 realizaram-se na Delegação os seguintes cursos, ao abrigo do III Plano de Fomento:

##### — Curso Intensivo para médicos de Saúde Pública

Este curso, destinado a médicos para os Centros de Saúde, decorreu de 28/2 a 19/5, tendo sido frequentado por 30 médicos. A leccionação esteve em grande parte a cargo do pessoal técnico da Delegação, tendo-se contado ainda, para o efeito, com a colaboração de algum pessoal da Sede do Instituto e de outros serviços oficiais e particulares de Lisboa e Porto, nomeadamente: da Faculdade de Medicina do Porto (Cadeira de Higiene e Medicina Social); da Escola Superior de Belas-Artes do Porto (Cadeira de Urbanismo); dos Serviços de Saúde Escolar; dos Serviços de Pecuária; dos Serviços Municipalizados de Águas e Saneamento; da Direcção-Geral de Saúde (Inspeção Coordenadora da Zona Norte; Delegação de Saúde do Porto; Dispensário Central de Higiene Social; Instituto Maternal; Serviços de Higiene Rural e Defesa Anti-Seasonática; Circunscrição de Defesa Sanitária do Norte); do Instituto de Assistência Nacional aos Tuberculosos; do Instituto de Assistência Psiquiátrica; do Centro de Educação Especial do Porto; da Maternidade Júlio Dinis; do Hospital de Santo António; do Hospital de Joaquim Urbano; do Hospital Maria Pia; da Comissão Arbitral do Porto; e dos Serviços de Medicina do Trabalho da Companhia União Fabril Portuense e da SACOR.

##### — Curso de Agentes Sanitários

Requereram a sua inscrição neste Curso 137 candidatos, tendo sido admitidos 20 (visto que o curso era de frequência limitada) e desistido 2. Dos 18 que terminaram, todos obtiveram aprovação.

O Curso decorreu de 16/10/72 a 16/2/73.

A leccionação esteve a cargo do pessoal da Delegação, tendo-se contado ainda, como



habitualmente, com a colaboração da Delegação de Saúde, dos Serviços de Higiene Rural e Defesa Anti-Sezonática, dos Serviços Municipalizados de Águas e Saneamento e do Médico-Chefe dos Serviços Médicos da Companhia União Fabril Portuense.

#### 2.4.4. Bolsas de estudo, Cursos, Estágios, etc.

No período que decorreu de 1965 a 1972, receberam bolsas de estudo, efectuaram estágios ou frequentaram cursos no País ou no estrangeiro os seguintes funcionários da Delegação:

Dr. Aloísio José Moreira Coelho, Director da Delegação:

- a) Bolsa da NATO, durante 9 meses, para estudo de problemas de Imunologia, nos seguintes Serviços: Medical Research Council Rheumatism Research Unit (Prof. E. Bywaters, Dr. L. E. Glynn, Dr. E. J. Holborow), Canadian Hospital, Taplow, Berks; Department of Bacteriology (Prof. Barwell, Dr. G. L. Asherson), The London Hospital Medical College, Londres.
- b) *Course on Fundamental Immunology*, organizado pelo Departamento de Bacteriologia e Imunologia do London Hospital Medical College, Londres, Junho de 1967.
- c) *Summer School in Immunology*, organizado pela British Society for Immunology e pela Organização Mundial de Saúde na Universidade de Southampton, Junho de 1967.
- d) Viagem para estudo de problemas relacionados com a organização e administração dos laboratórios de saúde pública, com a duração de 1 mês (1972), aos seguintes serviços:

- Instituto Nacional de Saúde da Holanda (Rijks Instituut voor de Volksgezondheid) — Bilthoven;
- Laboratório Central da Cruz Vermelha, Amsterdam;
- SerumInstitut, Copenhagen;
- Bispebjerg Hospital (Serviço de Laboratórios), Copenhagen;
- Statens Bakteriologiska Laboratorium, Estocolmo;

— Serviço dos Laboratórios de Saúde Pública da Organização Mundial de Saúde, Genebra.

Dr.<sup>a</sup> Berta Maria Tello Correia de Almeida do Laboratório de Bacteriologia:

- a) Bolsa da Fundação Gulbenkian, durante 4 meses (1969), no Centre d'Enseignement et de Recherches de Bacteriologie Alimentaire — CERBA (Dr. Buttiaux) do Instituto Pasteur de Lille, Lille.
- b) Curso sobre «Microbiologie du lait et des produits laitiers», organizado pelo CERBA no Instituto Pasteur de Lille, Maio de 1969.

Dr.<sup>a</sup> Maria de Lourdes Sampaio Silva, do Laboratório de Parasitologia:

- a) Visita do Laboratório de Parasitologia do Centro de Higiene Biologia e Edafologia da Universidade de Salamanca, em Junho de 1971, para acerto final do projecto de investigação elaborado conjuntamente com o Dr. Simon Vicente (Chefe daquele Laboratório e membro do Conselho de Pesquisas), para estudo do *Schistosoma bovis* na Península.
- b) Bolsa do Plano de Fomento, durante 2 meses (1971) nos seguintes Serviços:
  - Laboratório de Imunologia Parasitária (Prof. Coudert e Dr. Kien) da Faculdade de Medicina e Farmácia de Lyon.
  - Laboratório de Biologia e Imunologia Parasitária (Prof. Capron) da Faculdade de Medicina e Farmácia de Lille.

Dr.<sup>a</sup> Maria Fernanda Ribeiro Pinto Ferreira, do Laboratório de Virologia:

- a) Bolsa da OMS, durante 4 meses (1965), nos seguintes serviços:
  - Rijks Instituut voor de Volksgezondheid (Departamento de Virologia — Prof. Gispen), Bilthoven, Holanda.
  - Karolinska Institutet (Departamento de Virologia — Prof. Gard), Estocolmo, Suécia.
  - Statens Seruminstitut (Departamento de Virologia — Prof. von Magnus), Copenhagen, Dinamarca.

b) Bolsa da NATO, durante 4 meses (1969) no Laboratório de Virologia (Prof. Sohier), Faculdade de Medicina e Farmácia de Lyon, França.

c) Bolsa do Plano de Fomento, durante 2 meses (1972) nos seguintes Serviços:

— Department of Virology (Prof. MacCallum), Radcliff Infirmary, Oxford;

— Department of Haematology (Dr. Pegrum), Fulham Hospital, Londres.

Dr.<sup>a</sup> Maria Manuela Braga Brandão Araújo Freitas, do Laboratório de Imunologia:

— Bolsa do Plano de Fomento, durante 6 meses (1972), no Serviço de Imunoquímica (Dr. G. Virella) do Laboratório de Farmacologia do Centro de Biologia, Instituto Gulbenkian de Ciências, Oeiras.

Dr.<sup>a</sup> Maria Júlia Múrias Queirós, do Laboratório de Bioquímica:

— Bolsa da Fundação Gulbenkian, durante 4 meses (1969), no Centro de Estudos da Nutrição (Dr. Adrian) do Centre National de la Recherche Scientifique, Bellevue, Paris.

Eng.<sup>a</sup> Olga Niza Bilbao de Sousa Mayan Gonçalves, do Laboratório de Higiene Industrial:

— Bolsa do Plano de Fomento, durante 2 meses (1972), nos seguintes Serviços:

— Laboratório de Higiene Estadual de Zurique;

— Laboratório da Caisse Nationale Suisse d'Assurance en Cas d'Accident, Lucerna.

#### 2.4.5 Participação em Cursos, Reuniões e Congressos

As principais actividades deste tipo em que participaram elementos da Delegação no período que estamos a considerar, foram as seguintes:

Dr.<sup>a</sup> Aloísio José Moreira Coelho, Director da Delegação:

— Curso de Saúde Pública para Internos, organizado pela Escola Nacional de

Saúde Pública, Hospital de S. João, Porto.

— Curso de Actualização para Delegados de Saúde, organizado pela Escola Nacional de Saúde Pública e Medicina Tropical, Lisboa, 1970.

— Reunião da Sociedade Portuguesa de Pediatria, Hospital Maria Pia, Porto, 1971.

— II Reunião Nacional de Imunologia, organizada pela Sociedade Portuguesa de Imunologia, Oeiras, 1972.

— Reunião do Comité para a Automatização dos Laboratórios Clínicos (Projecto «Métodos avançados para a prestação de cuidados de Saúde» do Comité para os Desafios da Sociedade Moderna, da NATO), S. Francisco, Califórnia, 1972.

Dr.<sup>a</sup> Maria de Lourdes Sampaio Silva, Técnica especialista, Chefe do Laboratório de Parasitologia:

— 1.<sup>o</sup> Congresso de Parasitologia, Rennes, 1971;

— 4.<sup>o</sup> Congresso de Malacologia, Geneve, 1971.

Dr.<sup>a</sup> Maria Fernanda Ribeiro Pinto Ferreira, Assistente, Chefe do Laboratório de Virologia:

— 13.<sup>o</sup> Simpósio Europeu de Poliomielite e outras Doenças por Vírus, Helsínquia, 1971;

— 1.<sup>o</sup> Congresso Europeu de Virologia, Salsomaggiore, 1971.

Dr.<sup>a</sup> Maria Manuel Braga Brandão de Araújo Freitas, Assistente de Laboratório de Imunologia e Serologia:

— II Reunião Nacional de Imunologia, Oeiras, 1972;

— I Curso Básico de Imunologia, organizado pela Sociedade Portuguesa de Imunologia, Oeiras, 1972.

#### 2.4.6 Trabalhos publicados

Durante o período compreendido entre 1965 e 1972, os Laboratórios da Delegação publicaram os trabalhos que a seguir se referem, indicados pelos nomes dos respectivos autores.



a) *Laboratório de Bacteriologia*

Maria Fernanda Mesquita de Paiva Pereira: Provas de virulência e tipos de *C. diphtheriae* — Rev. Port. de de Farmácia, 15: 421, 1965.

Jaime Constantino dos Santos: Ensaio de um novo agente mucolítico (N-acetilcisteína) como descontaminante para a cultura de Mycobacterias — O Médico, 48 (886): 431, 1968.

Aloísio M. Coelho e Maria Fernanda M. P. Pereira (em colaboração): Ensaio terapêutico da Rifampicina na tuberculose pulmonar — Jornal do Médico, 73 (1441): 145-155, 1970.

b) *Laboratório de Parasitologia*

Maria de Lourdes Sampaio (Xavier): Studies on the distribution and ecology of *Lymnaea truncatula*, intermediate host of *Fasciola hepatica* in Portugal — Comunicação apresentada ao 4.º Congresso Europeu de Malacologia, Genève, 1971. (Em publicação).

Idem: Estudos sobre a esquistossomíase em Portugal. 1 — Susceptibilidade do *Bullinus (B) contortus* de Portugal à estirpe de *Schistosoma haematobium* de Angola e de Moçambique — Arquivos do Instituto Nacional de Saúde: 1: 195-203, 1972.

c) *Laboratório de Virologia*

Maria Fernanda R. P. Ferreira: Poliovírus isolados no Norte de Portugal durante a epidemia de 1964 — Comunicação apresentada ao XXVI Congresso Luso-Espanhol para o Progresso das Ciências.

Idem: Citomegalia: uma infecção comum, uma doença rara — O Médico, 38 (749): 101, 1966.

Idem (em colaboração): Seroepidemiologia da rubéola — Arquivos do Instituto Nacional de Saúde, 1: 177-185, 1972.

d) *Laboratório de Imunologia e Serologia*

Aloísio M. Coelho: Mecanismos da auto-alergia (auto-imunidade) — O Médico, 37: 7-16, 1966.

Idem: Auto-alergia e doença — O Médico, 38: 670-679, 1966.

Idem, idem — O Médico 38: 763-772, 1966.

Idem, idem — O Médico, 38: 840-849, 1966.

Idem, idem — O Médico, 38: 1011-1028, 1966.

Idem, idem — O Médico, 39: 28-33, 1966.

Idem, idem — O Médico, 39: 103-112, 1966.

Idem, idem — O Médico, 39: 186-201, 1966.

Idem, idem — O Médico, 39: 352-367, 1966.

Idem, idem — O Médico, 39: 529-534, 1966.

Idem, idem — O Médico, 39: 722-737, 1966.

Idem, idem — O Médico, 39: 744-955, 1966.

Idem: Aspectos imunológicos da transplantação — O Médico, 50 (905), 1968.

Idem (em colaboração): Reacções serológicas da Sífilis. Algumas generalidades laboratoriais e clínicas — O Médico, 53 (952): 747-749, 1969.

Idem: Imunização contra o sarampo. Vacinas e fundamentos epidemiológicos da sua aplicação — O Médico, 54 (957): 94-109, 1970.

Maria Manuel B. B. Araújo Freitas (em colaboração): Caracterização imunológica e estrutural de proteínas contidas em gel de acrilamida — comunicação apresentada à II Reunião Nacional de Imunologia, Oeiras, 1972. (Em publicação).

e) *Laboratório de Bioquímica*

Maria Arminda O. Pinheiro: Determinação do fluor nas águas — Revista Portuguesa de Farmácia, 1964.

Maria Júlia M. Queirós (em colaboração): La vitamine PP dans les graines de céréales et de légumineuses — Annales de la Nutrition et de l'Alimentation, 24: 155-166, 1970.

Idem: Vitamina PP no grão dos cereais  
— Arquivos do Instituto Nacional de  
Saúde, 1: 121-127, 1972.

### 3. AGRADECIMENTOS

Não desejaríamos terminar este relatório, sem manifestarmos o nosso reconhecimento a toda uma série de entidades que, duma ou doutra forma, contribuíram com o seu apoio para o progresso dos Serviços da Delegação.

Ao Ex.<sup>mo</sup> Governador Civil do Porto, Major Paulo Durão, mais uma vez agradecemos a concessão do habitual subsídio especial de 10 000\$00, que foi inscrito em orçamento extraordinário da Delegação.

Ao Ex.<sup>mo</sup> Director de Saúde do Distrito e Provedor do Hospital Joaquim Urbano, Dr. Fernando da Silva Sardo, e aos seus mais directos colaboradores, agradecemos toda a colaboração prestada nos vários domínios de actividades da Delegação a que deram o seu concurso, tanto no que se refere à Delegação de Saúde, como pelo que respeita ao sector administrativo do Hospital.

É-nos igualmente grato manifestar o nosso muito apreço pela continuação das excelentes relações mantidas com a Direcção Clínica do Hospital Joaquim Urbano, a cujo Director Clínico, Senhor Dr. Afonso Guimarães, desejamos agradecer as constantes provas de interesse e compreensão, em que normalmente é secundado pelos seus colaboradores.

Uma palavra de agradecimento muito especial é devida a todas as entidades que nos deram o seu apoio para a realização dos cursos levados a cabo pela Delegação.

Além da habitual e prestimosa colaboração recebida já desde há alguns anos da parte dos Senhores Dr. Armindo Peixoto Lavinas (Delegação de Saúde), Dr. Joaquim Ferreira Rés (Serviços de Higiene Rural e Defesa Anti-Seasonática), Eng.<sup>o</sup> Renato Vieira Pousada (Serviços Municipalizados de Águas e Saneamento) e Dr. Jorge Leão (Companhia União Fabril Portuense), a quem, uma vez mais manifestamos o nosso vivo reconhecimento por todo o interesse dedicado às actividades de ensino da Delegação, prestaram-nos ainda a sua colaboração para este efeito, no ano de 1972, as individualidades que a seguir se referem e às quais são extensivos os nossos agradecimentos:

Prof. Júlio Machado Vaz (Faculdade de Medicina do Porto);

Prof. Joaquim de Oliveira Costa Maia (idem).

Arq.<sup>o</sup> Duarte Castel-Branco (Escola Superior de Belas-Artes do Porto);

Dr. José G. Correia de Mesquita e colaboradores (Serviços de Saúde Escolar);

Dr. Joaquim Salvado Valente (Serviços de Pecuária, Porto);

Dr. António Simas Santos (Inspeção Coordenadora da Zona Norte da Direcção-Geral de Saúde);

Dr. Fernando da Silva Sardo e colaboradores (Director de Saúde Distrital);

Prof. Aureliano da Fonseca e colaboradores (Dispensário Central de Higiene Social do Porto);

Dr.<sup>a</sup> Maria Rosália Heitor Ferreira (Instituto Maternal);

Dr. Alvaro de Mendonça e Moura (Circunscrição de Defesa Sanitária do Norte);

Dr. José Cabral e colaboradores (Instituto Nacional de Assistência aos Tuberculosos);

Dr. Fernando Sarmento Pimentel das Neves (Instituto de Assistência Psiquiátrica);

Dr. Alexandre Veiga (Centro de Educação Especial do Porto);

Dr. Carlos Areias e colaboradores (Maternidade Júlio Dinis);

Dr. Eugénio Corte-Real (Hospital de Santo António);

Dr. Albino Aroso (idem);

Dr. Afonso Guimarães e colaboradores (Hospital de Joaquim Urbano);

Prof. F. Fonseca e Castro e colaboradores (Hospital de Maria Pia);

Dr. Alberto Maria Ribeiro de Meirelles (Comissão Arbitral do Porto).

Cumpre-nos ainda agradecer todo o apoio recebido da Sede, quer dos Serviços administrativos, quer dos Serviços laboratoriais. Igualmente desejamos manifestar o nosso muito reconhecimento ao Director do Instituto, Prof. F. A. Gonçalves Ferreira, por toda a compreensão, interesse e boa vontade constantemente demonstrados pelos problemas da Delegação.

Resta acrescentar que o pessoal procurou cumprir, por vezes em condições que exigiram grande espírito de abnegação e sacrifício, as tarefas que lhe foram cometidas, pelo que a

todos desejamos igualmente endereçar uma palavra de muito reconhecimento pelo que fizeram a bem dos Serviços e do prestígio da Delegação.

#### QUADRO I

Número de determinações efectuadas pelos diferentes laboratórios da Delegação nos anos de 1964 e 1972 (análises de rotina)

|                         | 1964   | 1971   | 1972    |
|-------------------------|--------|--------|---------|
| Bacteriologia           | 19 554 | 31 165 | 37 324  |
| Bacteriologia Clínica   | 8 279  | 11 038 | 9 633   |
| Bacteriologia Sanitária | 675    | 5 428  | 11 520  |
| Micologia               | 27     | —      | 26      |
| Serologia               | 10 480 | 14 650 | 16 045  |
| Diversos                | 93     | 49     | 100     |
| Parasitologia           | 98     | —      | 1 303   |
| Virologia               | 251    | 440    | 600     |
| Hematologia             | 3 974  | 17 545 | 21 657  |
| Bioquímica              | 47 000 | 34 925 | 35 766  |
| H. Alimentos            |        | 9 319  | 10 343  |
| Total                   | 90 431 | 93 394 | 106 993 |

#### QUADRO II

Movimento analítico geral (análises de rotina) da Delegação, no ano de 1972

|                 | Produtos |        | Determinações |         |
|-----------------|----------|--------|---------------|---------|
|                 | 1971     | 1972   | 1971          | 1972    |
| Bacteriologia * | 18 972   | 20 546 | 48 710        | 58 981  |
| Parasitologia   | —        | —      | —             | 1 303   |
| Virologia       | 280      | 400    | 440           | 600     |
| Bioquímica      | 6 261    | 6 897  | 34 925        | 35 766  |
| H. Alimentos    | 1 119    | 1 056  | 9 319         | 10 343  |
| Total           | 26 632   | 28 899 | 93 394        | 106 993 |

\* Inclui Serologia e Hematologia.

### 3 — ACTIVIDADES DA ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA

*F. A. Gonçalves Ferreira*

A criação da E. N. S. P., pelo Decreto-Lei n.º 372/72, de 2 de Outubro, resultou da Escola Nacional de Saúde Pública e de Medicina Tropical, organizada ao abrigo do Decreto-Lei n.º 47 102, de 16 de Julho de 1966, ter sido substituída por duas novas instalações — a E. N. S. P., em referência, que passou a funcionar no INSA, e o Instituto Superior de Higiene e Medicina Tropical, que ficou a ocupar as ins-

talações da anterior Escola Nacional de Saúde Pública e de Medicina Tropical.

Esta substituição foi consequência do despacho conjunto dos Ministros do Ultramar e da Saúde e Assistência, de 27/4/72, que mandou estudar a separação da Escola nos seus dois sectores de Saúde Pública e de Medicina Tropical.

A evolução do ensino pós-graduação de saúde pública, passou, assim, por nova fase, depois da extinção do Curso de Medicina Sanitária (D. L. n.º 47 102, de 16 de Julho de 1966), que funcionava no Instituto e fora substituído pelo Curso de Saúde Pública, e da entrada

em funcionamento do Curso de Administração Hospitalar, em 1970, que, por dificuldade de instalações, não chegou a ser ministrado na Escola Nacional de Saúde Pública e de Medicina Tropical.

A organização da nova E. N. S. P., nesta fase inicial de quase imediato funcionamento, foi feita rapidamente, tendo os seus cursos normais — Saúde Pública, Medicina do Trabalho e Administração Sanitária — começado a funcionar ainda durante o mês de Outubro, com plano provisório de ensino, aprovado por despacho ministerial, de 26 do mesmo mês, de que se referem os principais pormenores mais adiante. Logo a seguir, foi publicado o Regulamento da Escola (Decreto n.º 441/72, de 8 de Novembro).

A rapidez com que tudo se processou e o encadeamento satisfatório das mudanças ocorridas só foram possíveis, independentemente do bom entendimento entre os directores das duas novas instituições — prestando-se aqui a devida homenagem ao Prof. Doutor Francisco C. Cambournac, director da anterior Escola e do novo Instituto de Higiene e Medicina Tropical —, pela cooperação excelente dos serviços de secretaria da anterior Escola, a que estava afecto o sector administrativo do ensino.

A nova E. N. S. P. encontrou-se na situação de ter de funcionar sem dispor de instalações próprias, e enquanto não for construído o pavilhão previsto para a instalação dos seus sectores fundamentais de ensino, junto do edifício principal do INSA, continuará a utilizar as instalações deste destinadas ao ensino de técnicos e auxiliares de saúde pública. O Curso de Administração Hospitalar que, nos dois anos iniciais, de 1970 e 1971, funcionara em compartimentos da actual Secretaria-Geral do Ministério, pôde instalar-se ainda no fim de 1972, embora a título transitório, em parte de um pavilhão do Sanatório D. Carlos I, por amável permissão das direcções do I. A. N. T. e do Sanatório, em cumprimento do despacho ministerial de 11 de Agosto de 1972.

Por disposição própria do Decreto-Lei n.º 372/72, atrás citado, transitou para a E. N. S. P. o pessoal que prestava serviço no ramo da Saúde Pública da anterior Escola, com as seguintes categorias:

— *Professores catedráticos*

António Arnaldo de Carvalho Sampaio  
Francisco António Gonçalves Ferreira  
Artur da Costa Andrade  
Coriolano Albino Ferreira

— *Professores extraordinários*

Artur Ernesto Moniz  
Carlos Manuel dos Santos Reis (eventual)

— *Professores auxiliares*

Luiz Augusto Corte-Real Cayolla da Motta  
Maria Ernestina da Silva Graça

— *Assistentes*

Júlia Coelho da Rocha Vilar  
Fernando Martins Eleutério  
José dos Santos Bandeira Costa  
Laura Guilhermina Martins Ayres  
Maria Adriana Cardoso Figueiredo  
Amélia Botelho da Costa Marques Esparteiro da Silva  
Leitão  
António Sarmento Lobato Faria

— *Assistentes eventuais*

José Manuel Sales Caldeira da Silva  
Mário Humberto de Faria  
José Joaquim Moreira Braga

— *Consultora de Enfermagem de Saúde Pública*

Maria Ofélia da Veiga Malta Leite Ribeiro

— *Pessoal Técnico*

Maria João Guerreiro Alves Guedes Cruz  
Maria Alice Dias Azevedo  
Maria Margarida Cita Lino  
Maria Guilhermina Judicibus

— *Pessoal dos Serviços Gerais*

José Joaquim Ferreirinha Cardoso  
Manuel Augusto do Nascimento Lopes

Durante este período inicial de funcionamento, até ao fim de 1972, o grupo de professores efectivos da E. N. S. P. assegurou, por meio de reuniões de trabalho e de outras diligências, a sua orientação e a elaboração dos planos e programas de ensino e de recrutamento do pessoal.

O apoio administrativo foi assegurado com pessoal pertencente aos Serviços Administrativos do INSA, ficando separadas, desde o início, as secções de expediente, documentação e informação, contabilidade e tesouraria.

Em 23/10/72, foi apresentada superiormente a proposta de um plano provisório, já referido, dos cursos normais que iriam funcionar imediatamente, a qual teve despacho favorável, em 26 do mesmo mês.

Desta proposta destaca-se a parte inicial, definidora de algumas ideias básicas de ordem pedagógica e administrativa e apresentada como *Introdução*:

O Decreto-Lei n.º 372/72, de 2 de Outubro, fez transitar o ensino do Ramo da Saúde Pública da anterior Escola Nacional de Saúde Pública e de Medicina Tropical para a nova Escola Nacional de Saúde Pública, e o seu regulamento (Decreto em publicação) manda que os planos dos cursos sejam aprovados por

Sua Excelência o Ministro da Saúde e Assistência. Procedeu-se, em conformidade, à elaboração de um projecto de Plano Provisório do ensino a ministrar durante o ano de 1972-1973, com indicação dos programas e horários de cada curso, confiados em que as inovações introduzidas relativamente aos cursos anteriores e a experiência a que se vai proceder ajudarão a encontrar um esquema de ensino ajustado às nossas necessidades.

Este ensino compreende, para já, os cursos de Saúde Pública, de Medicina do Trabalho e de Administração Hospitalar, os quais têm por objectivo concreto a preparação de técnicos pós-graduados, habilitados com licenciaturas adequadas, que se destinam especialmente ao exercício de actividades médicas e administrativas nos serviços de saúde e do trabalho e de actividades administrativas no sector hospitalar, como participantes de equipas de saúde.

Ao definir o objectivo dos cursos, considera-se implícita a ideia de que a formação profissional pós-universitária deve permitir, na nossa época, a aquisição de conhecimentos teóricos e práticos que preparem técnicos devidamente habilitados para a realização eficiente das tarefas de orientação e execução próprias do funcionamento normal dos serviços onde irão trabalhar e da adaptação oportuna destes às necessidades que, entretanto, forem surgindo.

Isto significa que os cursos, além de um mínimo de conhecimentos teóricos — doutrinários e informativos — devem subordinar-se a uma orientação aplicada, mediante recurso a instituições adequadas, nas quais se realizem os tipos de trabalho que precisam de conhecer e neles serem adestrados os elementos técnicos a preparar. Só assim poderão adquirir confiança no seu saber e competência na sua acção.

Na organização há que ter em atenção a preparação de base exigida aos candidatos que, nos cursos de Saúde Pública e de Medicina do Trabalho é quase exclusivamente médica, enquanto que no curso de Administração Hospitalar é de índoles diversas.

Este facto condiciona o arranjo das matérias introdutórias, de forma a assegurar aos alunos de cada curso a obtenção rápida de um nível de conhecimentos que possibilite receptividade satisfatória e tanto quanto possível uniforme nas fases seguintes de ministração dos conhecimentos específicos de cada

curso e de estágios e treino prático nos estabelecimentos em funcionamento normal.

Destas premissas decorre que a estruturação dos cursos, pela organização dos programas, deverá obedecer a normas didácticas que envolvem uma ordenação e um escalonamento de actividades docentes, distribuídas, esquematicamente, por três fases:

*1.ª fase:* De ministração de conhecimentos básicos destinados a informar, doutrinar e familiarizar os alunos com os princípios da política nacional de saúde, a organização e funcionamento dos serviços que a executam, nos diversos escalões da actividade médico-sanitária e hospitalar em que hão-de trabalhar como técnicos especializados ou dirigentes, sua natureza, hierarquia, estrutura e localização e respectivas atribuições e métodos de trabalho.

Nesta primeira fase, proceder-se-á cuidadosamente à avaliação individual dos conhecimentos adquiridos, por contacto com cada aluno durante as aulas, já adaptadas para esta possibilidade, por meio de pontos escritos, pela apreciação dos cadernos individuais, etc.

Esta avaliação condicionará a permissão da frequência das subseqüentes fases dos cursos, procurando eliminar os desinteressados.

A duração desta primeira fase não deverá exceder um quinto do tempo lectivo total e será, portanto, inferior a um trimestre.

*2.ª fase:* De ministração de conhecimentos pormenorizados que preparam os alunos para as actividades específicas profissionais, acompanhada de trabalho individual paralelo na Escola e nas instituições escolhidas para o efeito.

A avaliação será feita por contacto directo, relatórios e seminários. A duração desta fase deverá ser de um trimestre, pelo menos, destinando-se cerca de metade do tempo ao trabalho individual.

*3.ª fase:* Estágios de grupo organizados em instituições adequadas e acompanhados por elementos do pessoal docente das diversas cadeiras e disciplinas responsáveis pelos assuntos dos estágios.

Estes trabalhos serão acompanhados de seminários e mesas redondas (painéis) de ensino e avaliação, além de relatórios.

Haverá ainda ministração de conhecimentos complementares em função das necessidades verificadas.

A duração será no mínimo de um trimestre.

A distribuição, bem como a duração, dos tempos lectivos atribuídos às diversas cadeiras e disciplinas deverá obedecer a princípios gerais uniformes para os diversos cursos, com as adaptações julgadas convenientes:

a) As aulas constarão, em princípio, de duas partes, com a duração de cerca de 45 minutos cada uma, separadas ou não por intervalo de 15 minutos. A primeira parte será destinada, em regra, a exposição feita pelo professor, e a segunda a troca de impressões com os alunos sobre o assunto dado, a discussão deste sob a forma de perguntas e respostas ou ainda de sistematização escrita pelos alunos de conhecimentos ministrados e julgados de interesse especial.

b) Não haverá mais de duas aulas por dia, para os cursos que funcionem apenas da parte da tarde.

Sempre que possível ir-se-á mais longe, seguindo o critério de tratar em cada dia apenas assuntos de uma cadeira ou disciplina, o que corresponderá a 230 ou 240 minutos de aulas e intervalos, divididos em duas partes de cerca de 105 minutos.

c) Para os cursos que funcionem de manhã e de tarde, o critério será semelhante, devendo dar-se preferência à concentração de assuntos, no sentido indicado em b).

#### *Adaptação dos princípios gerais ao funcionamento dos cursos*

O plano dos cursos de Saúde Pública e de Medicina do Trabalho obedece aos princípios gerais atrás enunciados e os pormenores dos programas são dados, para cada um destes cursos em separado, nos números seguintes, para o que se aproveitou a larga experiência que há do seu funcionamento, tanto no Instituto como na anterior Escola Nacional de Saúde Pública e de Medicina Tropical.

O Curso de Administração Hospitalar está no seu terceiro ano, apenas, dentro de um período transitório, que teve por objectivo principal diplomar os administradores e directores dos serviços já em exercício e preparar o pessoal docente, colhendo também a experiência necessária à organização futura. Assim, durante o ano de 1972-1973, deverá fazer-se a revisão dos planos de estudo e dos programas. Por outro lado, procurar-se-á recrutar pessoal docente fixo, a fim de ir dispensando,

gradualmente, os prelectores vindos do exterior, indispensáveis ao arranque inicial mas não convenientes a título normal, salvo, naturalmente, algumas excepções.

A abertura dos cursos teve lugar no dia 29 de Outubro, vindo estes a funcionar com os seguintes alunos:

Curso de Saúde Pública — 20.

Curso de Medicina do Trabalho — 25.

Curso de Administração Hospitalar — 18.

As despesas de funcionamento da E. N. S. P. estão a ser cobertas por verba orçamental que transitou da anterior Escola, concedida pelo Ministério da Saúde e Assistência.

Para o ano de 1973, está previsto o contrato de novo pessoal docente, compreendendo numa primeira fase 16 assistentes e um professor auxiliar. Está ainda previsto, durante o mesmo ano, o recrutamento por concurso de provas públicas de dois professores extraordinários para as cadeiras de Epidemiologia e de Saneamento.

#### **4. Serviços administrativos**

A Legislação publicada em 1971 — Decreto-Lei n.º 413/71 que definiu as atribuições do Instituto e publicada em 1972 — Decreto n.º 35/72 que promulgou o Regulamento do Instituto, Portaria n.º 499/72 que estabeleceu um período de 2 anos para instalação dos Serviços do Instituto, Decreto-Lei n.º 372/72 que determinou que a Escola Nacional de Saúde Pública comesse a funcionar neste Instituto, constituindo o seu sector de ensino e portarias n.ºs 586 e 587/72 que aprovaram o Regulamento dos concursos para provimento de lugares de pessoal técnico e administrativo dos quadros deste Instituto e suas Delegações e o Regulamento da concessão de bolsas de estudo, respectivamente, trouxe grandes alterações ao funcionamento dos serviços e muito especialmente no sector administrativo.

Assim, o regime de instalação permitiu efectuar o recrutamento de pessoal necessário ao funcionamento das novas instalações e consequentemente desenvolver grande actividade neste sector.

No que se refere a expediente, pessoal e aquisições, a Secretaria teve o seguinte movimento:

|                                   |      |
|-----------------------------------|------|
| Número de ofícios recebidos ..... | 4089 |
| Número de ofícios expedidos ..... | 2615 |
| Número de posses de pessoal ..... | 59   |
| Número de requisições .....       | 894  |

Quanto ao sector de contabilidade a conta de gerência resume-se nos seguintes números:

#### Sede

|                           |                |
|---------------------------|----------------|
| Despesas correntes .....  | 12 760 033\$60 |
| Despesas de capital ..... | 821 376\$80    |
|                           | <hr/>          |
|                           | 13 571 410\$40 |

#### Delegação do Porto

|                           |               |
|---------------------------|---------------|
| Despesas correntes .....  | 5 115 160\$20 |
| Despesas de capital ..... | 396 876\$00   |
|                           | <hr/>         |
|                           | 5 512 036\$20 |

As receitas próprias do Instituto relativas a matrículas, venda de publicações e análises totalizaram 1 781 472\$00 e a dotação orçamental concedida para este ano foi de 12 035 400\$.

#### Deslocações ao estrangeiro

A fim de participar numa reunião da Comissão Técnica da Organização Internacional de Normalização deslocou-se a Genebra a técnica especialista deste Instituto Eng.<sup>a</sup> Júlia Coelho da Rocha Vilar.

A Dr.<sup>a</sup> Maria Ernestina da Silva Graça deslocou-se a Wageningen a fim de representar Portugal nas reuniões internacionais do Codex Alimentarius e a Budapeste e Roma para participar na 15.<sup>a</sup> Sessão de Leite e Seus Derivados e 9.<sup>a</sup> Comissão do Codex Alimentarius, respectivamente.

### III Plano de Fomento

Com a execução dos programas do III Plano de Fomento atribuídos ao INSA foi efectuada a despesa de 2 336 800\$00 distribuída da seguinte forma:

**Equipamento** — Adquiriram-se 2 aparelhos de absorção atómica, um para a Sede e outro para a Delegação no valor de 500 contos cada.

**Curso de Agentes Sanitários** — Este curso teve a duração de 4 meses e terminou com o aproveitamento de 23 alunos. A leccionação esteve a cargo de pessoal técnico superior do Instituto e de pessoal da Delegação de Saúde onde também lhe foi ministrada a preparação prática.

**Curso de Preparadores** — Com a duração de 9 meses foi efectuado este curso, frequentado por 14 alunos, que obtiveram aproveitamento. A leccionação do curso esteve a cargo do pessoal técnico superior e o estágio foi realizado nos laboratórios do Instituto.

**Preparação de Investigadores** — Foram atribuídas dez bolsas, sendo 4 a licenciados que se preparam em regime de estágio nos laboratórios, com vista à entrada nos quadros do Instituto, e 6, a técnicos licenciados do Instituto que efectuaram a sua especialização no estrangeiro, realizando os seguintes estágios:

Dr.<sup>a</sup> Eugénia Cardoso do Amaral — estagiou no Laboratório de Química dos Alimentos do Serviço Federal de Higiene Pública, em Berne, e no Laboratório Central da Société d'Assistance Technique par Produits Nestlé, em Vevey.

Dr.<sup>a</sup> Maria dos Anjos Martins Monge Catry — realizou um estágio referente ao «Aperfeiçoamento das Técnicas de isolamento e identificação de *Mycoplasma pneumoniae* e diagnóstico serológico e estudo de epidemiologia das infecções causadas por este agente», no Institut of Medical Microbiology na Universidade de Aarhus, na Dinamarca e no Central Public Health Laboratory, em Londres.

Realizou ainda outro estágio referente ao «Estudo das Técnicas de titulação de antitoxina diftérica com cultura de tecidos», no Institut of Epidemiology and Microbiology, em Praga.

Dr. José Augusto Guimarães Morais — Frequentou, nos Estados Unidos da América, na Universidade de Michigan, um Curso de Biofarmácia e Farmacocinética.

Dr.<sup>as</sup> Ascensão Maria da Silva Ribeiro e Maria Margarida Rodrigues Prazeres Santos Coelho — estagiaram em Itália, nos Laboratórios de Controlo do Grupo Le Petit e na Direcção-Geral de Saúde Italiana.

Dr.<sup>a</sup> Maria da Conceição Sousa Jorge — estagiou no Laboratório de Comprovação de Medicamentos da Direcção-Geral de Saúde de Madrid.

## 5. PLANO DE ACTIVIDADES PARA 1973

Como se disse na «Introdução» deste relatório, a reorganização do INSA pelo Decreto-Lei n.º 413/71, de 27 de Setembro, e Decreto regulamentar n.º 35/72, de 31 de Janeiro, condicionou a elaboração dos seus planos de trabalho, nas linhas gerais, à definição duma política superior de acção técnica e científica e ao estabelecimento dos respectivos programas de investigação, pelo Conselho Consultivo, sendo estes programas apreciados, depois, em pormenor, pelo Conselho Técnico.

O plano de acção para 1973, na continuação do de 1972, foi apreciado pelo Conselho Consultivo, incluindo a sua tradução orçamental, nas reuniões de 23 de Outubro e de 18 de Dezembro de 1972, e aprovado, sob a forma de programas pormenorizados de acção, pelo Conselho Técnico, nas reuniões de 20 de Dezembro de 1972 e 26 de Janeiro de 1973.

Entretanto, em 2 de Outubro de 1972, foi criada para funcionar em ligação com o Instituto a Escola Nacional de Saúde Pública, por adaptação do sector de ensino que constituía o ramo da *Saúde Pública* da anterior Escola Nacional de Saúde Pública e de Medicina Tropical (Decreto-Lei n.º 372/72, de 2 de Outubro, e Decreto regulamentar n.º 441/72, de 8 de Novembro), tendo sido os seus primeiros planos de trabalho elaborados pela Direcção e pelo Conselho Escolar, e, depois de aprovados por este, submetidos a confirmação ministerial.

O Conselho Escolar, embora ainda não completo, pois falta designar dois dos seus membros — subdirector e secretário da Escola — só pôde efectuar as primeiras reuniões de trabalho terminado o ano de 1972 (em 23 de Janeiro de 1973). Tinha-se constituído anteriormente, um Conselho provisório formado pelos professores em exercício com provimento definitivo, o qual assegurou o funcionamento inicial da Escola.

Seguindo uma ordem de exposição dos objectivos e orientações estabelecidas no plano de trabalho, vejamos cada um dos assuntos que dizem respeito directamente à Sede, em Lisboa, e, na parte aplicável, à Delegação no Porto:

### 5.1 Principais objectivos a atingir com o plano de acção para 1973

Os três objectivos principais que se procurarão atingir durante o ano de 1973 corres-

pondem à reestruturação completa do INSA, de acordo com as funções que lhe foram atribuídas; à organização da Escola; e à instalação das duas instituições no novo edifício, que se encontra na fase final de acabamento, esperando-se que seja entregue pelo Ministério das Obras Públicas ao Ministério da Saúde e Assistência até ao próximo Verão.

Na continuação das acções desenvolvidas em 1972, está-se a proceder à reestruturação dos serviços actuais e à organização dos novos laboratórios e outras secções de trabalho, tendo em conta as novas modalidades de actividade a desenvolver pelo INSA e pela Escola. O plano assenta nas possibilidades de espaço trazidas pelas novas instalações a ocupar em breve e no progresso feito no recrutamento e especialização do pessoal técnico e administrativo. Os pormenores de maior interesse podem ser enunciados, resumidamente, em seis grupos de intervenções:

#### 5.1.1 Inclui as seguintes medidas em curso:

5.1.1.1 adaptação dos diversos serviços do INSA a métodos de trabalho mais coordenados e eficientes por alargamento das secções e ajustamento dos quadros respectivos de pessoal em equipas adequadas, disciplinando as actividades de apoio às autoridades sanitárias e às entidades particulares que recorrem aos laboratórios para estudos técnicos no âmbito destas actividades. Todas de interesse para a saúde, dizem respeito especialmente aos sectores dos alimentos (composição, bacteriologia e toxicologia), alimentos dietéticos, aditivos alimentares, materiais plásticos e outros destinados a embalagens de alimentos; águas de abastecimento e águas residuais; higiene industrial; poluição dos locais de trabalho; poluição da atmosfera e das águas; análises microbiológicas, bioquímicas e imunológicas aplicadas, com relevo para os estudos epidemiológicos e o diagnóstico das doenças infecciosas de maior importância em saúde pública;

5.1.1.2 organização do laboratório de comprovação de medicamentos, de que estão consideradas as instalações, recrutamento do pessoal técnico, já efectuado, encontrando-se todos os elementos técnicos com licenciatura no País e no estrangeiro, e escolha do equipamento completo para essa fase. Este equipamento foi já escolhido e encomendado e a sua aquisição é feita por verba própria do III Plano



de Fomento. Igualmente se procedeu à organização do suporte administrativo necessário às actividades do laboratório e das comissões que funcionam junto dele (Comissão Técnica dos Novos Medicamentos, Comissão Permanente da Farmacopeia Portuguesa e Conselho Técnico de Comprovação de Medicamentos, este em organização). Entrará em funcionamento, logo que as novas instalações estejam disponíveis, ocupando já parte delas neste momento;

5.1.1.3 organização do laboratório de comprovação de vacinas víricas, por alargamento da actual secção da vacina antivariólica, e que abrangerá as vacinas contra a varíola, gripe, rubéola, sarampo e poliomielite. Actualmente está a ser feita a comprovação das duas primeiras;

5.1.1.4 organização do laboratório de Bioquímica e Biofísica, incluindo o sector da microscopia electrónica, cujo equipamento está a ser adquirido por verba própria do III Plano de Fomento. Começará a funcionar também logo que as instalações fiquem disponíveis;

5.1.1.5 organização do Laboratório de Imunologia, para o qual, nesta primeira fase de funcionamento, está tudo previsto, devendo começar a actividade também logo que as instalações fiquem disponíveis;

5.1.1.6 organização de um laboratório de exames múltiplos de saúde, incluindo exames fisiológicos, radiológicos e bioquímicos sanguíneos e urinários, além das análises clínicas habituais, para o qual estão consideradas as instalações e parte do pessoal. Estuda-se a aquisição do equipamento automatizado e da aparelhagem de raios X e de provas funcionais, para os quais não há ainda suporte financeiro, mas está elaborado o programa;

5.1.1.7 organização do serviço de documentação e informação, especialmente relacionado com o sector da saúde pública, para o qual estão previstas instalações e se procede ao recrutamento do pessoal adequado à fase presente de actividade.

A especialização do principal elemento técnico deverá ser feita brevemente em França, no INSERM, considerado o Instituto mais apropriado da Europa para este fim.

O esquema das normas aplicáveis na organização deste serviço estabelece que:

- a) a sua actuação será permanente e tem o objectivo de proceder às tarefas de documentação e informação sobre assuntos de saúde pública, capazes de assegurar a informação adequada regular, tanto para os organismos centrais do Ministério ou de outros Ministérios, como dos centros de estudo e investigação e da rede de cobertura médico-sanitária (autoridades sanitárias, centros de saúde, laboratórios distritais, hospitais concelhios). Outras entidades poderão vir a ser incluídas na lista dos destinatários;
- b) baseado na biblioteca do INSA, como principal fonte de recolha de dados, e nas instalações de trabalho especial da biblioteca e do centro de comunicação anexo, constará de 3 secções principais:

— *Serviço de orientação e de informações gerais*, para resposta rápida aos pedidos de informação sobre documentação referente à organização de serviços de saúde, de laboratórios, de relatórios ou documentos, traduções, congressos, e aos pedidos de bolsas de estudo e de subsídios para investigação;

— *Serviço de bibliografia*, para informação sobre trabalhos publicados nos domínios das ciências e da investigação de interesse para a saúde, e para fornecimento regular de indicações actualizadas, relativas aos assuntos de trabalho dos diversos sectores administrativos e técnicos de saúde pública;

— *Serviço de actualização permanente*, para fornecimento de fotocópias ou microfilmes de artigos e sumários publicados a partir de 1973, em cerca de 150 jornais e revistas estrangeiras e 100 portugueses de saúde pública e de ciência, relacionados com assuntos de saúde.

5.1.2 Coordenação dos serviços do INSA, com os da Escola Nacional de Saúde Pública. Diz respeito, especialmente, aos sectores de laboratórios de apoio ao ensino em Bacterio-

logia, Nutrição, Higiene do ambiente e Saneamento, na fase actual, mas também à Epidemiologia e Bioestatística, e à Documentação e Informação. Estas ligações envolvem diversos planos de trabalho técnico ou docente e de investigação, em curso ou a iniciar, referidos adiante.

5.1.3 Cursos normais da Escola e outras actividades a desenvolver no sector de preparação de técnicos de saúde, pela Escola e pelo Instituto:

5.1.3.1 estão em funcionamento os três cursos normais da Escola de Saúde Pública, com 20 alunos depois da junção dos cursos iniciados em Outubro (4 alunos) e Janeiro (16 alunos); de Medicina do Trabalho (25 alunos); e de Administração Hospitalar (18 alunos). Houve grande dificuldade de instalações para o funcionamento destes cursos, dadas as limitações de espaço no velho edifício, no Campo dos Mártires da Pátria, n.º 91. Graças ao despacho de 11 de Agosto de 1972, de Sua Excelência o Ministro, e à boa vontade das direcções do I. N. A. T. e do Sanatório D. Carlos, foi possível instalar o Curso de Administração Hospitalar em parte de um pavilhão do mesmo Sanatório, onde se encontra em funcionamento quase completo, embora a título transitório. Espera-se que assim continue durante 1973.

Está em estudo o programa de um «Período de Formação Comum» para todos os Cursos da Escola, em que serão ministrados conhecimentos de interesse comum e apreciadas as bases de funcionamento dos serviços de saúde e interligação dos seus sectores.

5.1.3.2 estão em estudo, com carácter eventual, um curso de Saúde Pública para elementos de direcção e chefia de enfermagem de saúde pública e de serviço social, cuja proposta será oportunamente submetida à apreciação ministerial.

5.1.3.3. está igualmente em estudo a hipótese de a Escola vir a colaborar com o Ministério da Educação Nacional em cursos para médicos de Saúde Escolar;

5.1.3.4 pelos serviços do INSA, à semelhança de 1972, em que foram realizados cursos para preparadores de laboratórios em Lisboa e no Porto, com a duração ininterrupta de 8 meses, estão previstos, para 1973, cursos de Agentes

Sanitários, com a duração de 4 meses, a efectuar em Lisboa e no Porto, os quais, em conjunto, abrangerão 80 alunos;

5.1.3.5 admite-se que pelo INSA venham a ser efectuados um curso médio para técnicos de instalação e equipamentos dos serviços de saúde, de que se elaborou um projecto de programa, e ainda cursos para técnicos de algumas especialidades, como auxiliares de odontologia;

5.1.3.6 incluídos em projectos para 1973 do III Plano de Fomento, estão previstos no INSA vários cursos intensivos destinados a médicos dos serviços de saúde, desde directores a delegados de saúde, com a finalidade de actualização ou aperfeiçoamento, todos suportados por verbas do III Plano de Fomento. Deverão abranger entre 120 e 150 delegados e directores de saúde.

5.1.4 Estudos especiais de investigação a efectuar pelos laboratórios do INSA e cadeiras da Escola, nos sectores da virologia, bacteriologia, nutrição, epidemiologia e ambiente. Constam do plano aprovado pelo Conselho Técnico, para o INSA, e são enunciados na lista seguinte:

*Virologia* — Continuação de estudos em curso:

- a) pesquisa de vírus em águas das praias;
- b) panencefalite esclerosante subaguda (sarampo);
- c) estudos sobre tracoma e rubéola;
- d) aperfeiçoamento de técnicas de diagnóstico rápido;

— Trabalhos programados e a realizar:

- a) inquéritos sero-epidemiológicos;
- b) estudo das relações vírus/malformações.

*Bacteriologia* — Toxoplasmose, salmoneloses, fagotípia, inquéritos serológicos, poluição (lagoa de Óbidos, estudos com a Comissão Nacional do Ambiente).

*Nutrição* — Inquéritos alimentares na população; estudo experimental da acção do álcool em regimes normais hiperproteicos, hiperlipídicos e hiperaçucarados.

*Epidemiologia* — Estudos conjuntos com os laboratórios de Virologia e Bacteriologia nos sectores indicados.

*Ambiente* — Continuação do estudo da poluição atmosférica na cidade de Lisboa e região do Barreiro-Seixal, e sua extensão ao Porto.

— Estudo dos efeitos da poluição em grupos críticos da população.

— Estudos de riscos em actividades industriais.

5.1.5 Transferência para as novas instalações de todos os serviços do INSA e da Escola, logo que terminadas, e adaptação provisória de algumas instalações do 2.º pavimento do novo edifício (sector de estudos e de fisiologia do trabalho) ao ensino, até construção do pavilhão especial destinado à Escola e cujo projecto deve ficar terminado em 1973. As obras de adaptação estão a ser executadas pelo M. O. P., devendo ficar terminadas dentro de poucas semanas. Seguir-se-á a construção do pavilhão, em estudo pelos serviços competentes do M. O. P., destinado aos cursos normais da Escola, comportando instalações para alunos e professores, aulas, conselhos e outros apoios didácticos. As instalações para ensino existentes no edifício principal do INSA destinam-se aos cursos médios técnicos e aos cursos sanitários, de preparação de pessoal de saúde pública.

5.1.6 Inauguração das novas instalações, em data a fixar, devendo realizar-se, então, uma reunião de carácter científico, talvez sob a forma de simpósio, cujo programa será submetido à apreciação ministerial, na qual seriam estudados problemas relacionados com os sistemas de saúde e as modernas condições de saúde das populações, e as atribuições dos Institutos Nacionais de Saúde no estudo dos novos esquemas de serviço de saúde.

## 5.2 Política de Pessoal

O INSA fez um grande esforço, a partir de 1970, para a renovação do seu quadro de pessoal, especialização de elementos técnicos e administrativos e recrutamento de pessoas jovens. Esta tarefa foi conduzida pelo Senhor

Dr. Arnaldo Sampaio, director em exercício, em íntima ligação com o Gabinete, o mesmo se tendo verificado para a Delegação no Porto, dirigida pelo Senhor Dr. Aloísio Moreira Coelho.

Foi possível, por isso, durante o ano de 1972 duplicar, praticamente, o número de técnicos licenciados a trabalhar nos laboratórios da sede, que passou de 40 para cerca de 80, no começo de 1973.

O restante pessoal aumentou no mesmo período de 29 unidades. O número total de funcionários deve atingir em 1973 mais de 200 unidades.

De Interesse particular foi a renovação que está em curso de pessoal administrativo, tendo-se conseguido melhorar acentuadamente o trabalho de dactilografia e expediente, apesar da preparação incrivelmente baixa com que se apresentam nesta época os candidatos aos respectivos lugares, habilitados com a instrução primária ou mesmo com o primeiro ciclo liceal ou equivalente.

O plano para 1973, facilitado pela entrada do INSA e da Escola em regime de instalação, toma em conta particularmente esta experiência e tem em vista o recrutamento de novas unidades, o aperfeiçoamento das existentes e a especialização no estrangeiro de cerca de 12 elementos técnicos, dos quais 7 se encontram, neste momento, em vários países da Europa e nos E. U. A.

O plano, para a Escola, inclui o recrutamento de assistentes e a abertura de concursos para provimento de vagas de professor extraordinário, pelo menos nas cadeiras de Epidemiologia e de Saneamento. Este plano já parcialmente apreciado pelo Conselho Escolar será apresentado superiormente, em breve, devendo os concursos ser efectuados no segundo semestre de 1973.

Ainda que se procure aproveitar das facilidades do regime de instalação, o recrutamento do pessoal é feito de acordo com as especificações dos respectivos regulamentos do INSA e da Escola.

A boa vontade e interesse constantes manifestados pelos Senhores Ministro, Secretário de Estado e Subsecretário de Estado, no que se refere à política de pessoal do INSA e da Escola, têm sido da maior importância para o futuro destas instituições e, por elas, lhes estamos profundamente reconhecidos.

### 5.3 Política de Investigação

A política de investigação seguida pelo INSA decorre da estabelecida, na generalidade pelo Ministério, na sequência das atribuições fixadas legalmente, e os seus planos para 1973 estão condicionados pelos factores já referidos de instalação e pessoal.

Ao reconhecer-se a necessidade de alargar o âmbito de acção do INSA, para além dos limites tradicionais da higiene, de forma a abranger aspectos novos de saúde pública, as suas atribuições passaram a estender-se por diversos campos de estudo e de ensino.

Estas atribuições no domínio da investigação dizem respeito ao planeamento, especialmente em ligação com o Gabinete de Estudos e Planeamento, e à execução, por iniciativa própria ou dentro de esquemas de estudo elaborados de acordo com outras entidades oficiais ou particulares, de trabalhos que possam conduzir ao aumento dos nossos conhecimentos no domínio do meio físico, das doenças infecciosas, da epidemiologia e da patologia, da nutrição, da medicina e da fisiologia do trabalho, da saúde mental, da genética e da administração de saúde pública ou de sectores afins. A sua promoção e programação incumbem especialmente à Comissão Coordenadora da Investigação Médica.

A investigação própria, a realizar pelos seus serviços e pelos da Escola Nacional de Saúde Pública que lhe está ligada, baseia-se em meios laboratoriais, epidemiológicos e estatísticos.

O apoio a dar a outros serviços no domínio científico e da tecnologia médica procura incentivar o interesse pelos problemas da saúde e da doença, promovendo a investigação e disciplinando-a, ajudando a preparar investigadores e a organizar centros ou núcleos de trabalho especializado, por meio da concessão de bolsas de estudo no País e no estrangeiro e de subsídios a entidades ou indivíduos que possam desenvolver actividades de investigação integradas em planos previamente apreciados.

A execução estará dependente dos programas estabelecidos, que, para 1973, compreendem:

- a) os projectos em andamento da responsabilidade dos serviços do INSA e da Escola, que dizem respeito aos estudos atrás indicados. Os trabalhos sobre poluição inserem-se nos objectivos de es-

tudo da Comissão Nacional do Ambiente e do Grupo de Trabalho sobre Poluição do Ar. Conviria que os trabalhos de nutrição, particularmente no sector dos inquéritos alimentares, tivessem ligação com os serviços Médico-Sociais da Previdência e se estendessem aos trabalhadores dos principais ramos de actividades;

- b) os projectos a efectuar fora do INSA e da Escola, mas inteiramente dependentes deles, que, neste momento, compreendem estudos em curso sobre a Doença Paramiloidótica Familiar Portuguesa, centrados no Instituto de Neurologia do Hospital Geral de Santo António, no Porto, e os estudos sobre microbiologia experimental relacionados com ensaios de toxicidade e da acção de poluentes e drogas em dinoflagelados, efectuados em laboratório instalado provisoriamente no Sanatório D. Carlos I, por amável deferência da Direcção do I. N. A. T.;

- c) os projectos em via de aprovação e a executar no ano de 1973, em parte, relacionados com doenças do foro pulmonar provocadas por poluentes industriais, especialmente de natureza sintética, em Lisboa e no Porto.

Outra intervenção do INSA neste domínio é feita pela concessão de prémios (Prémios Ricardo Jorge) distinguindo trabalhos efectuados especificadamente para escalerecimento de problemas de saúde pública ou de índole médica com interesse na luta contra a doença.

Neste campo consideram-se prioritários os projectos que ajudem a conhecer as características de morbilidade da nossa população e procurem enquadrar-se em programas de luta contra as doenças, considerada a relevância destas doenças em função da sua importância e características sociais, para o que se terá em atenção:

- a responsabilidade de cada doença pela maior mortalidade prematura, isto é, pelos casos de morte antes da idade que, estatisticamente, os indivíduos deveriam atingir na comunidade a que pertencem;
- a responsabilidade pela maior morbilidade, considerada esta especialmente

sob os pontos de vista da gravidade e do número de casos de cada doença ou grupos que ocorrem na população;

- a maior probabilidade de cada doença ou grupo de doenças serem debeladas
- mais rapidamente e com menor custo.

O estabelecimento das prioridades será difícil tendo em atenção a mudança a que se assiste no padrão de doença e à dificuldade que oferecem algumas doenças muito importantes de serem estudadas com os meios de que se dispõe presentemente.

É o caso das doenças cardiovasculares, que constituem causa crescente de morte ou de incapacidade, o cancro, os acidentes e, noutro plano, os reumatismos, as doenças mentais e as perturbações respiratórias devidas à poluição do ar.

Tanto para as doenças cardiovasculares como para os acidentes, os estudos deverão orientar-se para o esclarecimento da intervenção de factores condicionantes externos, dependentes de hábitos e modos de vida desfavoráveis ao funcionamento normal do organismo humano.

Para o caso do cancro, os estudos que poderemos realizar deverão, salvo condições de excepção, incidir mais no diagnóstico precoce e no rastreio geral, para salvar vidas, do que

na biologia, dada a nossa pequena capacidade de intervenção, quer na investigação fundamental biomédica, quer na descoberta de meios de investigação epidemiológica.

A nutrição é outro campo prioritário que devemos desenvolver, continuando os estudos sobre a importância do álcool na alimentação e a sua influência metabólica.

#### 5.4 Avaliação periódica da acção desenvolvida

A avaliação do trabalho efectuado, tanto no INSA como na Escola, está ainda em fase pouco evoluída, e os resultados têm sido expressos de forma quantitativa apenas nos anteriores relatórios de tipo anual.

Para os laboratórios, o trabalho iniciado durante o ano de 1972, deve levar, em 1973, à avaliação do rendimento em termos de volume de trabalho, com a especificação de unidades-tarefa e unidades-valor monetário, e de «controle» de qualidade, e ainda do trabalho efectuado sob a forma de estudos e de investigações especificadas com programas estabelecidos.

Espera-se que a instalação dos serviços em condições mais favoráveis, no novo edifício, facilite a introdução de regras seguras e com uniformidade suficiente para que a avaliação seja geral e periódica, ao longo do ano, e não apenas no fim deste.



## LEGISLAÇÃO

### Portaria n.º 284/73

de 18 de Abril

Nos termos do artigo 77.º do Decreto n.º 441/72, de 8 de Novembro:

Manda o Governo da República Portuguesa, pelo Ministro da Saúde e Assistência, aprovar o seguinte:

#### **Regulamento dos Concursos para Professores Auxiliares, Extraordinários e Catedráticos da Escola Nacional de Saúde Pública.**

Artigo 1.º — 1. Os concursos para provimento dos lugares de professor auxiliar extraordinário e catedrático da Escola Nacional de Saúde Pública são abertos ao abrigo do disposto nos artigos 67.º, 70.º e 73.º do seu Regulamento, aprovado pelo Decreto n.º 441/72, de 8 de Novembro, mediante autorização do Ministro da Saúde e Assistência, sob proposta do conselho escolar.

2. Todas as formalidades subsequentes ao despacho ministerial são consideradas como decorrentes do mesmo.

Art. 2.º — 1. A abertura do concurso é feita por edital, publicado no *Diário do Governo*, que indicará o número de vagas existentes nas categorias respectivas.

2. O edital indicará também os documentos cuja apresentação fica dispensada, bem como aqueles que se considerem necessários.

Art. 3.º Aos concursos para professor auxiliar, extraordinário e catedrático poderão concorrer, respectivamente, os candidatos referidos no n.º 2 do artigo 67.º, no n.º 1 do artigo 70.º e no artigo 73.º do Regulamento da Escola.

Art. 4.º — 1. Os concursos serão abertos perante a Escola e pelo período de trinta dias.

2. O requerimento de admissão será instruído com os seguintes elementos:

- a) Documentos a apresentar nos termos do n.º 2 do artigo 2.º do presente diploma;
- b) Trinta exemplares, impressos ou policopiados, do *curriculum vitae* científico e profissional do candidato, quando for caso disso, com a indicação dos trabalhos publicados, dos estudos efectuados ou em curso, e, ainda, das actividades pedagógicas exercidas.

Art. 5.º A Escola deverá comunicar aos candidatos, dentro de três dias após o termo do prazo a que se refere o n.º 1 do artigo anterior, o despacho de admissão ou não admissão ao concurso, indicando, neste caso, o motivo da exclusão.

Art. 6.º — 1. No concurso para professor auxiliar o conselho escolar, decidida a admissão dos candidatos, fixará imediatamente o tipo de provas complementares a que os candidatos serão sujeitos.

2. Os candidatos admitidos deverão entregar, no prazo de sessenta dias, a contar da data de recepção daquela comunicação, trinta exemplares, impressos ou policopiados, de uma dissertação original e especialmente escrita para o efeito.

3. No caso de o conselho escolar optar pelas provas complementares, a que se referem as alíneas b) e c) do n.º 3 do artigo 12.º, será dado ao candidato um prazo de noventa dias para a apresentação de trinta exemplares do estudo ou projecto de investigação referidos, devendo, no entanto, o candidato, ao fim de trinta dias, indicar o tema escolhido.

Art. 7.º — 1. Os candidatos admitidos ao concurso para professor extraordinário deverão entregar, no prazo de quarenta dias, a contar da data de recepção daquela comunicação:

- a) Quinze exemplares, impressos ou polycopiados, de um relatório que inclua o programa, os conteúdos e os métodos de ensino teórico e prático das matérias da cadeira ou disciplina para que foi aberto o concurso;
- b) Quinze exemplares de um sumário pormenorizado da lição síntese, escolhida pelo candidato, sobre assunto da cadeira ou disciplina para que foi aberto o concurso;
- c) Quinze exemplares de uma dissertação, sempre que se trate de candidato que ainda não seja doutor ou de candidato que ainda não tenha nomeação de professor da Escola;
- d) Dois exemplares de cada um dos trabalhos mencionados no *curriculum*.

2.º Os candidatos admitidos ao concurso para professor catedrático deverão entregar no prazo de quarenta dias, a contar da data da recepção daquela comunicação, quinze exemplares de um sumário pormenorizado de uma exposição sobre assunto da cadeira ou disciplina para que foi aberto o concurso.

Art. 8.º — 1. Os júris dos concursos são constituídos de harmonia com o disposto nos artigos 68.º, 75.º e 76.º do Regulamento da Escola e serão designados no prazo de trinta dias, a contar da comunicação referida no artigo 5.º do presente diploma.

2. Dos júris farão parte, obrigatoriamente, cinco professores.

Art. 9.º Logo que publicada a constituição do júri no *Diário do Governo*, será enviado pela Escola a cada um dos membros do júri um exemplar do *curriculum* de cada um dos candidatos.

Art. 10.º — 1. Na primeira reunião do júri, que terá lugar no prazo máximo de trinta dias após a referida publicação no *Diário do Governo*, tratar-se-á da admissão dos candidatos às provas, da distribuição de serviços e da marcação da data das mesmas.

2. Nesta reunião serão excluídos os candidatos cujos trabalhos não tenham o nível necessário ou versem assuntos diferentes das matérias da cadeira ou disciplina para que foi aberto o concurso.

3. Sempre que um candidato seja excluído, deverá o júri elaborar um parecer justificativo de que será dado conhecimento ao candidato até à data da marcação do concurso.

Art. 11.º — 1. O concurso para professor auxiliar terá lugar até aos cento e vinte dias seguintes à primeira reunião do júri.

2. O concurso para professores extraordinário e catedrático terá lugar até aos sessenta dias seguintes à primeira reunião do júri.

3. Se o termo dos prazos referidos nos números anteriores coincidir com o período de férias grandes, o concurso poderá ter lugar nos trinta dias que se seguirão àquele período de férias.

Art. 12.º — 1. O concurso para professor auxiliar constará de duas provas obrigatórias e de uma prova complementar, de opção.

2. As provas obrigatórias são:

- a) Apreciação do *curriculum* do candidato por dois membros do júri, que elaborarão um parecer fundamentado sobre o qual se baseará a discussão;
- b) Discussão da dissertação por um ou mais membros do júri.

3. A prova complementar será escolhida pelo conselho escolar de entre as seguintes:

- a) Discussão de dois pontos sobre temas estritamente relacionados com matérias do grupo, da cadeira ou disciplina a que corresponde o concurso;
- b) Discussão de um estudo, proposto pelo candidato, que constitua uma actualização de conhecimentos ou uma análise crítica original sobre tema delimitado abrangido na cadeira ou disciplina a que corresponde o concurso;
- c) Discussão de um projecto de investigação apresentado pelo candidato dentro das matérias da cadeira ou disciplina a que corresponde o concurso, mas distinto do trabalho elaborado como dissertação.

Art. 13.º O concurso para professor extraordinário constará das seguintes provas:

- a) Apreciação feita por dois membros do júri, em separado, do *curriculum* e do relatório, os quais elaborarão, de per si, pareceres fundamentados sobre que se basearão as discussões;
- b) Lição de síntese, que terá a duração máxima de sessenta minutos, seguida de discussão por um membro do júri;
- c) Discussão da dissertação por um ou mais membros do júri.

Art. 14.º O concurso para professor catedrático constará das seguintes provas:

- a) Apreciação do *curriculum* do candidato por dois membros do júri, que elaborarão um parecer fundamentado sobre o qual se baseará a discussão;
- b) Exposição, indicada no n.º 2 do artigo 6.º, sobre um problema à escolha do candidato.



Art. 15.º—1. As provas a que se referem os artigos 12.º, 13.º e 14.º serão separadas por intervalos mínimos de vinte e quatro horas.

2. Cada uma das provas terá a duração máxima de duas horas, excepto a referida na alínea a) do n.º 3 do artigo 12.º, que terá a duração máxima de quarenta e cinco minutos para cada um dos pontos.

Art. 16.º—1. Os pontos para a discussão a que se refere a alínea a) do n.º 3 do artigo 12.º serão sorteados entre quinze propostos pelo júri.

2. A afixação dos pontos e o respectivo sorteio terão lugar trinta dias antes da data do início da prestação das provas.

Art. 17.º—1. A presidência do júri cabe ao director da Escola, que, não sendo professor da cadeira ou disciplina, só votará em caso de empate.

2. No caso de impedimento do presidente, este será substituído pelo vogal mais antigo entre os de categoria mais elevada.

Art. 18.º—1. O júri só pode funcionar quando estiver reunida a maioria dos seus membros.

2. Só podem votar os membros do júri que tenham assistido a todas as provas do concurso.

3. Das sessões do júri lavrar-se-ão actas, devendo delas constar todas as decisões tomadas.

Art. 19.º—1. Concluídas as provas, o júri reúne para decisão final, sendo a classificação do candidato feita por votação em escrutínio secreto.

2. A decisão é transcrita para as actas do concurso e os pareceres do júri são arquivados no respectivo processo.

Art. 20.º No caso de haver mais de um candidato para a mesma vaga, o júri votará primeiramente o mérito absoluto de cada candidato e, em seguida, procederá à classificação em mérito relativo.

Art. 21.º As classificações dos concorrentes serão publicadas no *Diário do Governo*.



## ÍNDICE GERAL

### 1.ª SECÇÃO

|                                                                                      | Pág. |
|--------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Política de investigação em saúde — <i>F. A. Gonçalves Ferreira</i> .....            | 7    |
| Política de saúde e reforma dos Serviços de Saúde — <i>Pedro Moraes Barbosa</i> ...  | 17   |
| Modernas condições de saúde, habitação e urbanismo — <i>F. A. Gonçalves Ferreira</i> | 31   |

### 2.ª SECÇÃO

|                                                                                                                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Estudo epidemiológico e laboratorial de um surto de poliomielite ocorrido na Ilha da Madeira (Março a Julho, 1972) — <i>José Bandeira Costa, Maria Irene Pires Nunes e Laura Ayres</i> ..... | 47  |
| Características higiénicas microbiológicas dos gelados à venda em Lisboa — <i>Ricardina Dantas e A. França e Silva</i> .....                                                                 | 57  |
| Características higiénicas microbiológicas das manteigas nacionais à venda na região de Lisboa — <i>Ricardina Dantas</i> .....                                                               | 85  |
| Aplicação da cromatografia em fase gasosa (CGL) ao estudo da gordura de alguns cacaos e chocolates do mercado nacional — <i>Beatriz Charters Monteiro</i>                                    | 101 |
| Subsídio para a determinação da nicotina em algumas marcas de cigarros nacionais — <i>L. F. Rodrigues Alves</i> .....                                                                        | 115 |
| Leites humanizados. Considerações sobre a determinação da Lactalbumina — <i>Eugénia C. C. Amaral</i> .....                                                                                   | 121 |
| Inquérito à prevalência das coagulopatias no Norte de Portugal — <i>J. M. de Pina Cabral, Pedro Vanzeller, Licínio Poças, Fernando Rente, M. Conceição Coelho e Aloísio M. Coelho</i> .....  | 133 |
| Microbiologia do suco jejunal na cirrose hepática — <i>Guida Portela-Gomes, Ricardina Dantas, Adriana Figueiredo, Nda Ribeiro Pires e J. Pinto Correia</i> .....                             | 137 |
| Patologia respiratória provocada por fibras sintéticas — <i>Prof. Cortez Pimentel</i> ...                                                                                                    | 145 |
| Estudo epidemiológico da doença respiratória dos trabalhadores da indústria da cortiça — <i>Ramiro Ávila e outros</i> .....                                                                  | 179 |

### 3.ª SECÇÃO

|                                                                                                                                                                                        |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Poluição do ar (Situação na cidade de Lisboa e na região do Barreiro-Seixal)<br>— <i>F. A. Gonçalves Ferreira e Júlia Vilar</i> .....                                                  | 201 |
| Nota sobre o cálculo da dimensão de amostras — <i>F. Galvão de Melo</i> .....                                                                                                          | 223 |
| Organização de um serviço laboratorial para diagnóstico de doenças causadas por<br>vírus entéricos integrado no INSA — <i>Maria Irene Pires Nunes</i> .....                            | 227 |
| Organização do serviço de Microbiologia dos Alimentos no INSA — <i>Ricardina<br/>Dantas</i> .....                                                                                      | 247 |
| Organização do serviço de Química Clínica do INSA — <i>Maria do Carmo Cava-<br/>lheiro Morais Martins</i> .....                                                                        | 271 |
| Organização do serviço de Virologia da Delegação do INSA no Porto — <i>Maria<br/>Fernanda Ferreira</i> .....                                                                           | 293 |
| Organização de uma secção de Bacteriologia da Tuberculose no Laboratório de<br>Bacteriologia da Delegação do INSA no Porto — <i>Maria Fernanda Mesquita de<br/>Paiva Pereira</i> ..... | 317 |

### 4.ª SECÇÃO

|                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Relatório de actividades do INSA (1972) — <i>F. A. Gonçalves Ferreira</i> ..... | 333 |
| Legislação .....                                                                | 401 |



Composto e impresso  
nas oficinas gráficas da  
Empresa do Jornal do Comércio, S. A. R. L.  
LISBOA  
*Junho de 1973*

