

Arquivos  
do Instituto Nacional  
de Saúde

Volume VI

LISBOA 1981

10285

**Arquivos  
do Instituto Nacional  
de Saúde**

10285

# Arquivos do Instituto Nacional de Saúde

Volume VI

LISBOA 1981

## 2.<sup>a</sup> SECÇÃO

- 1 — Incidência dos vírus da gripe, para-influenza, respiratório siccial, adenovírus e mycoplasma pneumoniae em Lisboa, durante o inverno, nos anos de 1978-79, 1979-80, 1980-81  
*Maria Virgínia T. Figueiredo*
- 2 — Diagnóstico rápido em virologia clínica  
*Ana Marques*
- 3 — Diagnóstico rápido em microscopia electrónica  
*Maria Francisca Avillez*
- 4 — Os lipídeos sanguíneos na doença cardíaca isquémica  
*Alfredo Franco*  
*Maria do Carmo Martinho*  
*Maria do Carmo Cavalheiro Martins*
- 5 — Experimental work on the Dinoflagellate toxin production  
*Estela S. Silva*  
*Isabel de Sousa*
- 6 — Um surto epidémico de rubéola numa população adulta feminina. Contribuição para o estudo da rubéola no norte de Portugal  
*Maria Fernanda Ferreira*  
*Maria do Rosário Aranha*  
*Aida Maria Loureiro*  
*Laura Maria de Sousa*  
*Maria Manuela Guimarães e Sousa*  
*Zulmira Tavares Quintas*



# INCIDÊNCIA DOS VIRUS DA GRIPE, PARAINFLUENZA, RESPIRATÓRIO SINCICIAL, ADENOVIRUS E MYCOPLASMA PNEUMONIAE EM LISBOA DURANTE O INVERNO, NOS ANOS DE 1978-79, 1979-80 E 1980-81

*M. V. T. de Figueiredo*

*M. Anjos Catry*

*M. Clara Carneiro*

## INTRODUÇÃO

As doenças das vias respiratórias são as infecções mais frequentes do homem, chegando a atingir valores de morbilidade de 67 % do conjunto das doenças transmissíveis. As pneumonias, bacterianas e virais, são as mais importante causa de morte das doenças respiratórias, constituindo 46% destas. (1).

As taxas de mortalidade por doenças agudas do tracto respiratório são relativamente simples de conseguir. O mesmo não acontece com as taxas de morbilidade. Mesmo em países mais desenvolvidos os dados sobre morbilidade, incidem somente em determinados grupos populacionais escolhidos, havendo consequentemente certa dificuldade na avaliação comparada desses dados.

Segundo a OMS (1) nos países europeus, a maior frequência de infecções respiratórias ocorre no Outono e Inverno; no entanto no Verão há sempre ainda um considerável número de casos.

Como se observa no Gráfico n.º 1, no Hemisfério Norte, em infecções respiratórias os

vírus dominantes são: gripe A e B, Parainfluenza e vírus Respiratório Sincicial (RS). Os vírus Parainfluenza com maior incidência no Outono e os outros nos meses de Inverno.

A OMS indica ainda que, no caso de Infecções por Adenovírus não há habitualmente uma variação clara de predominância em qualquer das estações do ano.

Em Portugal, fizemos idêntica observação (Gráfico 2) quando estudámos os Adenovírus latentes em amígdalas e adenóides de indivíduos da região de Lisboa (2).

Há já uns anos que mantemos uma vigilância serológica do impacto que têm as várias estirpes da gripe em circulação, em Portugal, estudando uma população jovem adulta. Em complemento desta vigilância, propuzemo-nos no presente trabalho, avaliar a importância em cada Inverno, dos principais grupos de Vírus Respiratórios e Mycoplasma pneumoniae, numa população de crianças distribuídas por três grupos etários (0 - 1, 2 - 4 e 5 - 10 anos).

São apresentados os resultados obtidos nos anos de 1978-79, 1979-80 e 1980-81.

## Material e Métodos

De um modo geral os soros foram colhidos em Outubro-Novembro e Abril-Maio de cada ano, de crianças que vieram ao nosso serviço para análises de rotina ou outras não relacionadas com o fim em vista. Estes soros foram agrupados nos grupos etários já referidos.

Os soros foram titulados por reacções de fixação do complemento usando microtécnica em volumes de 0.025 ml, segundo a técnica habitual.

Os antigénios e soros de referência usados nas reacções, na grande maioria, foram cedidos pela OMS.

Para determinação das médias geométricas (mG) dos títulos dos soros, os títulos < 5 foram considerados iguais a 2.

Os resultados obtidos estão expressos nos Quadros n.ºs 1 a 6 referentes aos anos 1978-79, 1979-80 e 1980-81, respectivamente.

Nos gráficos de barras n.ºs 3, 4 e 5 procurámos comparar em cada ano, as mG dos títulos de anticorpos para os vários vírus e *Mycoplasma pneumoniae*, em cada grupo etário, no Outono e Primavera.

Nos gráficos n.ºs 6, 7 e 8, mostra-se o peso relativo de cada vírus, em cada um dos grupos etários considerados.

## COMENTÁRIOS

Embora a amostra estudada, particularmente no grupo etário mais baixo, seja pequena para se poderem tirar conclusões muito seguras, a análise dos gráficos mostra-nos para qualquer dos anos estudados que:

1. Não se detectaram grandes diferenças entre as mG dos títulos de anticorpos dos soros colhidos antes e depois do Inverno.

Os valores encontrados em 1979-80, foram trabalhados estatisticamente pelo método de Student para uma pro-

babilidade de 0.05 e  $(n_1 + n_2 - 2)$  graus de liberdade e concluiu-se que, mesmo para este ano, o ano de maiores diferenças entre as médias geométricas, estas diferenças não foram estatisticamente significativas ( $t < 2.131$ ).

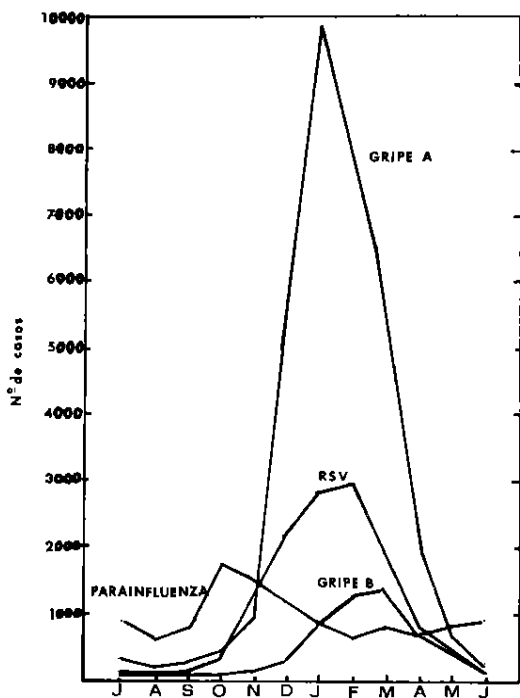
Daqui se conclui que em qualquer dos anos estudados não houve uma clara incidência dos vírus em estudo no Inverno. Muito provavelmente o predomínio destas infecções ocorreu mais cedo, no Outono.

2. Os grupos etários mais atingidos foram os grupos dos 2 aos 4 e 5 aos 10 anos.
3. Os vírus com maior incidência, foram por ordem decrescente os Adenovírus, vírus Respiratório Sincicial e vírus Parainfluenza tipo 3.
4. Os vírus que a seguir mostram peso na patologia respiratória foram os da gripe A, seguidos pelos Parainfluenza tipo 1 e gripe B.
5. As médias mais elevadas de títulos de anticorpos para *Mycoplasma pneumoniae*, situam-se nos grupos etários dos 2 aos 4 e dos 5 aos 10 anos.
6. As diferenças observadas entre as mG dos títulos de anticorpos dos soros colhidos antes e depois do Inverno, não permitem tirar conclusões sobre a variação sazonal das infecções respiratórias por *Mycoplasma pneumoniae* nos grupos etários estudados.

## BIBLIOGRAFIA

1. Viral respiratory diseases. Technical report series no. 642 (1980) WHO.
2. M. V. T. DE FIGUEIREDO — Adenovírus latentes em amígdalas e adenóides de indivíduos da região de Lisboa. Arq. do Inst. Nac. de Saúde, Vol. 1 (1972).

Gráf. 1 Doenças respiratórias associadas com os vírus da gripe A e B, parainfluenza e RS, por mês, no Hemisfério Norte.



adaptação de Viral respiratory diseases  
WHO 1980

Gráfico 2

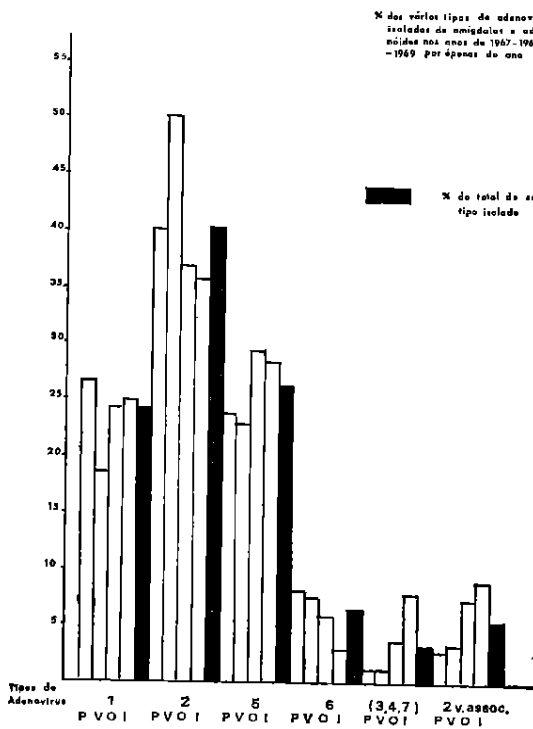
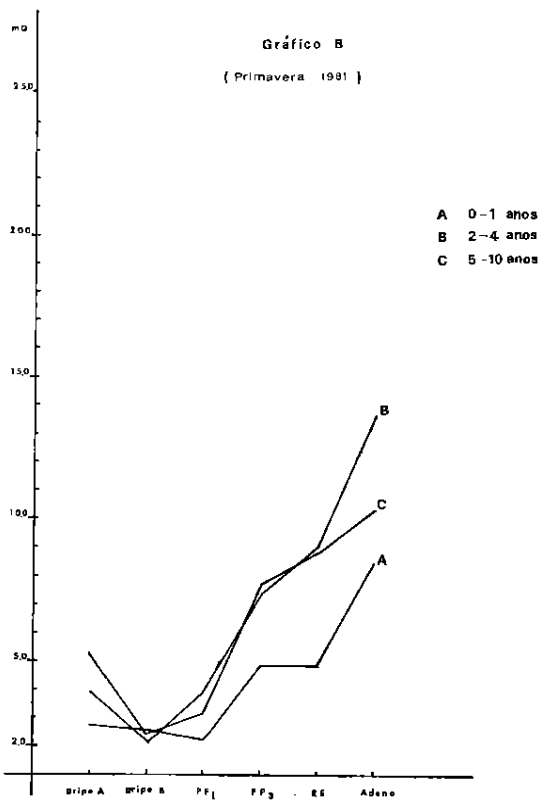


Gráfico B

(Primavera 1981)



QUADRO 1

Outono 1978

Idade (anos)	Antig.	TÍTULOS DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO									TOTAIS	log. mG	mG
		< 5	5	10	20	40	80	160	320	640			
0—1	Gripe A	17	1								18	0.32	2.1
	» B	18									18	0.30	2.0
	PF <sub>1</sub>	17	0	0	1						18	0.36	2.3
	PF <sub>2</sub>	17	1								18	0.32	2.1
	PF <sub>3</sub>	10	5	2	1						18	0.54	3.5
	RS	14	2	1	1						18	0.44	2.7
	Adenov.	13	2	0	1	2					18	0.54	3.5
	Myc. pn.	18									18	0.30	2.0
2—4													
	Gripe A	21	3	1							25	0.33	2.2
	» B	24	1								25	0.32	2.1
	PF <sub>1</sub>	20	5								25	0.38	2.4
	PF <sub>2</sub>	21	3	1							25	0.36	2.3
	PF <sub>3</sub>	7	7	7	3	1					25	0.78	6.0
	RS	13	7	1	1	1	0	1	0	1	25	0.70	5.1
	Adenov.	3	1	4	5	10	1	1			25	1.29	19.4
	Myc. pn.	12	—	0	9	2	2				25	0.89	7.8
5—10													
	Gripe A	33	9								42	0.38	2.4
	» B	39	2	0	1						42	0.34	2.2
	PF <sub>1</sub>	37	4	1							42	0.35	2.3
	PF <sub>2</sub>	34	6	1	1						42	0.39	2.5
	PF <sub>3</sub>	17	20	5							42	0.57	3.7
	RS	13	20	7	2						42	0.65	4.5
	Adenov.	1	3	18	11	9					42	1.17	14.7
	Myc. pn.	21	—	0	5	9	5	2			42	0.92	8.3

QUADRO 2

Primavera 1979

Idade (anos)	Antig.	TÍTULOS DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO									TOTAIS	log. mG	mG
		< 5	5	10	20	40	80	160	320	640			
0 — 1													
	Gripe A	25	1								26	0.32	2.1
	» B	24	2								26	0.33	2.1
	PF <sub>1</sub>	22	2	0	0	1	1				26	0.44	2.8
	PF <sub>2</sub>	25	1								26	0.32	2.1
	PF <sub>3</sub>	13	4	5	1	3					26	0.68	4.8
	RS	14	6	2	4						26	0.60	4.0
	Adenov.	15	4	2	3	1	1				26	0.64	4.4
	Myc. pn.	26									26	0.30	2.0
2 — 4													
	Gripe A	31	13	3	1	1					49	0.49	3.1
	» B	38	11								49	0.39	2.4
	PF <sub>1</sub>	29	13	7							49	0.50	3.2
	PF <sub>2</sub>	35	11	2	1						49	0.44	2.7
	PF <sub>3</sub>	10	16	11	6	1	2	3			49	0.92	8.2
	RS	5	18	10	10	6					49	0.95	8.9
	Adenov.	3	4	11	15	6	4	4	2		49	1.33	21.3
	Myc. pn.	34	—	4	6	5					49	0.61	4.0
5 — 10													
	Gripe A	23	15	10	1	1					50	0.60	4.0
	» B	36	6	6	0	1	0	1			50	0.49	3.1
	PF <sub>1</sub>	30	14	6							50	0.49	3.1
	PF <sub>2</sub>	26	14	10							50	0.55	3.5
	PF <sub>3</sub>	9	14	13	7	5	1	1			50	0.93	8.5
	RS	8	5	16	13	7	1				50	1.03	10.8
	Adenov.	3	6	7	20	11	2	1			50	1.23	17.1
	Myc. pn.	29	—	4	11	4	1	1			50	0.76	5.7

QUADRO 3

Outono 1979

Idade (anos)	Antig.	TÍTULOS DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO									TOTAIS	log. mG	mG	
		< 5	5	10	20	40	80	160	320	640				
0—1														
	Gripe A	4	1	1								6	0.481	3.0
	» B	5	1									6	0.365	2.3
	PF <sub>1</sub>	1	2	2	1							6	0.830	6.8
	PF <sub>3</sub>	0	1	3	1	1						6	1.098	12.5
	RS	1	3	1	1							6	0.778	5.9
	Adenov.	2	1	2	1							6	0.765	5.8
	Myc. pn.	5										5	0.300	2.0
2—4														
	Gripe A	25	9	3								37	0.451	2.8
	» B	35	2									37	0.321	2.1
	PF <sub>1</sub>	15	8	11	2	0	1					37	0.689	4.9
	PF <sub>3</sub>	8	7	10	6	4	2					37	0.952	8.9
	RS	2	13	16	5	0	0	1				37	0.926	8.4
	Adenov.	8	8	9	10	2						37	0.895	7.8
	Myc. pn.	0	1	4	13	7	1					26	1.237	17.7
5—10														
	Gripe A	9	12	4	1							26	0.620	4.2
	» B	23	3									26	0.340	2.2
	PF <sub>1</sub>	1	8	10	6	1						26	0.970	9.3
	PF <sub>3</sub>	0	1	13	8	3	1					26	1.184	15.2
	RS	0	9	11	6							26	0.961	9.1
	Adenov.	2	9	11	3	0	1					26	0.908	8.1
	Myc. pn.	7	9	5	4	1						26	0.842	6.9

QUADRO 4

Primavera 1980

Idade (anos)	Antig.	TÍTULOS DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO									TOTAIS	log. mG	mG
		< 5	5	10	20	40	80	160	320	640			
0 — 1	Gripe A	9	2								11	0.370	2.3
	» B	8	3								11	0.406	2.5
	PF <sub>1</sub>	6	5								11	0.477	3.0
	PF <sub>3</sub>	5	1	0	4	1					11	0.817	6.6
	RS	4	4	1	1	1					11	0.714	5.2
	Adenov.	3	1	3	3	1					11	0.917	8.3
	Myc. pn.	10	0	0	3	1					14	0.607	4.1
	2 — 4												
	Gripe A	5	4	1							10	0.526	3.4
	» B	6	2	2							10	0.518	3.3
	PF <sub>1</sub>	6	3	0	1						10	0.517	3.3
	PF <sub>3</sub>	6	0	1	2	1					10	0.700	5.0
	RS	0	2	5	2	1					10	1.058	11.4
	Adenov.	2	1	2	3	1	1				10	1.069	11.7
	Myc. pn.	2	0	5	2	2	1				12	1.107	11.3
5 — 10													
	Gripe A	8	9	8	1						26	0.688	4.8
	» B	12	8	4	2						26	0.604	4.0
	PF <sub>1</sub>	10	11	3	2						26	0.622	4.2
	PF <sub>3</sub>	19	3	0	1	3					26	0.533	3.4
	RS	1	9	11	4	1					26	0.935	8.6
	Adenov.	2	4	9	7	1	3				26	1.106	12.8
	Myc. pn.	4	3	4	9	2	1				23	1.003	10.1

QUADRO 5

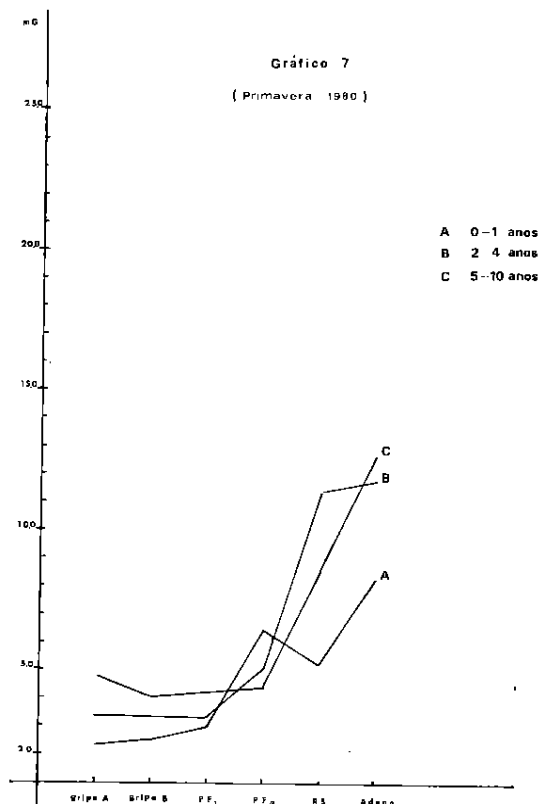
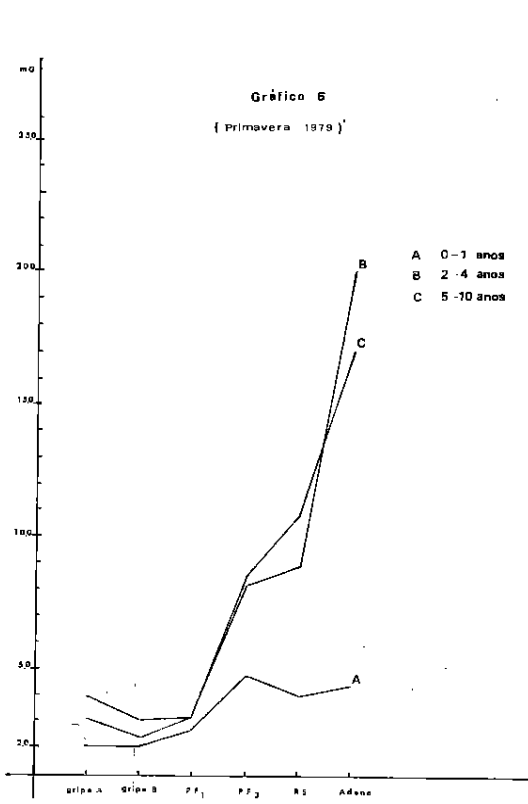
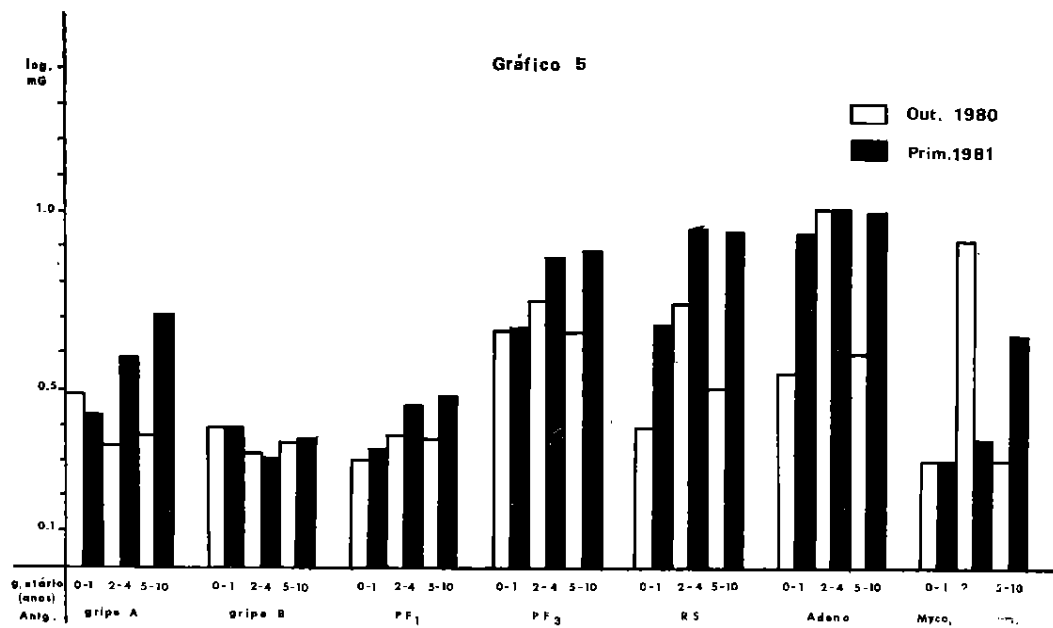
Outono 1980

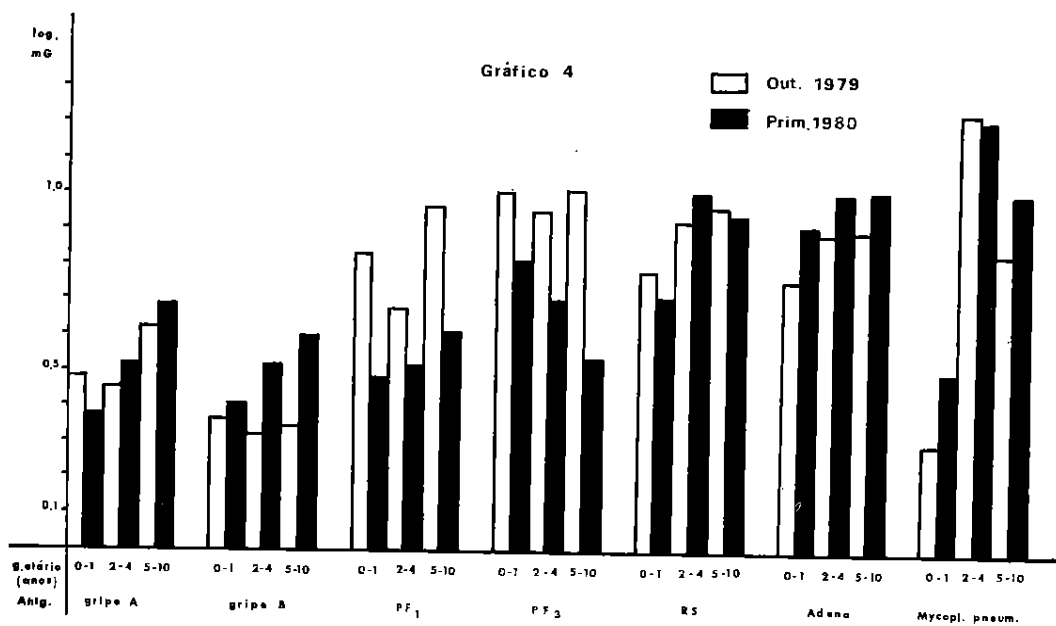
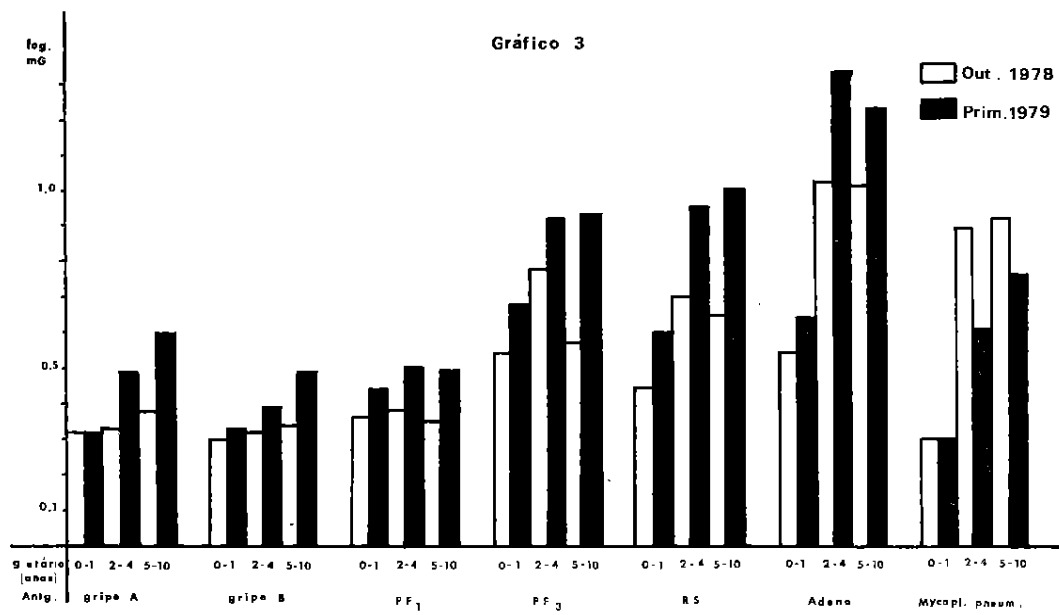
Idade (anos)	Antig.	TÍTULOS DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO									TOTAIS	log- mG	mG
		< 5	5	10	20	40	80	160	320	640			
0—1	Gripe A	2	2								4	0.495	3.1
	» B	3	1								4	0.397	2.5
	PF <sub>1</sub>	4									4	0.300	2.0
	PF <sub>3</sub>	1	2	1							4	0.670	4.7
	RS	3	1								4	0.397	2.5
	Adenov.	3	0	0	1						4	0.550	3.5
	Myc. pn.	5									5	0.300	2.0
2—4													
	Gripe A	16	2								18	0.343	2.2
	» B	17	1								18	0.321	2.1
	PF <sub>1</sub>	11	5	2							18	0.375	2.4
	PF <sub>3</sub>	5	7	3	2	1					18	0.751	5.6
	RS	3	9	5	1						18	0.745	5.6
	Adenov.	2	1	5	5	4	1				18	1.171	14.8
	Myc. pn.	12	1	1	1	0	2				17	0.927	8.5
5—10													
	Gripe A	12	1	1							14	0.377	2.4
	» B	12	2								14	0.355	2.3
	PF <sub>1</sub>	10	3	1							14	0.362	2.3
	PF <sub>3</sub>	4	8	1	0	1					14	0.665	4.6
	RS	5	8	1							14	0.501	3.2
	Adenov.	6	5	2	0	1					14	0.632	4.3
	Myc. pn.	13									13	0.300	2.0

QUADRO 6

Primavera 1981

Idade (anos)	Antig.	TÍTULOS DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO									TOTAIS	log. mG	mG
		< 5	5	10	20	40	80	160	320	640			
0 — 1	Gripe A	8	2	1	1						11	0.434	2.7
	» B	10	0	0							11	0.390	2.5
	PF <sub>1</sub>	10	1								11	0.335	2.2
	PF <sub>3</sub>	4	2	5							11	0.689	4.9
	RS	4	3	3	1						11	0.688	4.9
	Adenov.	4	0	3	2	1	1				11	0.936	8.6
	Myc. pn.	11									11	0.300	2.0
2 — 4													
	Gripe A	23	19	2	6						50	0.596	3.9
	» B	48	2								50	0.315	2.1
	PF <sub>1</sub>	33	13	4							50	0.457	2.9
	PF <sub>3</sub>	4	22	18	3	2	1				50	0.867	7.4
	RS	4	14	18	12	2					50	0.953	9.0
	Adenov.	5	10	12	8	11	3	0	1		50	1.132	13.6
	Myc. pn.	31	3	8	3	1					46	0.368	2.3
5 — 10													
	Gripe A	12	22	13	2	1					50	0.716	5.2
	» B	43	6	1							50	0.360	2.3
	PF <sub>1</sub>	27	22	1							50	0.485	3.1
	PF <sub>3</sub>	2	22	22	1	1	2				50	0.889	7.7
	RS	1	18	20	10	1					50	0.946	8.8
	Adenov.	7	8	14	15	6					50	1.014	10.3
	Myc. pn.	27	6	9	6	2					50	0.652	4.5







## DIAGNÓSTICO RÁPIDO EM VIROLOGIA CLÍNICA \*

Ana Marques \*\*

O diagnóstico exacto duma doença é uma condição essencial para o tratamento do doente.

Quanto mais rapidamente se conhecer a etiologia da doença mais depressa poderá ser estabelecida uma terapia racional.

A atenção de investigadores dirigida para o estudo destes problemas em virologia, levou ao desenvolvimento e aplicação de novas técnicas que permitem actualmente conhecer o agente etiológico apenas em algumas horas.

No entanto, este tipo de diagnóstico, exige que se tenha acesso directo às células infectadas. Isto é realmente possível em muitas infecções causadas por vírus que produzem lesões nos olhos, na pele, nas mucosas do aparelho respiratório, no aparelho genital, de tal maneira que é possível obter secreções, líquidos pustulares, raspados e biópsias sem submeter o doente a grandes riscos e sem lhe causar sofrimento (1).

Assim, e duma maneira resumida, apresentamos os principais objectivos do emprego das técnicas de diagnóstico rápido e que são os seguintes:

1. Possibilidade do laboratório poder dar uma resposta rápida que não exceda as quatro horas após a chegada do produto.

2. Ajudar o clínico a limitar o uso de antibióticos.
3. Ajudar o clínico na selecção da terapia antiviral.
4. Providenciar no sentido de evitar infecções cruzadas em ambiente hospitalar.
5. Ajudar no diagnóstico duma doença pouco frequente.
6. Ajudar no diagnóstico duma infecção viral em que o agente em causa cresça dificilmente em cultura de tecidos.

Depois desta descrição sumária dos objectivos, trataremos das técnicas usadas neste tipo de diagnóstico que assentam em quatro categorias principais (2).

1. Técnicas de Imunofluorescência  
— IF
2. Técnicas Imuno-enzimáticas  
— ELISA
3. Técnicas Radioimunológicas  
— RIA
4. Técnicas de Microscopia Electrónica  
M. E. (\*)

As três primeiras técnicas diferem entre si essencialmente pelo marcador das proteínas.

\* Trabalho apresentado nas III Jornadas de Doenças Infecciosas — Coimbra, Maio de 1980.

\*\* Técnica Superior de Laboratório de 1.ª classe, INSA — Lisboa.

\* Estas técnicas foram abordadas separadamente na mesma mesa-redonda

Para reacções de imunofluorescência usa-se um corante, normalmente o isotiocianato de fluoresceína (FITC), que se liga a uma proteína (antígeno/anticorpo) formando um complexo estável a que nós chamamos o conjugado.

Este conjugado depois de excitado por uma luz azul emite fluorescência que se pode detectar por observação microscópica. Para as reacções do tipo ELISA a proteína que pode ser o antígeno ou anticorpo, encontra-se marcada ou conjugada com um enzima, podendo ser a actividade enzimática medida espectrofotometricamente (3).

Nas reacções do tipo RIA o anticorpo ou antígeno encontra-se marcado com um radioisótopo, sendo a actividade do radionuclídeo medida em contadores  $\lambda$  (4).

Apresentam-se a seguir, no Quadro I, algumas das aplicações das técnicas de imunofluorescência em virologia. O quadro indica-nos os tipos de amostras clínicas (biópsias, secreções, etc.) nos quais se podem pesquisar os diferentes antígenos virais, como sejam (herpes simplex, sarampo, respiratório sincial, etc.).

No entanto esta técnica também se pode aplicar na pesquisa de anticorpos da IgM ou IgG desde que se tenham previamente fixadas e guardadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  as lâminas com os respectivos antígenos.

#### QUADRO I

##### APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS DE IMUNOFLUORESCÊNCIA NA IDENTIFICAÇÃO RÁPIDA DE ALGUNS VÍRUS

AMOSTRA	VÍRUS
Biópsia do cérebro ou tecido post mortem	Herpes simplex Sarampo (P.E.E.S.)
» »	Raiva
» »	Papovavírus
Raspados da córnea	Herpes simplex Adenovírus
» » »	
Raspados de vesículas ou biópsias da pele	Varicela-Zooster Herpes simplex
Secreções nasofaríngeas	Respiratório sincial Parainfluenza 1, 2, 3 Influenza A e B Adeno grupo

No Quadro II apresentaremos algumas das aplicações das técnicas ELISA em virologia.

Esta técnica aplica-se quer na detecção de anticorpos quer antígenos. Usa-se com especial relevância para estudos serológicos e epidemiológicos que envolvem grande número de soros, por se lhe poder associar sistemas de automatização.

#### QUADRO II

##### APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS IMUNO-ENZIMÁTICA (ELISA) NA DETECÇÃO DE ANTICORPOS E PESQUISA DE VÍRUS

PESQUISA DE ANTICORPOS CONTRA OS SEGUINTE VÍRUS	
Rubéola	Influenza
Citomegálicos	Resp. Sincial
Herpes simplex	Adenovírus
Varicela zooster	Sarampo
Epstein-Barr	Papeira
Hepatite A	Rotavírus Arbovírus
PESQUISA DE VÍRUS	
Rotavírus	(em fezes)
R S	(em secreções)

No Quadro III estão algumas das técnicas RIA em virologia.

Este método é tão sensível quanto o método ELISA, visto ambos serem capazes de medir nanogramas de proteína. No entanto é uma técnica mais dispendiosa, quer no que respeita a equipamento, quer no que respeita a reagentes.

#### QUADRO III

##### APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS DE DOSEAMENTO RADIO-IMUNOLÓGICO (RIA)

PESQUISA DE ANTICORPOS CONTRA VÍRUS	
Hepatite A e B	Sarampo
Citomegálicos	Adenovírus
Rubéola	Influenza Papeira
PESQUISA DE ANTIGÉNIOS	
	Herpes simplex Citomegálicos Vaccinia Rotavírus

## CONCLUSÕES

Depois de ter enumerado, no início deste trabalho, algumas das vantagens das técnicas utilizadas no diagnóstico rápido, em virologia, cabe neste momento uma breve referência às vantagens da automatização dos processos laboratoriais e que são:

- 1.º Possibilidade dos laboratórios receberem um maior número de amostras.
- 2.º Libertação dos técnicos de tarefas repetitivas e fastidiosas, como sejam por exemplo as lavagens que ocorrem entre as reacções, encher e despejar com reagentes placas de microtécnica, deixando-os livres para outras tarefas.
- 3.º Maior qualidade e certeza de resultados devido à possibilidade de leitura automática com saída de resultados em registo numérico.
- 4.º De notar que os equipamentos envolvidos nestas técnicas encontram outras áreas de aplicações como sejam, bioquímica, endocrinologia e imunologia.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — GARDNER, P. S., and McQuilin, J. — Rapid virus diagnosis application of immunofluorescence, 1974.
- 2 — ALMEIDA, J.; ATANASIU, P.; GARDNER, P. S.; VOLLER, A. and YOLKEN, R. H. — Manual for rapid laboratory viral diagnosis. WHO offset publication no. 47, 1979.
- 3 — VOLLER, A.; BARTLETT, A. and BIDWELL, D. E. — Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques. *J. of clinical Pathology*, 31, 507-520 (1978).
- 4 — LENNETTE EDWIN, H. and SCHMIDT NATHALIE J. — Diagnostic Procedures for viral, rickettsial and Chlamydial Infections, 5th edition 1979. American Public Health Association.



# DIAGNÓSTICO RÁPIDO POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA \*

*Maria Francisca Avillez \*\**

## 1. INTRODUÇÃO

As pequenas dimensões dos vírus colocam estes agentes para além do limite de resolução do microscópio óptico. Contudo, podem ser visualizados com o auxílio do microscópio electrónico. Este aparelho foi utilizado pela primeira vez em 1948 na identificação de partículas virais e como instrumento de diagnóstico virológico.

Assim, foram Nagler e Rave (18), por um lado, e Van Rooye e Scott (21), por outro, que demonstraram pela primeira vez que havia diferenças na morfologia das partículas virais observadas no líquido vesicular ou nas crostas das lesões da pele de indivíduos sofrendo de varíola ou de varicela.

A caracterização de diferenças estruturais entre Poxvírus e Herpesvírus tornou possível o diagnóstico rápido entre estas duas infecções virais.

Subsequentemente, o microscópio electrónico passou também a ser utilizado sobretudo como instrumento de investigação. Isto veio a contribuir grandemente para o desenvolvimento de determinados métodos, mais tarde utilizados no diagnóstico rápido de doenças virais de etiologia até então desconhecida.

No entanto, só muito recentemente o microscópio electrónico passou a ser utilizado pelos virologistas como um instrumento muito importante no diagnóstico rápido das infecções por vírus.

A identificação dum vírus com base na sua morfologia é independentemente da infecciosidade da partícula viral obtida a partir da amostra clínica. Todavia, quando observados ao microscópio electrónico, grande parte dos vírus só podem ser identificados e classificados a nível de Família ou Género a que pertencem. Assim, ao microscópio electrónico, os Enterovírus não são distinguíveis dos Rinovírus, tal como não é possível separar o vírus do Sarampo dos vírus Parainfluenza. É no entanto com a utilização da imunomicroscopia electrónica que se oferece hoje um meio de diferenciação e identificação específica, e se abrem novas perspectivas de futuro para o diagnóstico virológico e aplicação do microscópio electrónico no diagnóstico rápido das infecções virais.

## 2. EXAME DIRECTO DAS AMOSTRAS CLÍNICAS

Essencialmente, há hoje duas técnicas básicas que são utilizadas por rotina no exame directo das amostras clínicas ao microscópio electrónico: o chamado «negative staining» e o exame por cortes finos.

(\*) Trabalho apresentado nas III Jornadas de Doenças Infecciosas. — Coimbra, Maio de 1980. Mesa-Redonda: Aquisições recentes em Virologia.

(\*\*) Técnica de Laboratório de 1.ª classe.

### 2.1. «Negative staining»

O método mais simples e rápido de observação das partículas virais é designado por «negative staining».

Para o efeito e segundo o método usualmente utilizado no nosso laboratório, uma gota de suspensão do material clínico a examinar é depositada numa grelha de cobre (400 mesh) e depois contrastada com ácido fosfotungstico a 3% (pH 6,0 — 8,0).

Após esta operação, a amostra fica pronta para uma observação imediata ao microscópio electrónico e em condições ideais podem obter-se resultados ao fim de uma hora. Contudo, muitas das amostras contêm grandes quantidades de detritos e pequenas quantidades de vírus. Para poderem ser observados ao microscópio electrónico devem encontrar-se vírus na amostra numa concentração superior a  $10^6$ /ml.

Outra desvantagem do «negative staining» é a possibilidade de se dar uma alteração morfológica das partículas virais durante o processo de fixação. A despeito das dificuldades citadas, a rapidez deste método e os bons resultados que geralmente se obtêm, tornou esta técnica muito frequente e prática para uma primeira aproximação no estudo da etiologia das doenças virais.

### 2.2. Cortes Finos

Embora a grande vantagem do «negative staining» seja a rápida preparação das amostras a fim de serem examinadas ao microscópio electrónico, os cortes de material para estudo são um dos meios mais seguros de diagnóstico, uma vez que neste caso a estrutura dos vírus fica mais bem preservada. A conservação da estrutura dos vírus é especialmente importante nos casos em que existem poucas partículas virais, ou então no estudo de biopsias e material de autópsias. Este método é também muito importante para a determinação das dimensões, morfologia e localização intracelular dos vírus.

Dum modo geral, para a utilização desta técnica são necessários 3 a 4 dias. Isto porque para esta operação é necessário preparar as amostras para «cortes finos».

No entanto esta técnica pode ser abreviada consideravelmente, com algumas modificações, sem destruição da ultra-estrutura, obtendo-se o material pronto a ser observado ao fim de 2 a 3 horas (8).

## 3. OBSERVAÇÃO DE AGENTES VIRAIS PELA TÉCNICA DE «NEGATIVE STAINING»

A observação de vírus em indivíduos sofrendo de um certo número de doenças representou desde sempre um desafio para os virologistas.

Apesar do desenvolvimento e da aplicação das culturas celulares em virologia ter sido extraordinariamente importante para o sucesso do isolamento de certos vírus, um enorme número de agentes continua ainda a ser difícil de cultivar em sistemas «in vitro».

Em muitas ocasiões a existência de vírus só tem sido possível de demonstrar após a observação ao microscópio electrónico do material de estudo.

Exemplos dos vários tipos de material onde é possível encontrar vírus com o auxílio do microscópio electrónico e os vírus assim observados encontram-se discriminados no Quadro 1 (14).

### 3.1. Líquidos de vesículas e crostas

As amostras de líquidos de vesículas provocadas por vírus Herpes ou Pox são um excelente material para exame ao microscópio electrónico, devido à alta concentração de vírus que aí se pode observar.

Como atrás referimos, o exame por microscópio electrónico das lesões da pele foi usado para o diagnóstico de infecções por Poxvírus há cerca de 30 anos. Desde então, um grande número de investigadores tem utilizado o microscópio electrónico como o método mais simples e rápido para o exame dos líquidos de vesículas, quando é necessário fazer a diferenciação entre vírus Herpes e Pox (18,21). Assim, a técnica designada por «negative staining» tornou-se um processo seguro no diagnóstico rápido das infecções virais da pele, especialmente muito importante quando ainda havia surtos de varíola ou de lesões atípicas (Fig. 1).

### 3.2. Identificação de partículas virais no soro de doentes

Embora o sangue não seja um material utilizado com frequência na detecção de vírus por microscopia electrónica, já o soro tem sido utilizado para pesquisa e observação do vírus da Hepatite B (5).

Foi como resultado da observação pelo microscópio electrónico, que se chegou à conclusão que existia no soro de doentes com

QUADRO I

OBSERVAÇÃO DE PARTICULAS VIRAIS em DIFERENTES AMOSTRAS CLÍNICAS  
POR EXAME AO M. E. (14)

Método	Amostra	Diagnóstico clínico	Vírus (grupo)	
«Negative staining»	Líquido vesicular	Varíola	Pox	
		Varicela	Herpes	
		Herpes labial	Herpes	
		Herpes genital	Herpes	
	Soro	Hepatite sérica	Hepatite B	
	Urina	Doença das inclusões citomegálicas	Citomegalovírus	
		Doenças com deficiências imunitárias	Papovavírus	
	Fezes	Gastroenterites Hepatite	Rotavírus e outros Hepatite A	
Cortes finos	Biopsia do cérebro	Leucoencefalopatia multifocal progressiva	Papovavírus	
		Panencefalite esclerosante sub-aguda	Sarampo	
		Encefalite	Herpes	
		Biopsia do fígado	Hepatite	Hepatite B
		Lesão da pele	Verruga Molluscum contagiosum	Papovavírus Pox
	Cultura de leucócitos	Linfoma de Burkitt Mononucleose infecciosa (EB)	Herpes Herpes	

Hepatite sérica, partículas virais com formas várias.

A presença de vírus no soro ou no plasma de indivíduos com outra doença, também chamada de Hepatite, embora não seja causada pelo vírus A ou B, foi demonstrada indiretamente por microscopia electrónica.

Para o efeito foram inoculados chimpanzés com soro ou plasma obtido desses indivíduos. O exame dos fígados desses animais veio a revelar a presença de partículas semelhantes a vírus nos extractos de fígado, embora o vírus não tivesse sido encontrado no soro do animal inoculado.

Esta hepatite é uma forma que se observa frequentemente nos Estados Unidos e é responsável aparentemente por cerca de 90 % de casos da Hepatite que se observa após transfusão de sangue (2, 19).

3.3. Observação de agentes virais na urina

- Os vírus Citomegálicos têm sido frequentemente isolados a partir da urina de crianças com infecções congénitas (22).

Recentemente, Lee et Cool. referiram que partículas de vírus Citomegálicos podem ser

detectados ao microscópio electrónico em cerca de 15-30 minutos, por exame da urina de bebés com infecção congénita, permitindo assim um diagnóstico rápido da infecção.

O isolamento do vírus em cultura celular pode levar vários dias ou semanas e o exame citológico para pesquisa de células com inclusões intracelulares não é um método suficientemente sensível.

Os vírus Citomegálicos têm sido também observados na urina de indivíduos submetidos a uma terapêutica imunossupressiva, (10, 17) e os Papovavírus têm também sido igualmente observados na urina de indivíduos com deficiências imunitárias (13).

#### 3.4. Vírus nas Fezes

Vários tipos de vírus ou partículas semelhantes a vírus têm sido observados em extractos fecais quando vistos ao microscópio electrónico. Incluídos neste grupo estão os Coronavírus, os Adenovírus (Fig. 2), os Rotavírus (Fig. 3), os Enterovírus, os Astrovírus (Fig. 4), o Agente de Norwalk, os Calicivírus, vários bacteriófagos, o vírus da Hepatite A e ainda uma miscelânea de vírus não identificados (Fig. 5) nem classificados (11, 16).

### 4. EXAME DIRECTO EM CORTES FINOS DE AMOSTRAS CLÍNICAS

Numerosos estudos feitos ao microscópio electrónico recorrendo a cortes de tecidos infectados com vírus, tornou possível o diagnóstico de muitas doenças e a identificação de agentes de etiologia até então desconhecida (Fig. 6).

Os cortes são necessários sobretudo para o exame de fragmentos de tecidos de autópsias ou de biópsias. Alguns dos vírus que foram observados pela primeira vez como resultado desta técnica incluem vírus semelhantes aos do sarampo responsáveis pela «Panencefalite esclerosante subaguda» e encontrados no núcleo de células cerebrais (4, 20).

Por outro lado, inicialmente foram observados em fragmentos da mucosa duodenal partículas semelhantes aos Reovírus e responsáveis por gastroenterites agudas. Mais tarde, esses vírus foram designados pelo nome de Rotavírus (3).

Importantes estudos retrospectivos de material de autópsia previamente fixado, têm

também sido feitos com o auxílio do microscópio electrónico.

#### 4.1. Observação de partículas virais em tecidos do cérebro

O reconhecimento dum Papovavírus humano nos tecidos do cérebro, obtidos após a autópsia dum indivíduo atingido por uma doença rara caracterizada por um processo desmielinizante e designado posteriormente por «Leucoencefalopatia multifocal progressiva», foi feito por observação ao microscópio electrónico, vários anos antes do próprio vírus ter sido isolado (24).

Por outro lado a demonstração de nucleocápsides do vírus do Sarampo ao microscópio electrónico, em células do cérebro de indivíduos sofrendo de «Panencefalite esclerosante subaguda» veio mostrar a associação daquele vírus com esta doença.

Recentemente verificou-se que o tratamento da encefalite herpética pode ser feito com algum sucesso usando a adenina — arabinosida (23). Neste caso, o diagnóstico rápido feito pela observação ao microscópio electrónico de cortes de biópsias de tecido cerebral tem a maior importância para a imediata aplicação da quimioterapia citada, pois a adenina arabinosida só é eficaz nas encefalites causadas pelo vírus Herpes.

#### 4.2. Identificação de partículas virais em lesões da pele

O vírus da verruga humana, membro dos Papovavírus, não tem sido cultivado *in vitro* com sucesso, pelo que só pode ser detectado pelo microscópio electrónico após observação em corte fino da amostra apropriada de pele.

Outro vírus Pox, agente causador do *Molluscum contagiosum*, só foi detectado por exame ao microscópio electrónico do material obtido de lesões da pele (14).

#### 4.3. Cultura de leucócitos

A observação do vírus de Epstein — Barr em células derivadas do Linfoma de Burkitt só foi possível depois do exame ao microscópio electrónico de linfoblastos em cultura (9). De igual modo, a presença de um vírus Herpes em cultura de linfócitos de doentes com mononucleose infecciosa só foi possível após observação ao microscópio electrónico.

Embora tenha sido descrita uma relação serológica entre estas duas doenças (6), a presença de um vírus Herpes teria passada despercebida sem o auxílio do exame ao microscópio electrónico.

#### 5. IDENTIFICAÇÃO DE VÍRUS ISOLADOS EM CULTURA DE TECIDOS, OVOS E TECIDOS DE ANIMAIS

Uma das maiores aplicações do microscópio electrónico no diagnóstico virológico, tem sido a identificação de vírus isolados em cultura de tecidos.

Os laboratórios de Virologia continuam a utilizar culturas celulares para isolamento dos vírus, mas uma primeira tentativa de identificação morfológica dos agentes isolados pode ser feita pelo microscópio electrónico.

Certos vírus isolados em cultura de tecidos podem ser rapidamente identificados e classificados em Famílias. Contudo, a identificação correcta só pode ser levada a cabo pelos métodos convencionais que recorrem à serologia e ou à análise bioquímica e estrutural.

Como se pode observar pelo Quadro II alguns vírus isolados em culturas celulares podem ser identificados pelo microscópio electrónico dois dias antes do aparecimento do efeito citopatogénico (1).

#### 6. IDENTIFICAÇÃO DE VÍRUS ENDÓGENOS EM CULTURAS CELULARES E EM TECIDOS DE ANIMAIS

O microscópio electrónico pode ser usado na demonstração da presença de agentes virais endógenos, tanto em culturas celulares como nos tecidos de animais.

Quase todas as espécies animais estudadas no laboratório albergam um ou mais tipos de vírus endógenos. É por isso importante que, não só o virologista reconheça a possibilidade de o vírus isolado ser endógeno e estar relacionado com o sistema que utiliza para os estudos, mas também seja identificada a origem do vírus. Por exemplo, nos tecidos de primatas não humanos, não é rara a infecção de uma só célula com o vírus SV 40 (Papovavírus) e o vírus SV 5 (Paramyxovírus).

Uma vez que não é possível distinguir o efeito citopatogénico dos dois tipos de vírus,

QUADRO II

#### OBSERVAÇÃO PRECOCE DE VÍRUS EM CULTURAS CELULARES POR ECP E M. E (8)

Vírus	Inóculo (DICT 50)	Observação precoce (dias)	
		ECP	M. E.
Adenovírus	10	5	3
	100	4	3
Coxsackie B5	10	2	2
	100	2	1
	1000	2	1
Parainfluenza 3	10	4	3
	100	4	2
	1000	4	2
Sarampo	10	4	3
	100	3	3
	1000	3	2
Herpes simplex	10	3	3
	100	3	3
	1000	2	2

o seu reconhecimento só foi possível inicialmente pela observação ao microscópio electrónico.

Outro aspecto interessante foi a observação de agentes endógenos no soro de vitela (um componente importante dos meios utilizados para a manutenção das culturas celulares), alguns dos quais o microscópio electrónico revelou serem partículas semelhantes a vírus (12).

#### 7. IMUNOMICROSCOPIA ELECTRÓNICA

O método da imunomicroscopia electrónica consiste na observação ao microscópio electrónico de um complexo antigénio-anticorpo.

A imunomicroscopia electrónica tornou-se fundamental no exame e identificação de vírus que, não podendo ser propagados em culturas celulares, se encontram presentes nas amostras a estudar em pequenas quantidades ( $< 10^6$ /ml).

As partículas virais presentes numa amostra, ao serem misturadas com os seus anticor-

pos, formam agregados de partículas. Quando estas se submetem a uma centrifugação para as concentrar, torna-se fácil a sua visualização pelo microscópio electrónico (1).

A imunomicroscopia electrónica tem sido aplicada com grande sucesso no exame de muitos vírus, especialmente quando se trata de concentrar vírus obtidos a partir de amostras de urina.

Por outro lado, aplicando esta técnica a vírus crescendo em culturas celulares, estes podem ser reconhecidos facilmente e quando se trate de agentes recentemente isolados, podem ser identificados num espaço de tempo relativamente curto.

## 8. COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

O uso do microscópio electrónico no diagnóstico viral de amostras clínicas após exame directo, tem a vantagem de ser um método relativamente simples e rápido. No entanto, vários inconvenientes podem ser apontados; entre eles destacam-se principalmente os limites da sua aplicação, isto é, os vírus têm de estar presentes numa concentração superior a  $10^6$ /ml e a amostra suficientemente limpa de detritos. Depois, há o facto de os vírus só poderem ser identificados ao nível da Família ou Género a que pertencem. É de assinalar ainda o preço elevado de um microscópio de alta resolução e a necessidade de ter um técnico altamente especializado para os trabalhos a efectuar.

Apesar disto, o microscópio electrónico tem sido extraordinariamente útil na distinção entre os vírus Herpes e os vírus do grupo Varfola-Vaccina, sobretudo em casos de sus-

peita de Varfola. Por outro lado, o microscópio electrónico tem a vantagem de poder ser utilizado para estudo de amostras de crostas e lesões da pele. O exame deste material seria provavelmente pouco satisfatório numa tentativa de isolamento de vírus ou para observação em imunofluorescência.

O microscópio electrónico tem também sido extraordinariamente útil na observação de vírus das gastroenterites, vírus estes que na sua quase totalidade não são cultiváveis em sistemas «in vitro». Neste campo é sobretudo na identificação dos Rotavírus, vírus com morfologia extremamente característica, que o microscópio electrónico tem sido ultimamente muito utilizado.

No diagnóstico de outras infecções entéricas, o microscópio electrónico parece ter mais limitações, dada a dificuldade em determinar apenas com critérios morfológicos, uma larga gama de partículas semelhantes a vírus presentes nas fezes, e a dificuldade que existe por vezes em distinguir vírus humanos de certos tipos de fagos.

Neste aspecto, a imunomicroscopia electrónica tem dado uma larga contribuição para a identificação de muitos agentes causadores de gastroenterites agudas de origem não bacteriana e ainda na identificação do vírus da Hepatite A. Esta identificação tem sido baseada na demonstração de imunoagregados realizados na presença de soro convalescente.

A finalizar diríamos ainda que, embora o microscópio electrónico continui a desempenhar um papel muito importante na observação de vírus não cultiváveis em sistemas «in vitro» a sua importância como instrumento de investigação científica no campo da Virologia é fundamental.

ALGUNS VÍRUS OBSERVADOS AO MICROSCÓPIO ELECTRÓNICO NO LABORATÓRIO  
DE VIROLOGIA DO INSA

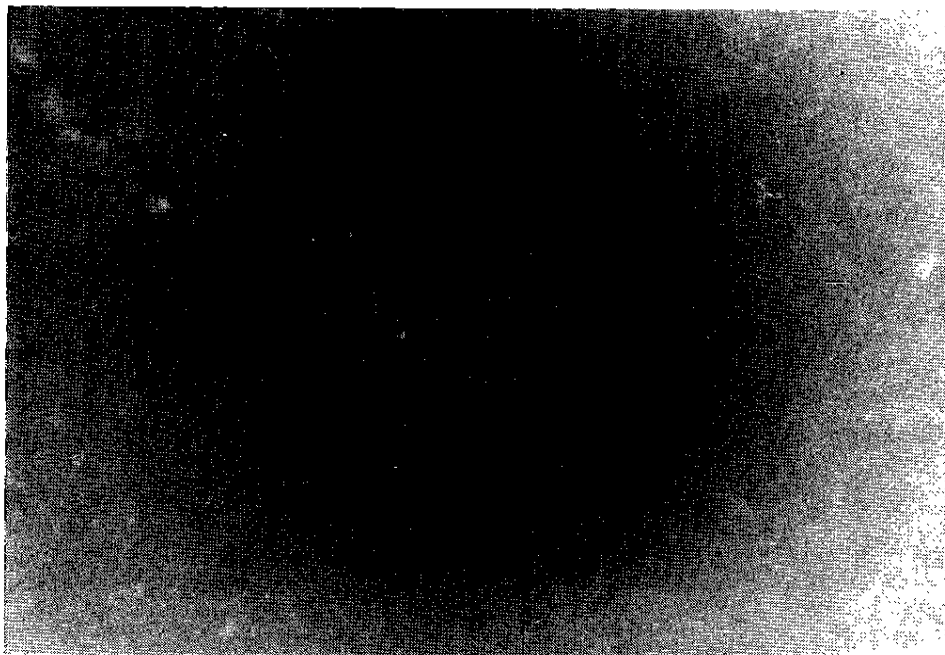


FIG. 1

Virus da vacína obtido do líquido vesicular de um doente com reacção pós-vacinal  
× 114.000

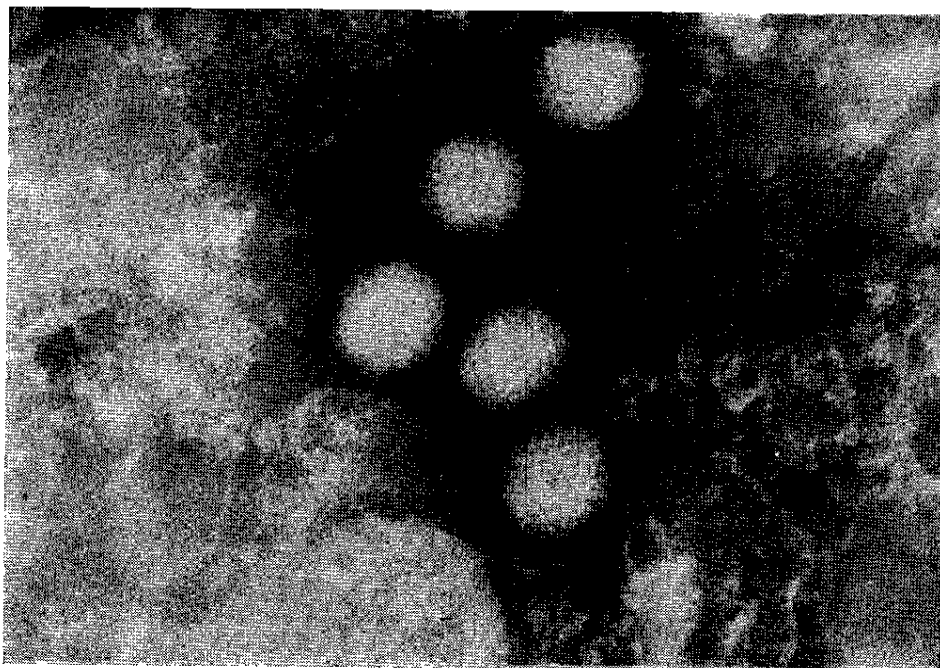


FIG. 2

Grupo de Adenovirus observado nas fezes de uma criança de 6 meses, com diarreia  
× 220.000

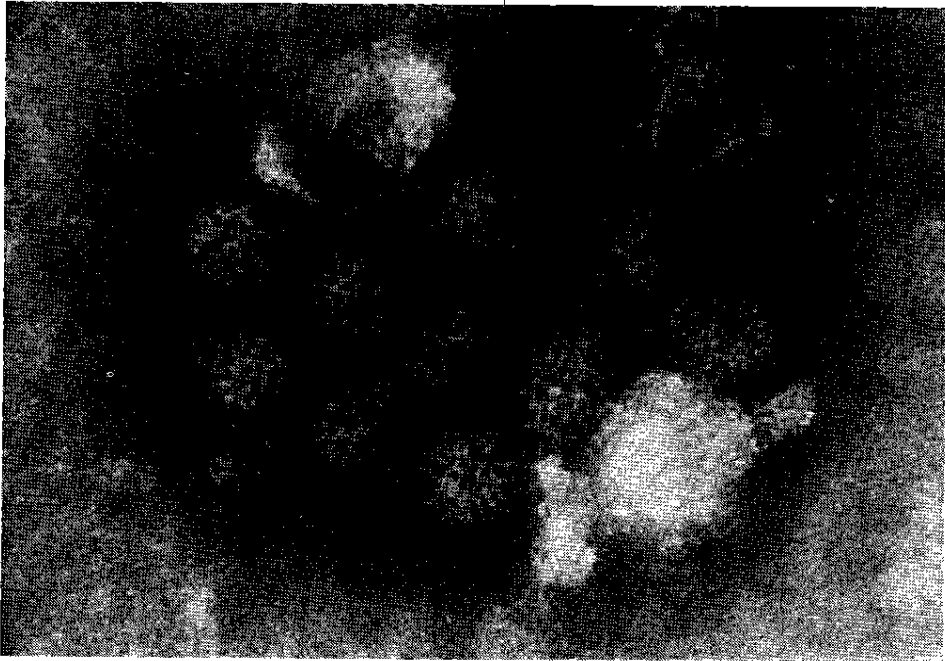


FIG 3  
Grupo de Rotavirus observado nas fezes de uma criança de 3 meses, com diarreia  
× 256.000

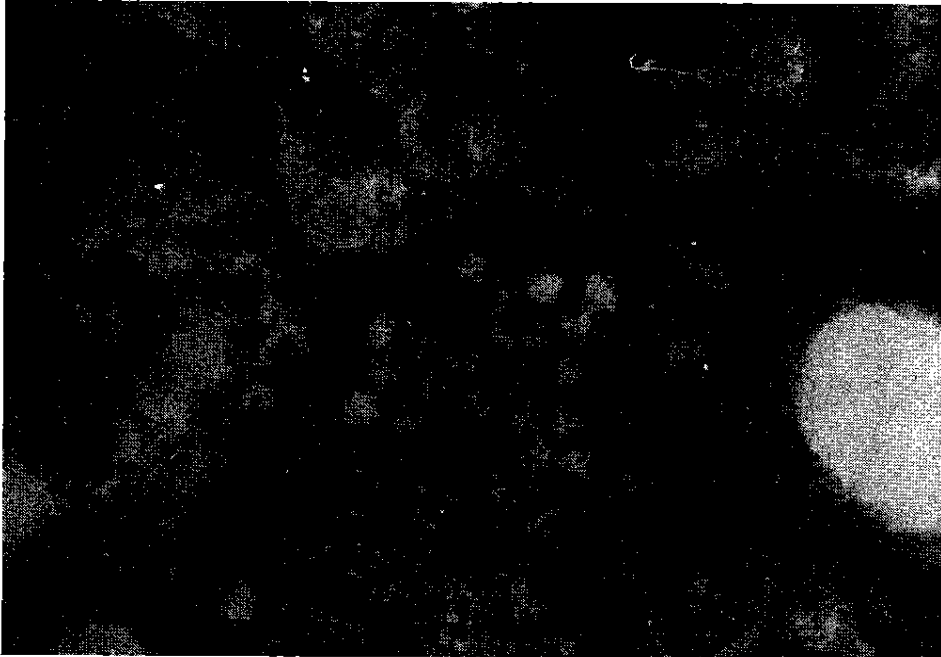


FIG. 4  
Grupo de Astrovirus observado nas fezes de uma criança de 2 meses, com diarreia  
× 160.000

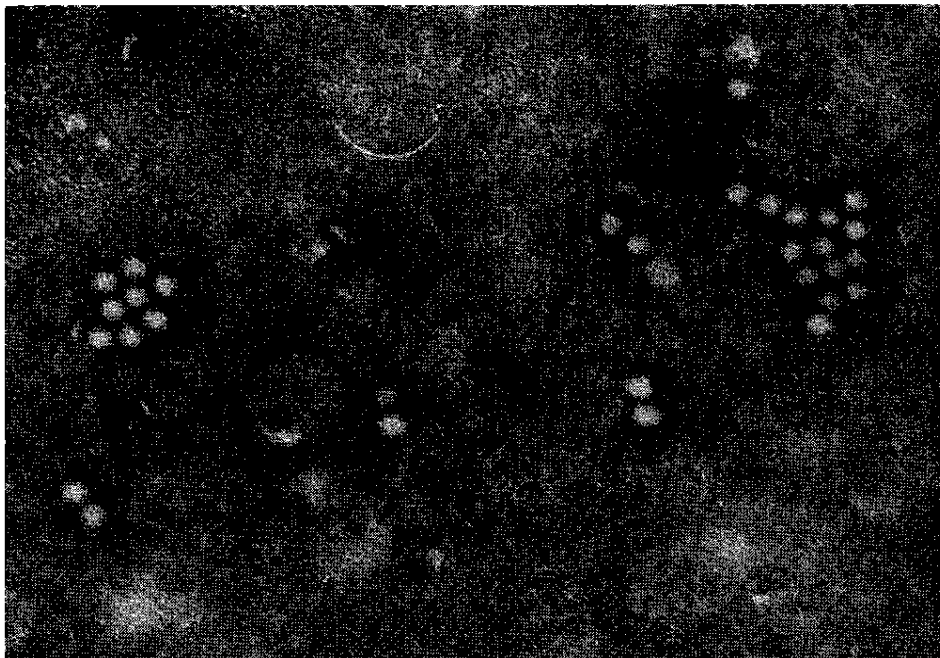


FIG. 5

Partículas semelhantes a vírus observadas nas fezes de um recém-nascido com diarreia  
× 125.000

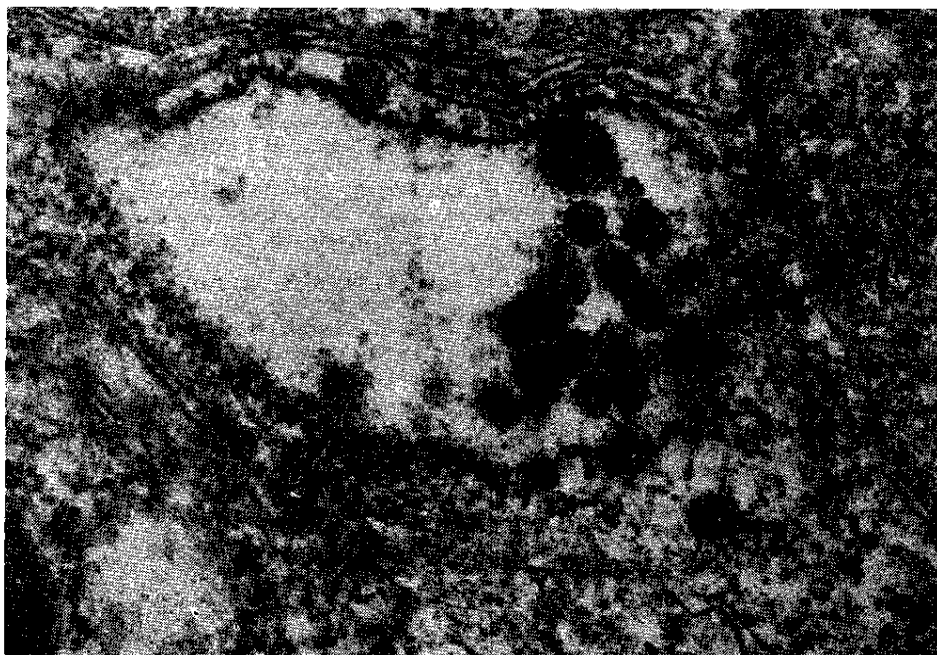


FIG. 6

Célula BHK 21 infectada com vírus DHORI  
× 68.000

## BIBLIOGRAFIA

1. ALMEIDA, J. D. and WATERSON, A. P. — The morphology of virus-antibody interaction. *Adv. Virus Res.* 15: 307-338 (1969).
2. ALTER, H. J.; HOLLAND, P. V.; PURCELL, R. H. and POPPER, H. — Transmissible agents in non-A, non-B hepatitis. *Lancet* i: 459-463 (1978).
3. BISHOP, R. F.; DAVIDSON, G. P.; HOLMES, I. H. and RUCK, B. J. — Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet* 2: 1281-1283 (1973).
4. BOUTEILLE, M.; FONTAINE, C.; VEDRENNE, C. and DELARVE, J. — Sur un cas d'encephalite subaigue à inclusions. Étude anatomo-clinique et ultrastructurale. *Rev. Neurol.* 113: 454-458 (1965).
5. DANE, D. S.; CAMERON, C. H. and BRIGGS, M. — Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen associated hepatitis. *Lancet* i: 695-698 (1970).
6. DIEHL, V.; HENLE, W. and KOHN, G. — Demonstration of a herpes group virus in cultures of peripheral leukocytes from patients with infectious mononucleosis. *J. Virol.* 2: 663-669 (1968).
7. DOANE, F. W. and ANDERSON, N. — Virus isolation system for use in the field. *Can J. Public Health* 63, 83 (1972).
8. DOANE, F. W. and ANDERSON, N. — Electron and immunoelectronmicroscopy procedures for diagnosis of viral infections; in KURSTAK Comparative diagnosis of viral diseases, vol. II, chapt 13, pp. 505-539. (Academic Press, New York 1977).
9. EPSTEIN, M. A.; ACHONG, B. G. and BARR, Y. M. — Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* i: 702-703 (1964).
10. FIALA, M.; PAYNE, J. E.; BERNE, T. V.; MOORE, T. C.; HENLE, W.; MONTGOMERIE, J. Z.; CHATTERJEE, S. N. GUZE, L. B. — Epidemiology of cytomegalovirus infection after transplantation and immunosuppression. *J. infect. Dis* 132: 421-433 (1975).
11. FLEWETT, T. H.; BRYDEN, A. S. and DAVIES, H. — Diagnostic electron microscopy of faeces. I. The viral flora of the faeces as seen by electron microscopy. *J. clin. Path.* 27: 603-608 (1974).
12. FONG, C. K. Y.; GROSS, P. A.; HSIUNG, G. D. and SWACK, N. S. — Use of electron microscopy for detection of viral and other microbial contaminants in bovine sera. *J. clin. Microbiol* 1: 219-224 (1975).
13. GARDNER, S. D.; FIELD, A. M.; COLEMAN, D. V. and HULME, B. — New human papovavirus (B. K.) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet* i: 1253-1257 (1971).
14. HSIUNG, G. D.; FONG, C. K. Y. and AUGUST, M. J. — The use of electron microscopy for diagnosis of virus infections: An overview. *Prog. Med. Virol.*, 25: 133-159 (1979).
15. LEE, F. K.; NAHMIAS, A. J. and STAGNO, S. — Rapid diagnosis of cytomegalovirus infection in infants by electron microscopy. *New Engl. J. Med.* 299: 1266-1270 (1978).
16. MADELEY, C. R. — Viruses in the stools. *J. clin. Path.* 32: 1-10 (1979).
17. MONTPAISIR, S.; BELLONCIK, S.; LEDUC, N. P.; ONJI, P. A.; MARTINEAU, B. and KURSTAK, E. — Electron microscopy in the rapid diagnosis of cytomegalovirus: ultrastructural observation and comparison of methods of diagnosis. *J. infect. Dis.* 125: 533-538 (1972).
18. NAGLER, F. P. O. and RAKE, G. — Use of the electron microscope in diagnosis of variola, vaccinia, and varicella. *J. Bact.* 55: 45-51 (1948).
19. TABOR, E.; DRUCKER, J. A.; HOOFNAGLE, J. H.; APRIL, M.; GERETY, R. J.; SEEFF, L. B.; JACKSON, D. R.; BARKER, L. F. and PINEDA-TAMONDONG, G. — Transmission of non-A, non-B hepatitis from man to chimpanzee. *Lancet* i: 463-465 (1978).
20. TELLEZ-NAGEL, I. and HARTER, D. H. — Subacute sclerosing leukoencephalitis: ultrastructure of intranuclear and intracytoplasmic inclusions *Science* 154, 899-901 (1966).
21. VAN ROOYEN, C. E. and SCOTT, G. D. — Smallpox diagnosis with special reference to electron microscopy. *Can J. publ. Hlth* 39: 467-477 (1948).
22. WELLER, T. H. — The cytomegaloviruses: ubiquitous agents with protean clinical manifestation. *New Engl. J. Med.* 285: 203-204 (1971).
23. WHITLEY, R. J.; SOONG, S. J.; DOLIN, R.; GALASSO, G. J.; CHIEN, L. T. and ALFORD, C. A. — Adenine arabinoside therapy of biopsy-proved herpes simplex encephalitis. *New Engl. J. Med.* 297: 289-294 (1977).
24. ZURHEIN, G. and CHOU, S. M. — Particles resembling papovaviruses in human cerebral demyelinating disease. *Science* 148: 1447-1479 (1965).

# OS LÍPIDEOS SANGUÍNEOS NA DOENÇA CARDÍACA ISQUÉMICA

Alfredo Franco <sup>(1)</sup>

Maria do Carmo Martinho <sup>(2)</sup>

Maria do Carmo Cavalheiro Martins <sup>(3)</sup>

## I — INTRODUÇÃO

Conhecidos os resultados dos lípideos sanguíneos em uma amostra de população portuguesa da região de Lisboa, clinicamente sã, e em que, nos 945 homens e 424 mulheres analisados detectámos uma incidência de hiperlipoproteinémias de, respectivamente, 20,57% e 17,5% (1) propuzemo-nos inquirir, em indivíduos com Doença Cardíaca Isquémica (D.C.I.) desta mesma região, os valores obtidos para idênticos parâmetros bioquímicos em relação com o metabolismo lipídico.

Eram nossos objectivos:

- 1.º — Verificar a incidência, nestes doentes, das hiperlipoproteinémias e comparar os valores de lípideos e lipoproteínas séricos, neles encontrados, com os dos indivíduos clinicamente sãos, previamente determinados.
- 2.º — Avaliar o possível o grau de protecção do colesterol das  $\alpha$ -lipoproteínas (ou H D L, segundo a terminologia internacional).

## II — MATERIAL E MÉTODOS

### II-1 — Amostras

As colheitas de sangue foram efectuadas sempre após jejum de 12 a 14 horas, os soros e plasmas separados por centrifugação

(\*) Director de Serviço de Clínica Médica dos Hospitais Cívicos de Lisboa.

(\*\*) Especialista de Clínica Médica dos Hospitais Cívicos de Lisboa. Responsável pela Consulta de Aterosclerose dos Hospitais Cívicos de Lisboa (Hospital Curry Cabral — Lisboa).

(\*\*\*) Responsável pelo Laboratório de Química Clínica e Hemetologia do Instituto Nacional de Saúde (Lisboa).

imediate, após a recepção das amostras no laboratório e as análises efectuadas em período que não excedia 3 dias.

### 1.1. Amostras da população clinicamente sã

Foram consideradas as do trabalho anteriormente citado (1) que respeitam os grupos etários correspondentes aos dos doentes que agora analisámos (40-80 anos), num total de 444 homens e 289 mulheres.

### 1.2. Amostras dos indivíduos com D.C.I.

Analisámos um grupo de 159 homens e 92 mulheres que eram sobreviventes de enfarte e/ou com isquémia do miocárdio. Estes diagnósticos foram sempre baseados na observação clínica e no electrocardiograma.

### II-2 — As Determinações efectuadas — métodos e variações analíticas

Efectuámos as determinações que indicamos a seguir com os métodos mencionados e os coeficientes de variação por cento a referirem a precisão dos resultados.

Colesterol total — método enzimático, Chod Pap, automatizado em aparelho Greiner Selective Analyser II

C V % = 1.7 e 2.2 (precisão no próprio dia e inter-dias).

Trigliceridos — método totalmente enzimático no ultra-violeta, automatizado em aparelho Greiner Selective Analyser II  
C-V % = 5 e 9 (precisão no próprio e inter-dias).

Colesterol  $\alpha$  e  $\beta$  lipoproteínas — (colesterol das HDL e das LDL + VLDL) — determinação enzimática do colesterol igual-



mente automatizada (após precipitação das  $\beta$  + Pré  $\beta$  lipoproteínas por heparina e ião manganésio).

C V % = 5

Lipoproteínas de baixa densidade ( $\beta$  + Pré  $\beta$ ) — Burstein e Samaille

C V % = 8

Electroforese de lipoproteínas em agarose, segundo Noble

C V % = 5,49 %

### II-3 — Análise estatística

Os resultados de cada uma das determinações efectuadas nos indivíduos com D.C.I. foram analisados estatisticamente para obtenção da média, desvio padrão e coeficiente de variação por sexo, por diferentes grupos etários e para a globalidade destes grupos em cada sexo, comparando-os graficamente com os dos indivíduos sãos.

Também se efectuaram cálculos para definir se as diferenças das médias nos vários parâmetros e grupos entre indivíduos clinicamente sãos e doentes eram ou não estatisticamente significativas, assinalando-se essa significância estatística sempre que ocorria.

### III — RESULTADOS E COMENTÁRIOS

Os resultados constam dos quadros números 1 a 25.

Símbolos referidos:

N — Número de indivíduos

$\bar{X}$  — Média aritmética

$\sigma$  — Desvio padrão

C. V. % — Coeficiente de variação por cento

\* Estatisticamente significativo,  $p < 0,05$ .

\*\* Estatisticamente significativo,  $p < 0,01$ .

III-1 — *Comparação da distribuição da amostra por grupos etários e por sexos nos indivíduos clinicamente sãos e com D.C.I. para os vários parâmetros lipídicos estudados.*

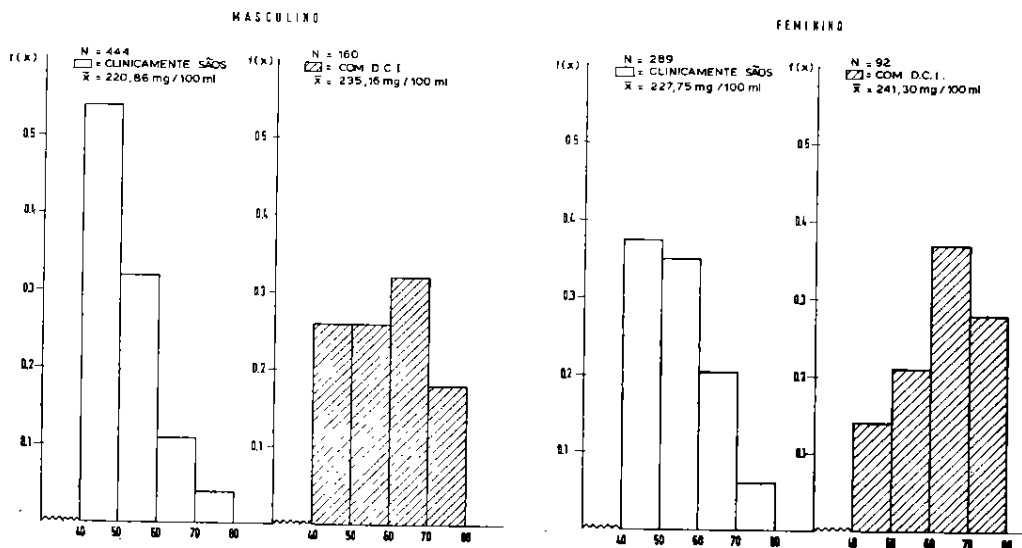
Pelo que se refere à amostra dos D.C.I. o grupo etário mais numeroso é nos dois sexos, o da década de 60 enquanto nos indivíduos clinicamente sãos é o da década de 40 — Quadros N.º 1 a 8.

— Pequenas variações no número de indivíduos analisados por parâmetros bioquímicos estão relacionadas com problemas laboratoriais.

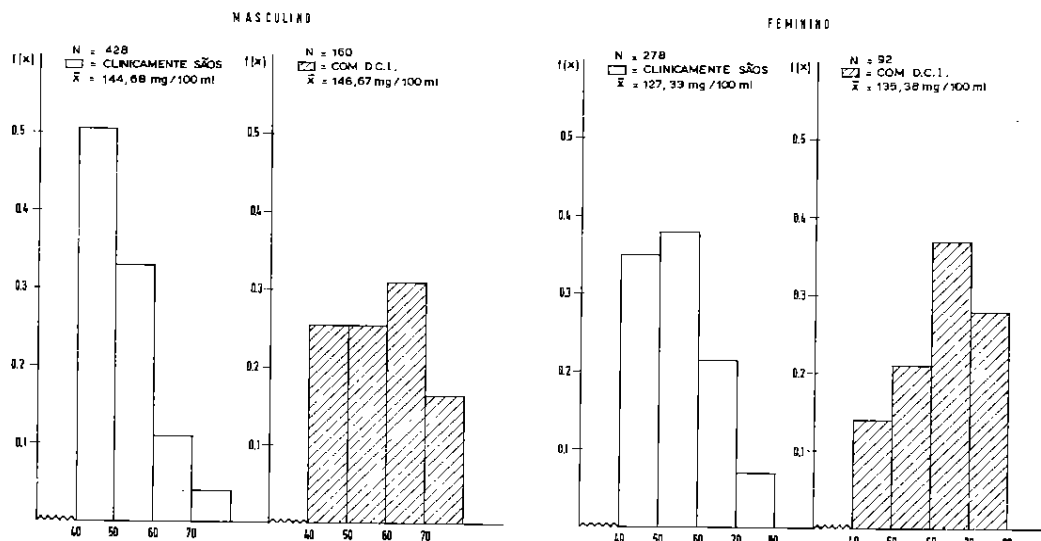
QUADRO N.º 1

#### COLESTEROL

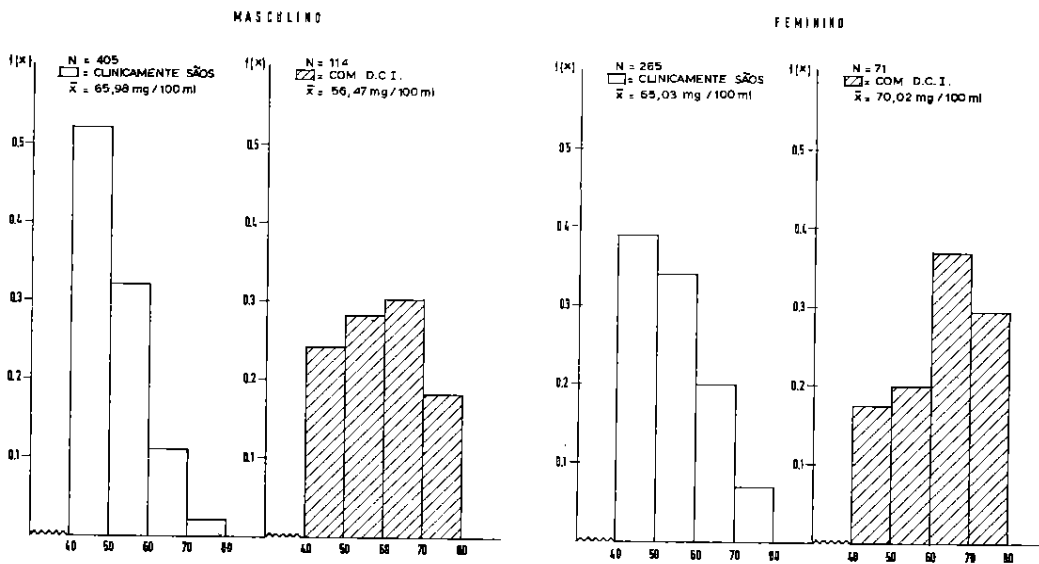
Distribuição Etária e por Sexos



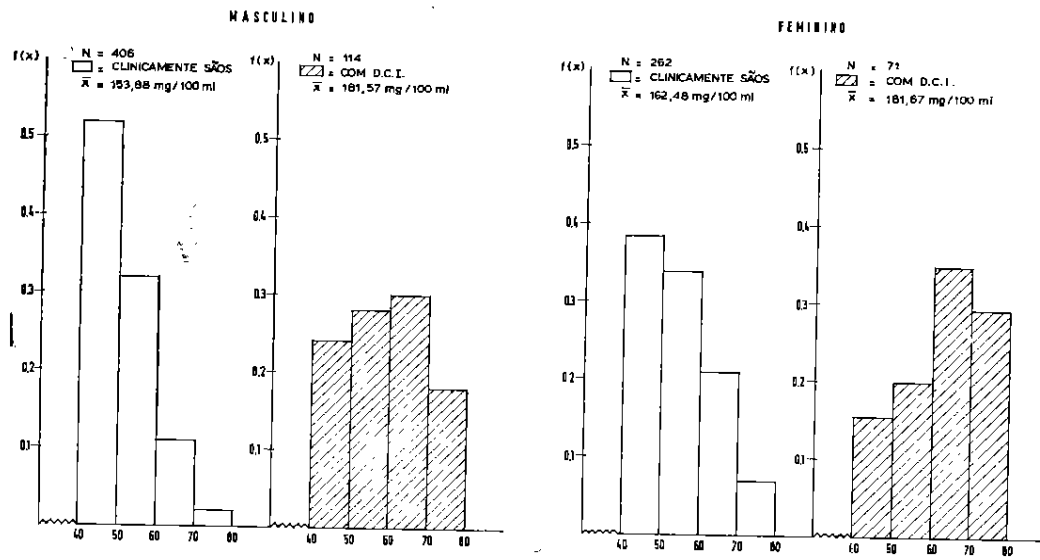
QUADRO Nº 2  
TRIGLICERIDOS  
 Distribuição Etária e por Sexos



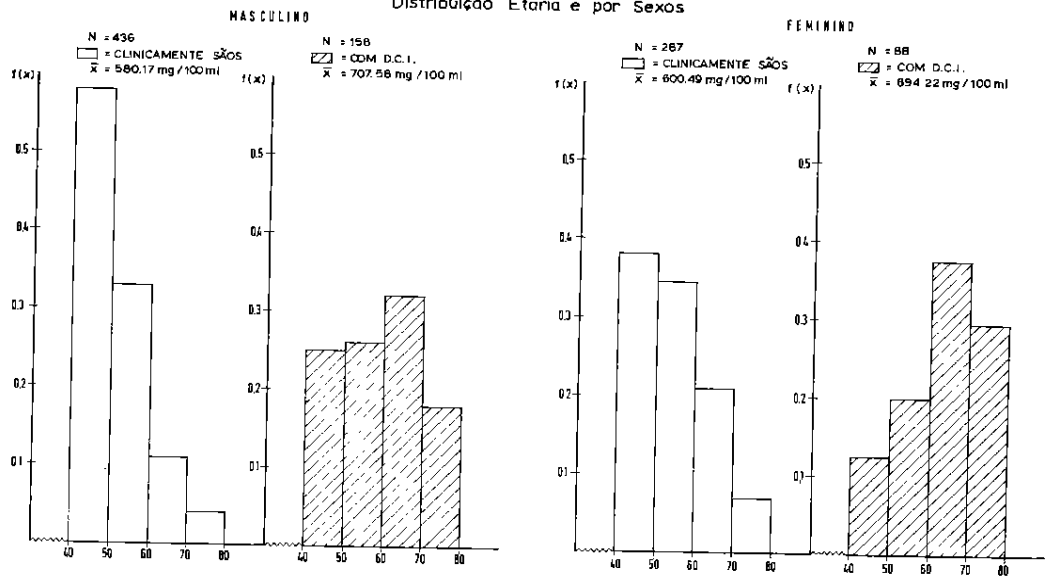
QUADRO Nº 3  
COLESTEROL  $\alpha$ -LIPOPROTEÍNAS  
 Distribuição Etária e por Sexos



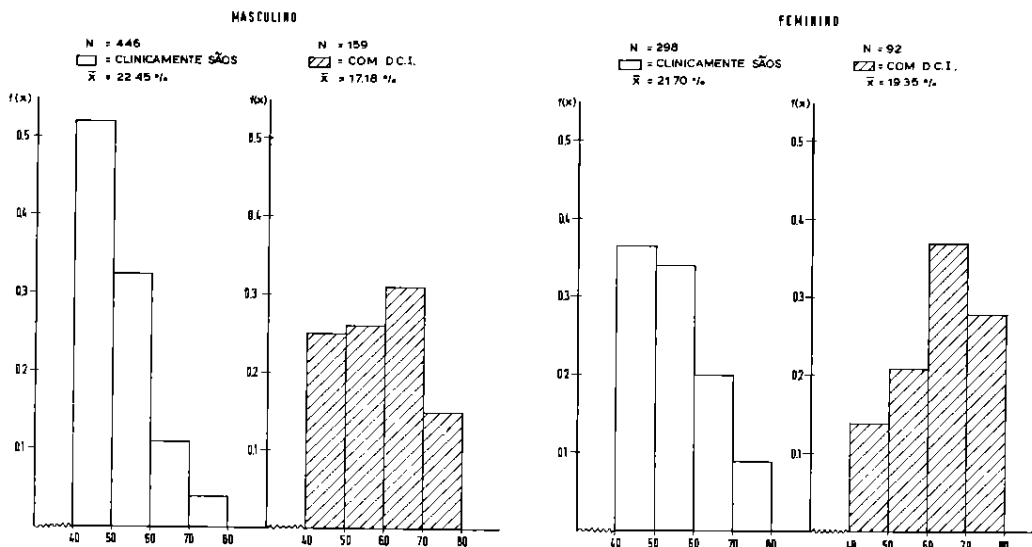
QUADRO Nº4  
COLESTEROL  $\beta$ -LIPOPROTEÍNAS  
 Distribuição Etária e por Sexos



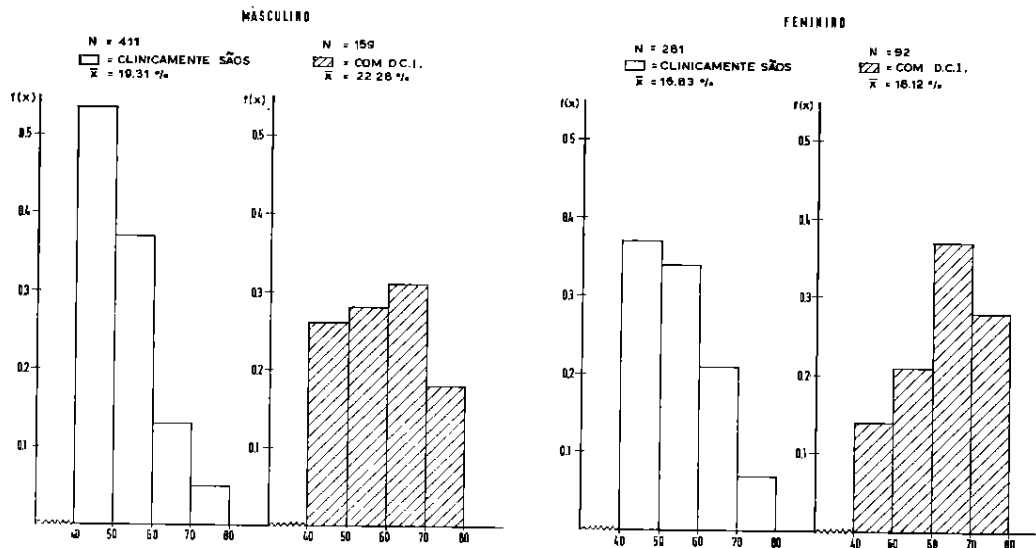
QUADRO Nº5  
 LIPOPROTEÍNAS DE BAIXA DENSIDADE  
 (PRÉ  $\beta$  +  $\beta$ )  
 Distribuição Etária e por Sexos



QUADRO Nº 6  
 $\alpha$ -LIPOPROTEÍNAS  
 (LIPIDOGRAMA)  
 Distribuição Etária e por Sexos



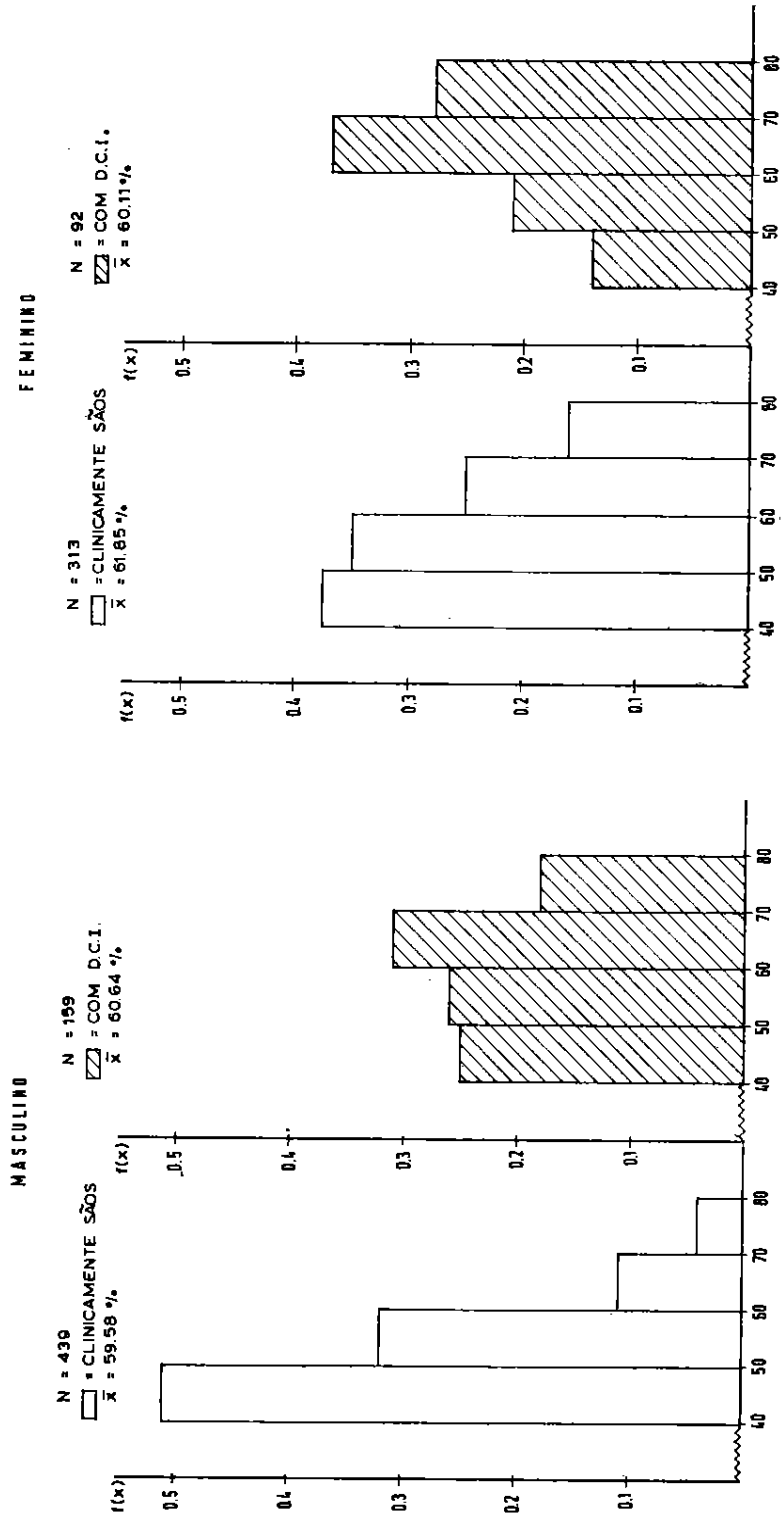
QUADRO Nº 7  
 PRÉ  $\beta$ -LIPOPROTEÍNAS  
 (LIPIDOGRAMA)  
 Distribuição Etária e por Sexos



QUADRO N° 8

$\beta$ -LIPOPROTEÍNAS  
( LIPIDOGRAMA )

Distribuição Etária e por Sexos



III-2 — Colesterol total

A colesterolémia média nos homens doentes apenas é mais elevada, com significação estatística, no grupo etário dos 40, curiosamente a década que antecede aquela em que as estatísticas referem maior incidência de situações agudas de D.C.I.

A colesterolémia no sexo masculino, dos indivíduos com D.C.I. desce depois nos outros grupos etários acompanhando o que sucede

nos indivíduos clinicamente sãos embora lhe seja ligeiramente superior, mas sem significação estatística.

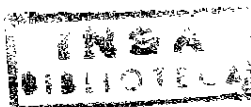
No sexo feminino existe elevação estatisticamente significativa nas décadas de 50 e 60, o que faz subir igualmente de forma significativa, o valor médio global neste sexo. Pode interpretar-se a elevação nestas duas décadas como relacionada com a diminuição de estrogéneos.

QUADRO N.º 9

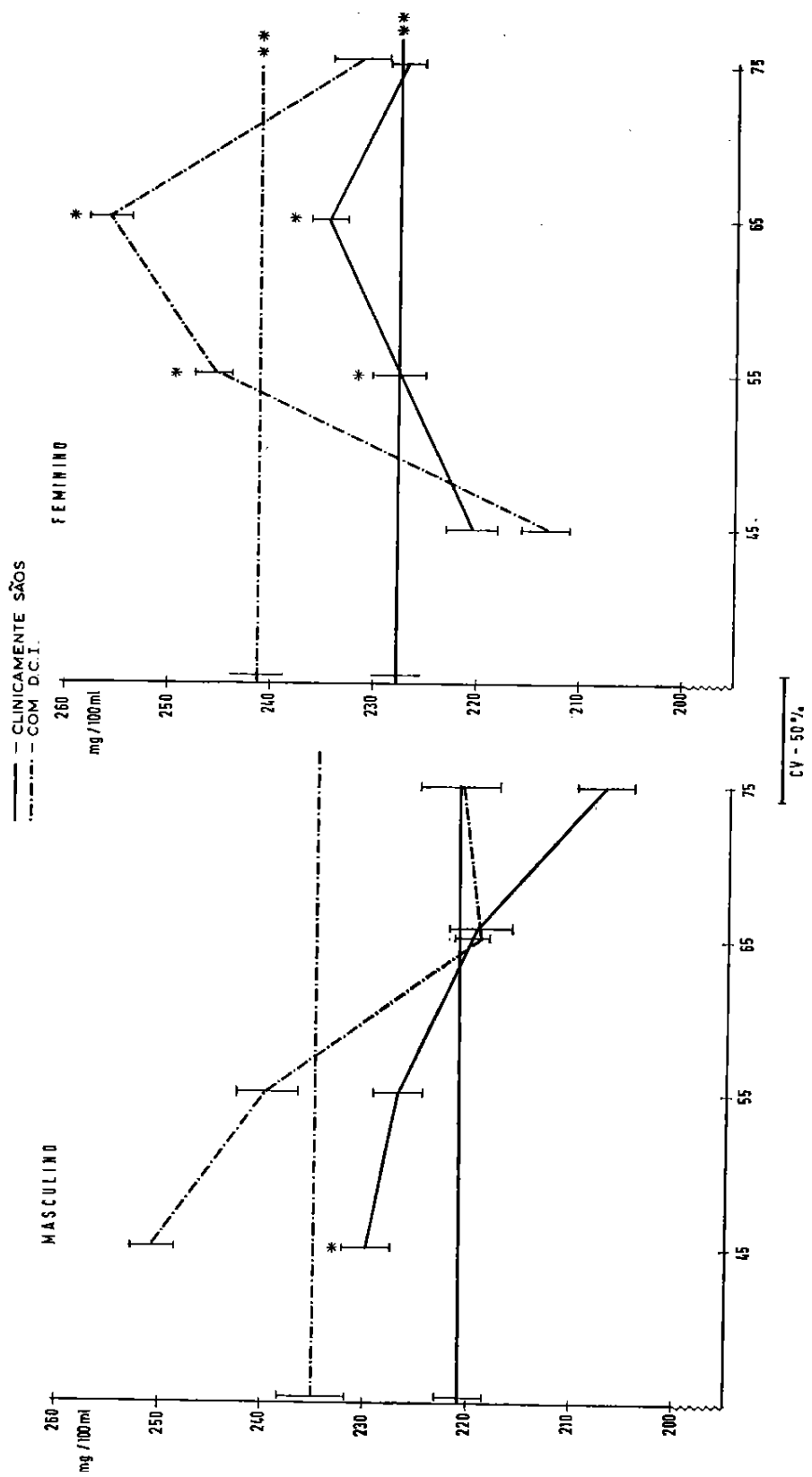
Colesterol Total

SEXO MASCULINO					SEXO FEMININO				
Medidas	N	$\bar{X}$	$d$	C. V.	Medidas	N	$\bar{X}$ (mg/100ml)	$d$	C. V.
Amostras					Amostras				
Global					Global				
S	444	220,86	41,92	18,98	S	289	227,75	42,20	18,53
D	160	235,16	63,22	26,88	D	92	241,30	46,43	19,24
40-49					40-49				
S	233	230,83	42,73	18,5	S	108	220,81	43,45	19,68
D	41	250,61	67,20	26,81	D	13	213,50	48,65	22,78
50-59					50-59				
S	143	227,01	42,61	18,7	S	101	227,91	42,04	18,45
D	41	239,63	60,46	25,23	D	19	246,1	40,77	16,57
60-69					60-69				
S	49	218,95	35,85	16,4	S	60	235,05	41,67	17,7
D	50	229	62,95	27,49	D	34	255,9	42,03	16,42
70-79					70-79				
S	19	206,65	46,48	22,5	S	20	227,25	41,62	18,3
D	28	221,43	62,25	28,11	D	26	232,7	53,15	22,84

Colesterol total — Mapa da análise estatística efectuada por grupos etários, por sexos e para o global de todos os grupos em indivíduos clinicamente sãos (S) e em indivíduos com D. C. I. (D).



QUADRO N.º 10  
COLESTEROL TOTAL



CURVAS REPRESENTATIVAS DAS VARIAÇÕES DAS CONCENTRAÇÕES DO COLESTEROL, POR IDADE E SEXO, EM INDIVÍDUOS CLINICAMENTE SÃOS E COM D.C.I.

III-3 — Triglicéridos

Não há variação estatisticamente significativa nas médias dos diversos grupos etários em ambos os sexos.

No entanto, é curioso notar que, nos homens, as médias são sempre mais elevadas nas décadas dos 40, 50 e 60 para descenderem consideravelmente na década dos 70 relativamente aos indivíduos sãos.

No sexo feminino também há sempre uma elevação das médias nos vários grupos etários, que se mantém na década dos 70, ao contrário do que sucedia no sexo masculino.

Os coeficientes de variação traduzem uma grande dispersão dos valores encontrados tanto nos indivíduos doentes como nos sãos, e explicarão, sem dúvida, a não significação estatística das diferenças encontradas.

QUADRO N.º 11

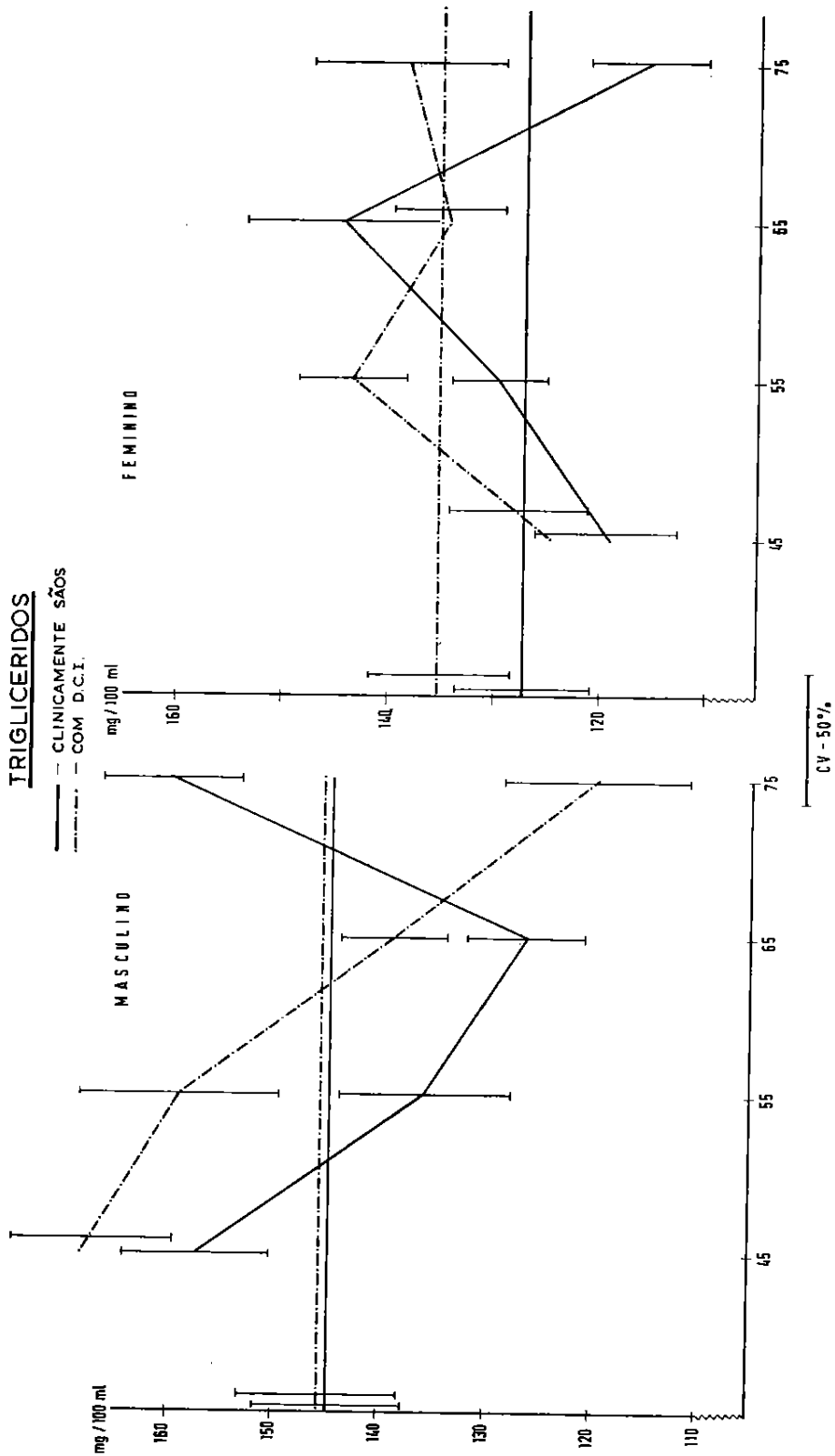
Triglicéridos

SEXO MASCULINO					SEXO FEMININO				
Medidas Amostras	N	$\bar{X}$ (mg/100ml)	$d$	C. V.	Medidas Amostras	N	$\bar{X}$ (mg/100ml)	$d$	C. V.
Global					Global				
S	428	144,68	81,78	56,52	S	278	127,33	65,62	51,53
D	160	146,67	90,09	61,42	D	92	135,38	75,84	56,02
40-49					40-49				
S	216	157,38	102,02	64,82	S	98	119,28	63,04	52,85
D	41	168,90	90,23	53,45	D	13	125,0	67,94	54,35
50-59					50-59				
S	144	135,69	75,19	55,4	S	100	129,95	45,02	36,64
D	41	159,15	120,12	75,48	D	19	143,4	61,15	42,64
60-69					60-69				
S	49	126,40	56,20	44,8	S	60	144,6	104,96	72,5
D	50	139	60,64	43,63	D	34	134,6	55,58	41,29
70-79					70-79				
S	19	160,26	93,71	58,5	S	20	115,5	49,44	42,8
D	28	119,64	85,35	71,34	D	26	138,5	100,53	72,58

Triglicéridos — Mapa da análise estatística efectuada por grupos etários, por sexos e para o global de todos os grupos em indivíduos clinicamente sãos (S) e em indivíduos com D. C. I. (D).

QUADRO N° 12

TRIGLICERIDOS



CURVA REPRESENTATIVA DAS VARIAÇÕES DAS CONCENTRAÇÕES DOS TRIGLICERIDOS, POR IDADE E SEXO, EM INDIVÍDUOS CLINICAMENTE SÃOS E COM D.C.I.

III-4 — *Colesterol  $\alpha$  lipoproteínas (ou colesterol das HDL)*

Nos homens doentes há sempre uma baixa desta fracção lipídica, em todos os grupos etários, mais acentuada na década dos 40, em que é estatisticamente significativa. Esta baixa repercute-se também na média global deste sexo, igualmente com significado estatístico.

Pelo contrário, nas mulheres doentes e sãs, encontra-se apenas sobreposição de valores nas décadas dos 40 e 50 e considerável aumento nas doentes das décadas de 60 e 70 que se repercute na média global deste sexo.

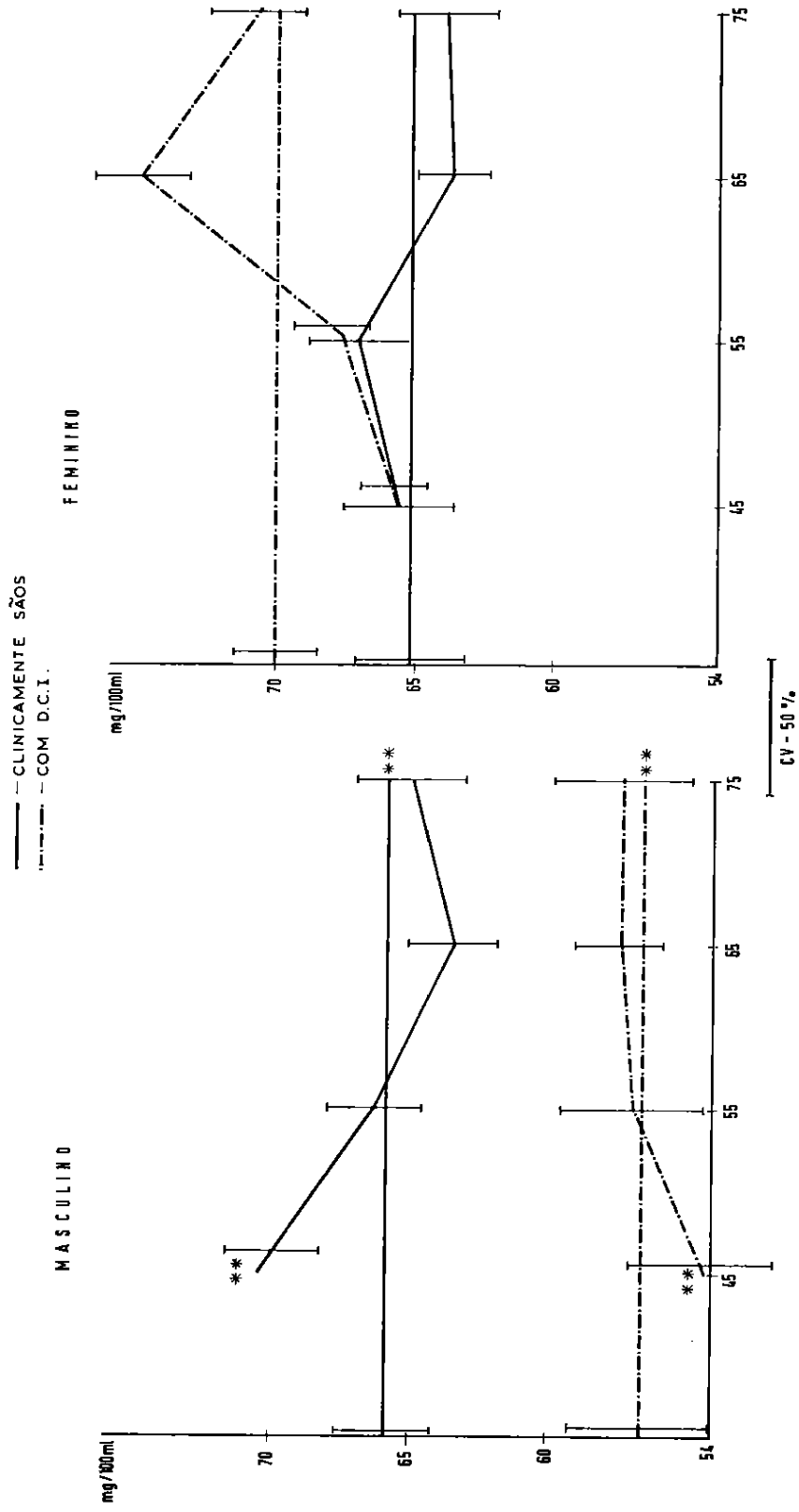
Talvez seja esta a razão pela qual, no sexo feminino, há um maior predomínio de isquémias do miocárdio, sem necrose, ao contrário do que sucede no sexo masculino.

QUADRO N.º 13  
Colesterol  $\alpha$  Lipoproteínas

SEXO MASCULINO					SEXO FEMININO				
Medidas	N	$\bar{X}$ (mg/100 ml)	d	C. V.	Medidas	N	$\bar{X}$ (mg/100 ml)	d	C. V.
Amostras					Amostras				
Global					Global				
S	405	65,98 **	24,83	37,63	S	265	65,03 *	22,71	34,94
D	114	56,47	26,99	47,80	D	71	70,02	21,07	30,09
40-49					40-49				
S	212	70,42 **	27,09	38,47	S	103	65,48	26,99	41,21
D	27	54,35	28,86	53,10	D	11	65,09	16,07	24,39
50-59					50-59				
S	131	65,07	24,19	37,17	S	89	67,02	24,5	36,61
D	32	56,91	31,12	54,69	D	14	67,86	16,85	24,83
60-69					60-69				
S	45	63,44	22,6	35,62	S	54	63,70	16,67	26,16
D	34	57,35	19,25	33,56	D	25	75,5	26,57	35,19
70-79					70-79				
S	17	65	25,43	39,12	S	19	63,94	22,68	35,47
D	21	57,26	28,74	50,20	D	21	70,83	24,80	35,01

Colesterol  $\alpha$  lipoproteínas — mapa da análise estatística efectuada por grupos etários, por sexos e para o global de todos os grupos em indivíduos clinicamente sãos (S) e em indivíduos com D. C. I. (D)

QUADRO N° 14  
COLESTEROL  $\alpha$  LIPOPROTEÍNAS



CURVAS REPRESENTATIVAS DAS VARIAÇÕES DO COLESTEROL  $\alpha$  LIPOPROTEÍNAS POR IDADE E POR SEXO, EM INDIVÍDUOS CLINICAMENTE SÃOS E EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA CARDÍACA ISQUÊMICA.

III-5 — *Colesterol  $\beta$  lipoproteínas (ou colesterol das LDL + VLDL)*

É interessante notar que, no sexo masculino, há elevação desta fracção lipídica em todos os grupos etários dos indivíduos doentes em relação aos clinicamente sãos, particularmente nas décadas dos 40 aos 60 anos, sendo mesmo as diferenças estatisticamente significativas.

No sexo feminino os valores da média são substancialmente mais elevados na década dos 40 mesmo com significação estatística; nos outros grupos etários há uma ligeira elevação a acompanhar as variações dos indivíduos clinicamente sãos.

Estará a elevação, na década dos 40, relacionada com a baixa de estrogéneos iniciada nestas idades?

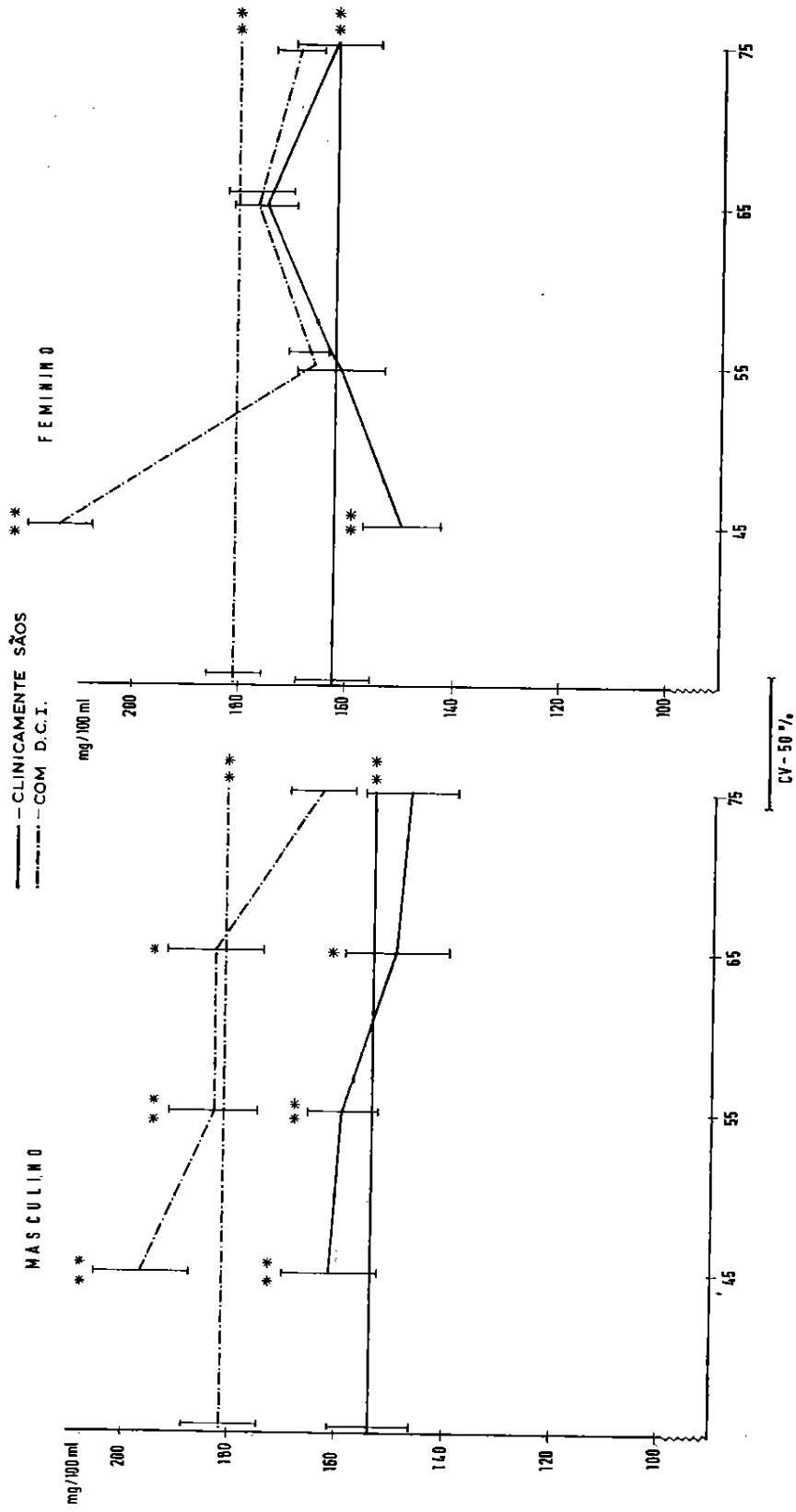
QUADRO N.º 15  
Colesterol  $\beta$  Lipoproteínas

SEXO FEMININO					SEXO MASCULINO				
Medidas	N	$\bar{X}$ (mg/100ml)	$d$	C. V.	Medidas	N	$\bar{X}$ (mg/100ml)	$d$	C. V.
Amostras					Amostras				
Global					Global				
S	406	153,88	48,1	31,26	S	262	162,48	45,66	28,10
D	114	181,57 <sup>**</sup>	53,47	29,45	D	71	181,67 <sup>**</sup>	41,56	22,88
40-49					40-49				
S	213	160,15 <sup>**</sup>	45,16	28,19	S	101	149,25 <sup>**</sup>	44,26	29,65
D	27	197,22	63,72	32,31	D	11	213,5	50,67	23,7
50-59					50-59				
S	131	158,66 <sup>**</sup>	41,83	26,36	S	89	161,17	48,79	30,27
D	32	182,03	42,47	23,33	D	14	166,07	29,67	17,88
60-69					60-69				
S	45	148,77 <sup>**</sup>	57,92	38,93	S	53	176,13	38,69	21,97
D	34	183,09	68,39	37,35	D	25	177,5	44,15	25,07
70-79					70-79				
S	17	147,94	47,5	32,10	S	19	163,36	50,88	31,99
D	21	163,93	39,29	23,96	D	21	169,6	41,74	19,06

Colesterol  $\beta$  lipoproteínas — Mapa da análise estatística efectuada por grupos etários, por sexos e para o global de todos os grupos em indivíduos clinicamente sãos (S) e em indivíduos com D. C. I. (D)

QUADRO N° 16

COLESTEROL  $\beta$  LIPOPROTEÍNAS



CURVA REPRESENTATIVA DAS VARIACÕES DAS CONCENTRAES DO COLESTEROL  $\beta$  LIPOPROTEÍNAS POR IDADE E POR SEXO EM INDIVÍDUOS CLINICAMENTE SÃOS E COM D.C.I.

III-6 — *Lipoproteínas de baixa densidade*  
( $\beta + \text{Pré } \beta$ ) (ou LDL + VLDL)

No sexo masculino há sempre elevação das médias nos indivíduos doentes em relação aos sãos, particularmente na década dos 40 a 50 onde é estatisticamente significativa.

Este aumento é sobretudo considerável nos grupos etários mais baixos. No sexo feminino há também sempre um aumento nos indivíduos

doentes em relação aos clinicamente sãos, embora as variações não sejam tão acentuadas como no sexo masculino e a maior elevação se verifique nos grupos etários mais avançados.

É possível que as variações mais amplas, verificadas nos grupos mais jovens masculinos e nos mais idosos dos femininos estejam relacionadas com a maior incidência da doença nestes mesmos grupos etários nos dois sexos.

QUADRO N.º 17

Lipoproteínas de baixa densidade ( $\beta + \text{Pré } \beta$ )

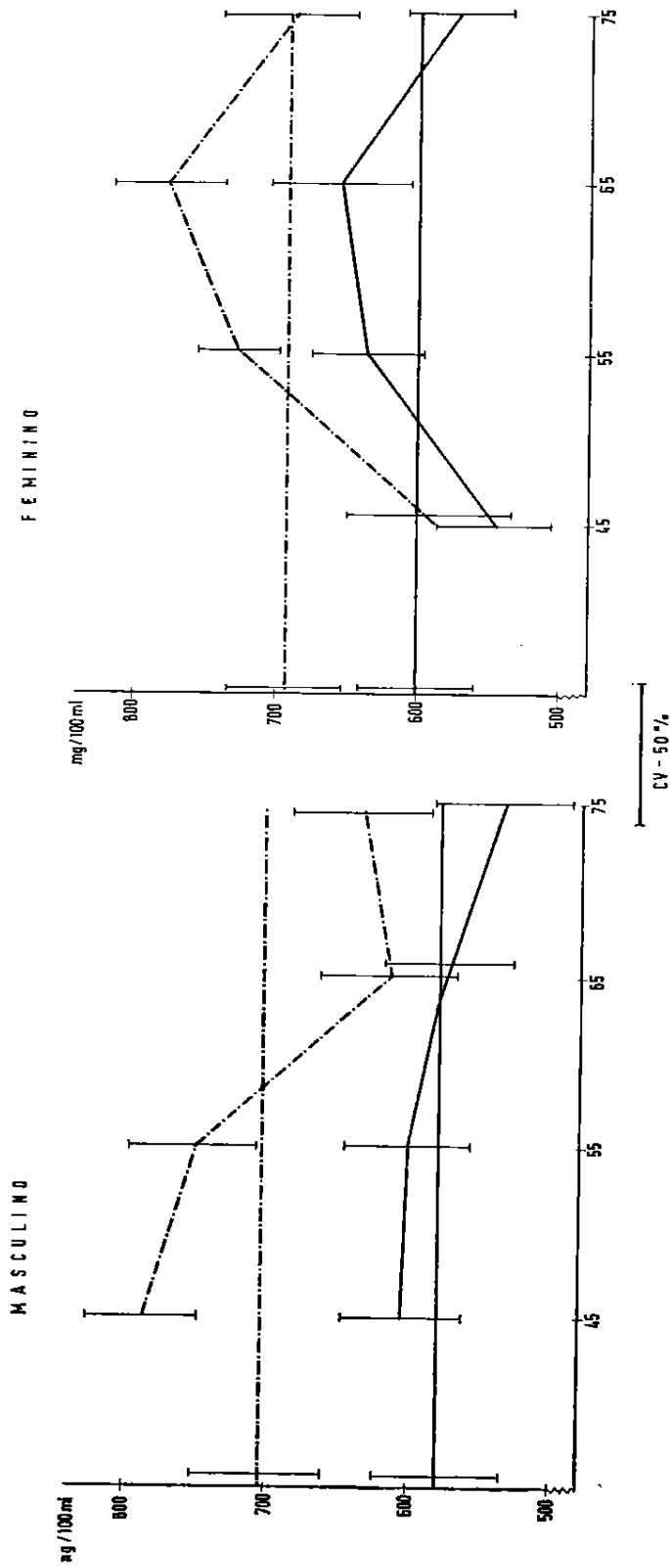
SEXO MASCULINO					SEXO FEMININO				
Medidas Amostras	N	$\bar{X}$ (mg/100ml)	$d$	C. V.	Medidas Amostras	N	$\bar{X}$ (mg/100ml)	$d$	C. V.
Global					Global				
S	436	580,17 **	256,12	44,15	S	287	600,49 **	240,38	40,03
D	158	707,58	316,88	44,78	D	88	694,22	289,07	41,64
40-49					40-49				
S	225	606,13 **	257,09	42	S	109	544,26	211,18	38,8
D	39	787,79	309,03	39,26	D	11	586,36	341,85	58,3
50-59					50-59				
S	143	602,32 **	258,09	43	S	98	636,53	218,61	34,34
D	41	750	341,32	45,51	D	18	727,78	201,53	27,69
60-69					60-69				
S	49	577,24	252,88	44	S	60	655,66	324,1	49,43
D	50	636	305,73	48,07	D	33	774,24	301,55	38,95
70-79					70-79				
S	19	534,99	256,43	48	S	20	565,5	207,61	36,71
D	28	657,14	311,42	47,39	D	26	688,5	311,33	45,22

Lipoproteínas de baixa densidade ( $\beta + \text{Pré } \beta$ ) — Mapa da análise estatística por grupos etários, por sexos e para o global de todos os grupos em indivíduos clinicamente sãos (S) e em indivíduos com D. C. I. (D).

QUADRO N° 18

LIPOPROTEÍNAS DE BAIXA DENSIDADE  
( $\beta$  + PRÉ  $\beta$ )

— CLINICAMENTE SÃOS  
- - - COM D. C. I.



CURVA REPRESENTATIVA DAS VARIAÇÕES DOS LIPOPROTEÍNAS DE BAIXA DENSIDADE ( $\beta$  + PRÉ  $\beta$ ) POR IDADE E POR SEXO EM INDIVÍDUOS CLINICAMENTE SÃOS E COM D.C.I.

III-7 —  $\alpha$  Lipoproteínas (ou HDL) no Lipidograma

Para o sexo masculino é notória a baixa deste parâmetro nos indivíduos doentes, relativamente aos sãos, baixa que é mesmo estatisticamente significativa nas décadas dos 40 aos 70, a afectar as médias globais dos dois grupos. Curiosamente, e sem que para tal tenhamos explicação, nos indivíduos clínica-

mente são verifica-se uma baixa das  $\alpha$  lipoproteínas (ou HDL) com a idade, enquanto nos doentes se nota uma subida.

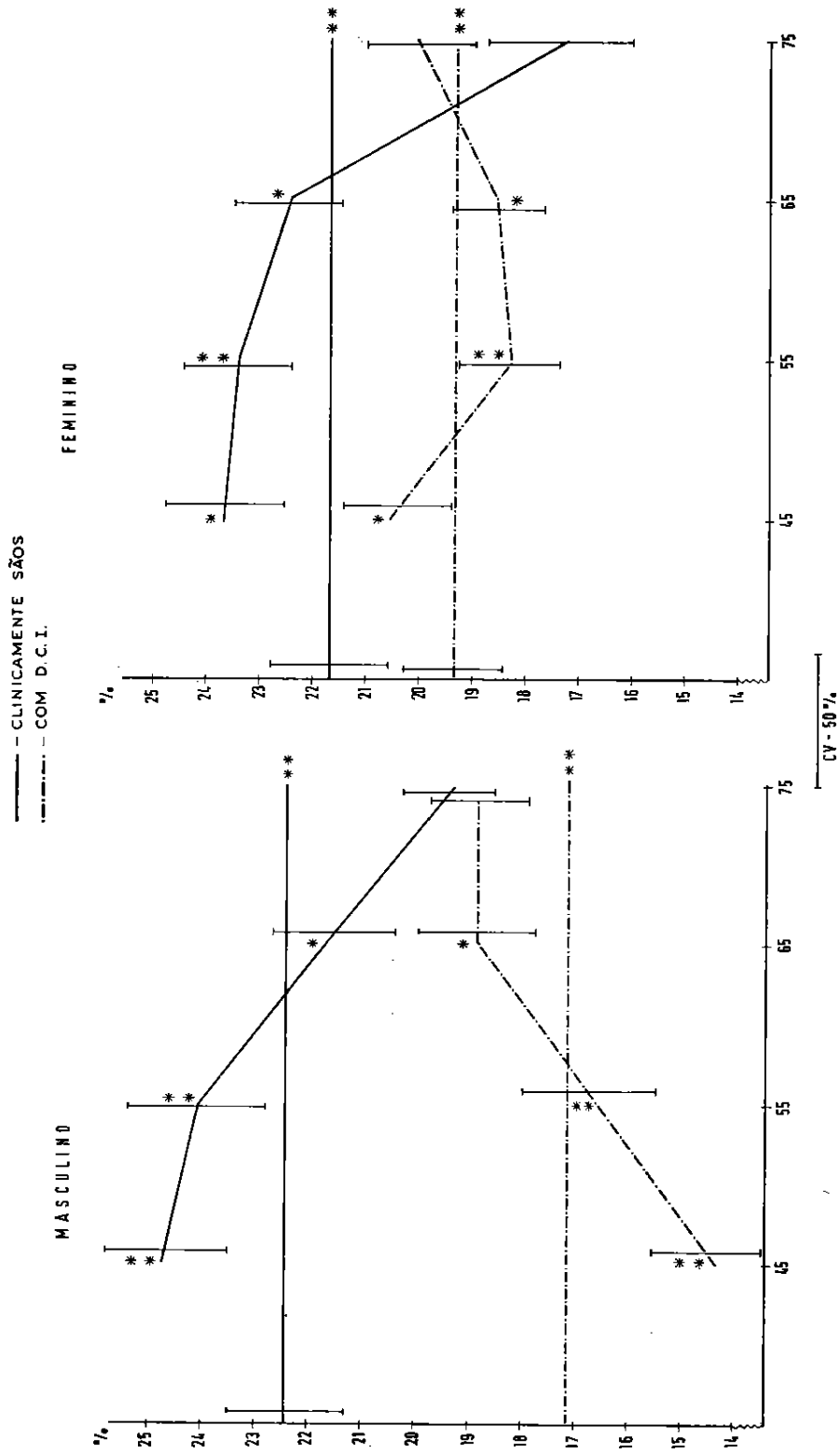
No sexo feminino igualmente as HDL estão mais baixas nos indivíduos doentes relativamente aos sãos até à década dos 70, com significação estatística, para só acima dos 70 anos os doentes possuírem  $\alpha$  lipoproteínas ligeiramente mais altas que os sãos.

QUADRO N.º 19  
 $\alpha$  Lipoproteínas (Lipidograma)

SEXO MASCULINO					SEXO FEMININO				
Medidas	N	$\bar{X}$ (%)	$\sigma$	C. V.	Medidas	N	$\bar{X}$ (%)	$\sigma$	C. V.
Amostras					Amostras				
Global					Global				
S	446	22,45**	9,85	43,86	S	298	21,7**	9,57	44,1
D	159	17,18	7,16	41,68	D	92	19,35	7,43	38,4
40-49					40-49				
S	233	24,73**	12,10	48,92	S	109	23,64.	10,15	42,93
D	40	14,38	6,17	42,92	D	13	20,58	8,88	43,15
50-59					50-59				
S	145	24,06**	11,11	46,17	S	102	23,35.	9,77	41,84
D	41	16,52	8,12	49,15	D	19	18,29	6,93	37,88
60-69					60-69				
S	49	21,77	9,49	43,59	S	60	22,43**	9,0	40,12
D	50	18,9	7,67	40,72	D	34	18,53	6,03	32,54
70-79					70-79				
S	19	19,24	6,69	34,77	S	27	17,37	9,37	53,94
D	28	18,93	6,65	35,11	D	26	20	7,88	39,38

$\alpha$  Lipoproteínas (Lipidograma) — Mapa da análise estatística efectuada por grupos etários, por sexos e por o global de todos os grupos em indivíduos clinicamente sãos (S) e em indivíduos com D. C. I. (D)

QUADRO N° 20  
α LIPOPROTEÍNAS ( LIPIDOGRAMA )



CURVA REPRESENTATIVA DAS VARIACOES DA PERCENTAGEM DE α LIPOPROTEÍNAS NO LIPIDOGRAMA POR IDADES E SEXO EM INDIVÍDUOS CLINICAMENTE SÃOS E COM D.C.I.

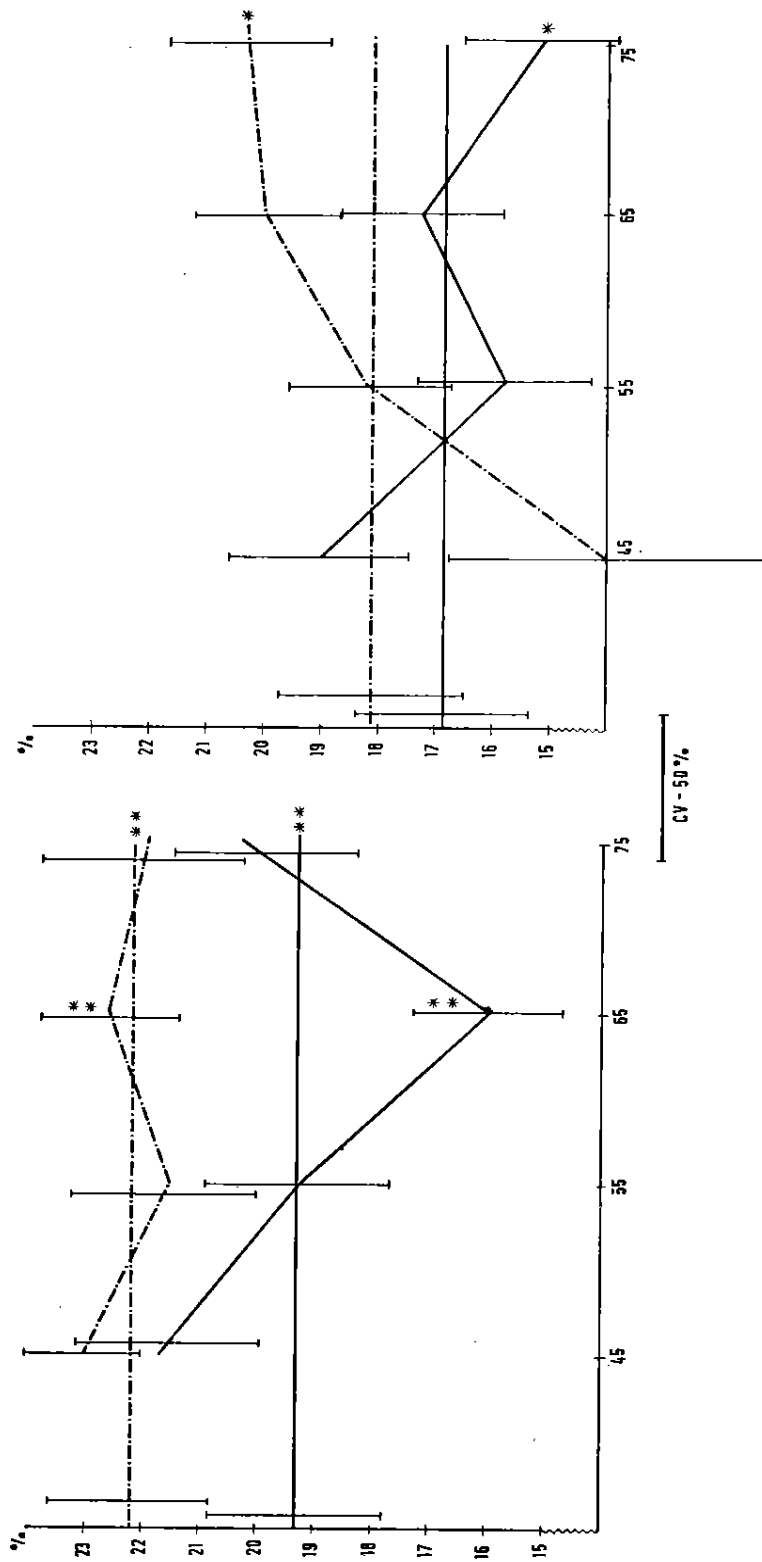
QUADRO N° 22

PRÉ  $\beta$  LIPOPROTEÍNAS ( LIPODIAGRAMA )

— CLINICAMENTE SÃOS  
 - - - - - COM D.C.I.

MASCULINO

FEMININO



CURVA REPRESENTATIVA DAS VARIAÇÕES DA PERCENTAGEM DE PRÉ  $\beta$  LIPOPROTEÍNAS NO LIPODIAGRAMA, POR IDADE E SEXO, EM INDIVÍDUOS CLINICAMENTE SÃOS E COM D.C.I.

III-8 — Pré  $\beta$  lipoproteínas (ou VLDL) no lipidograma

Tal como para os trigliceridos existe ligeira subida desta fracção, que os veícula, nos indivíduos doentes relativamente aos sãos e nos dois sexos, com a única excepção do

grupo etário mais jovem, nas mulheres doentes, em que um pouco incompreensivelmente é mais baixo nos doentes que nos sãos, com significação estatística. As diferenças encontradas só são estatisticamente significativas no sexo masculino no grupo dos 60-69 anos e nas médias globais do sexo.

QUADRO N.º 21  
Pré  $\beta$  Lipoproteínas (Lipidograma)

SEXO MASCULINO					SEXO FEMININO				
Medidas Amostras	N	$\bar{X}$ (%)	$\delta$	C. V.	Medidas Amostras	N	$\bar{X}$ (%)	$\delta$	C. V.
Global					Global				
S	411	19,3	11,93	61,76	S	281	16,83	10,03	59,59
D	159	22,28	12,24	54,95	D	92	18,12	11,67	64,40
40-49					40-49				
S	208	21,71	13,71	63,15	S	105	19,0	12,1	63,68
D	40	23	9,25	40,24	D	13	13,8	16,26	11,74
50-59					50-59				
S	136	19,22	12,75	64,26	S	96	15,85	9,71	61,26
D	41	21,56	13,85	64,42	D	19	18,29	10,29	56,26
60-69					60-69				
S	48	15,95	8,21	51,47	S	60	17,3	10,11	58,43
S	50	22,6	10,33	45,69	D	34	20	8,68	50,17
70-79					70-79				
S	19	20,34	13,03	64,06	S	20	15,15	8,18	53,99
D	28	21,96	15,54	70,73	D	26	20,38	11,45	56,18

Pré  $\beta$  Lipoproteínas (Lipidograma) — Mapa da análise estatística efectuada por grupos etários, por sexos e para o global de todos os grupos, em indivíduos clinicamente sãos (S) e em indivíduos com D. C. I. (D)

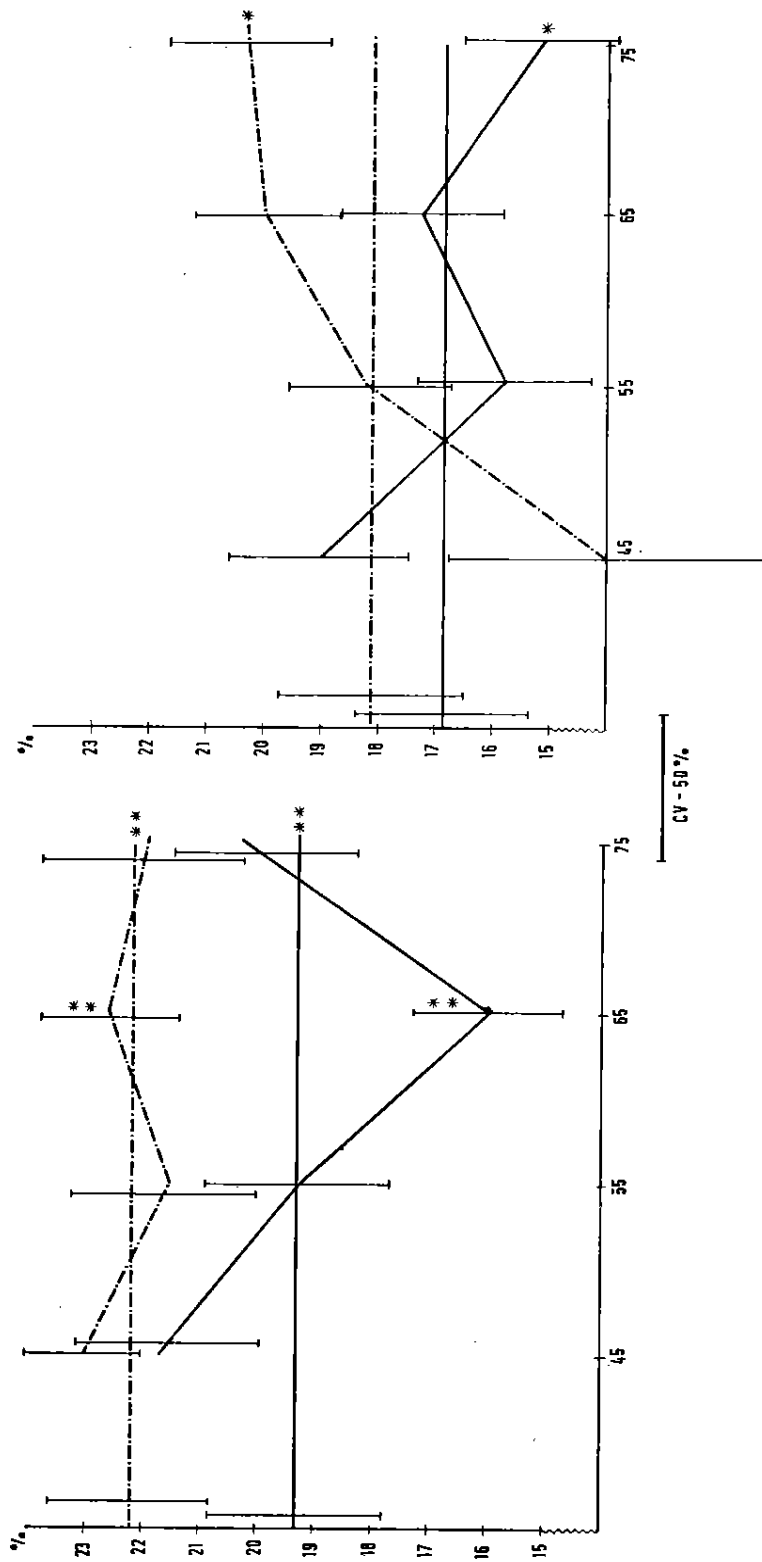
QUADRO N° 22

PRÉ  $\beta$  LIPOPROTEÍNAS ( LIPODIAGRAMA )

— CLINICAMENTE SÃOS  
 - - - COM D.C.I.

MASCULINO

FEMININO



CURVA REPRESENTATIVA DAS VARIAÇÕES DA PERCENTAGEM DE PRÉ  $\beta$  LIPOPROTEÍNAS NO LIPODIAGRAMA, POR IDADE E SEXO, EM INDIVÍDUOS CLINICAMENTE SÃOS E COM D.C.I.

III-9 —  $\beta$  lipoproteínas (ou LDL) no lipidograma

No sexo masculino existe uma ligeira subida das  $\beta$  lipoproteínas (ou LDL) nos indivíduos doentes relativamente aos sãos, com a única excepção do que sucede na década de 60 em que há uma inversão: enquanto nos indivíduos sãos se verifica uma subida, nos

doentes a média baixa ligeiramente tendo todas as diferenças encontradas significação estatística, salvo na última década, em que os valores praticamente se sobrepõem.

No sexo feminino tudo se passa ao contrário: os doentes apresentam valores mais baixos que os sãos, acentuando-se essa baixa na década dos 70.

QUADRO N.º 23  
 $\beta$  Lipoproteínas (Lípidograma)

SEXO MASCULINO					SEXO FEMININO				
Medidas	N	$\bar{X}$ (%)	$d$	C. V.	Medidas	N	$\bar{X}$ (%)	$d$	C. V.
Amostras					Amostras				
Global					Global				
S	439	59,58	11,72	19,66	S	313	61,85	10,32	16,69
D	159	60,64	8,96	14,78	D	92	60,11	13,34	22,2
40-49					40-49				
S	229	55,65	12,46	22,38	S	103	59,16	10,72	18,12
D	40	62,38 <sup>**</sup>	10,28	16,49	D	13	59,8	9,95	16,64
50-59					50-59				
S	142	58,3	12,48	21,41	S	101	61,73	10,35	16,76
D	41	60,55 <sup>*</sup>	4,91	8,11	D	19	58,73	24,73	42,11
69-70					69-70				
S	49	63,57	10,1	15,88	S	59	63,3	9,41	14,87
D	50	59,1	9,17	15,62	D	34	62,3	8,97	14,39
70-79					70-79				
S	19	60,78	11,83	19,46	S	45	63,22	10,8	17,8
D	28	60,54	11,49	18,99	D	26	59,62	9,72	16,3

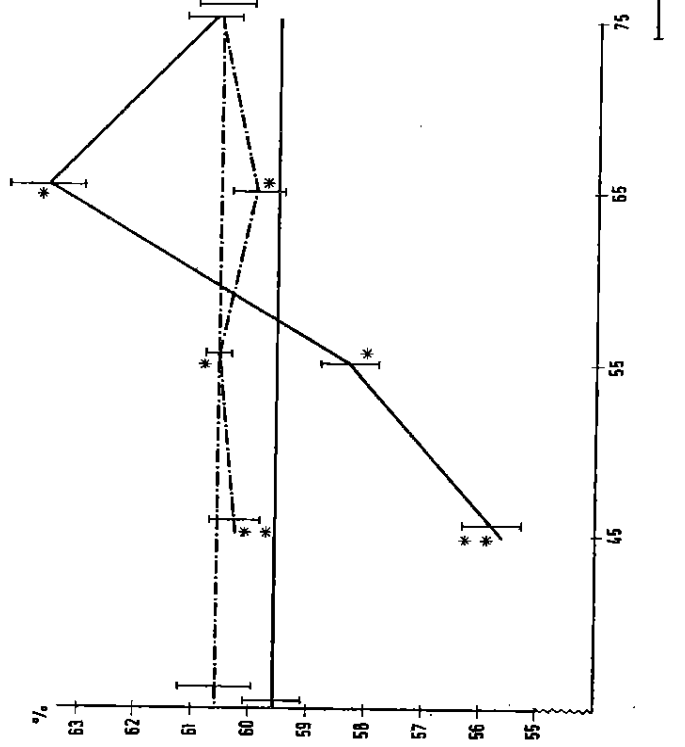
$\beta$  Lipoproteínas (lipidograma) — Mapa da análise estatística efectuada por grupos etários, por sexos e para o global de todos os grupos, em indivíduos clinicamente sãos (S) e em indivíduos com D. C. I. (D)

QUADRO N° 24

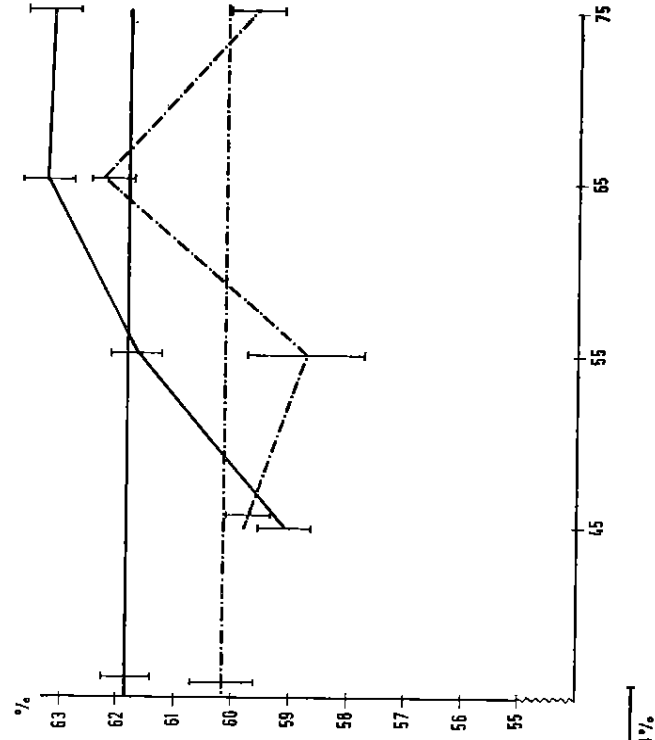
β-LIPOPROTEÍNAS (LIPIDOGRAMA)

— CLINICAMENTE SÃOS  
 - - - COM D.C.I.

MASCULINO



FEMININO



CURVAS REPRESENTATIVAS DAS VARIAÇÕES DA PERCENTAGEM DE β LIPOPROTEÍNAS NO LIPIDOGRAMA, POR IDADE E SEXO, EM INDIVÍDUOS CLINICAMENTE SÃOS E COM D.C.I.

### III-10 — Relação Colesterol total/Colesterol-HDL

Como na bibliografia mais recente se dá bastante importância à relação Colesterol total/Colesterol-HDL tendo como base que as HDL (e especificamente o Colesterol-HDL) têm acção anti-aterogénica, fizemos também o cálculo desta relação.

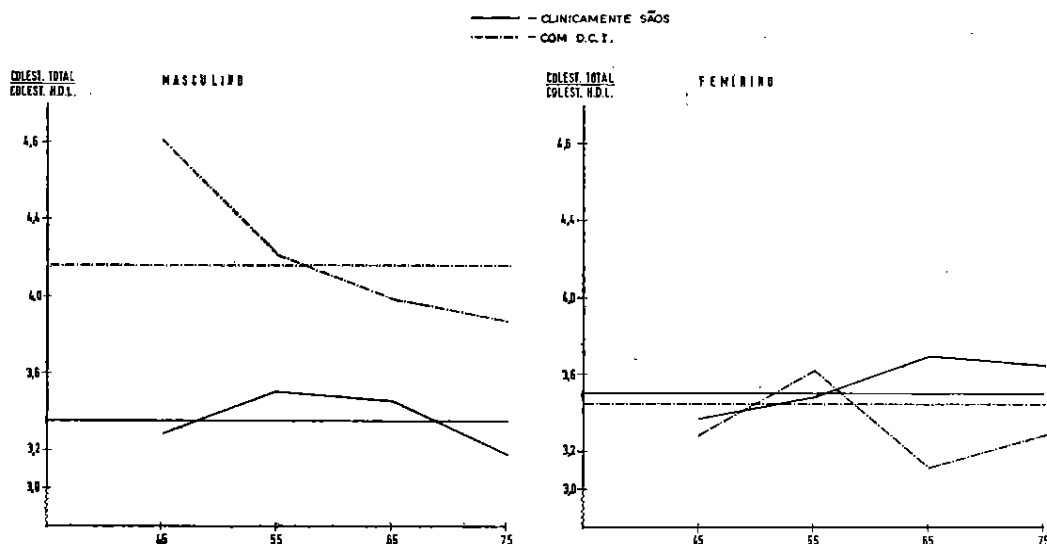
Concluimos que, nos homens, esta relação é particularmente alta em todos os grupos etários dos indivíduos doentes, particularmente nos grupos etários mais jovens e vai dimi-

nuindo progressivamente no decurso desses grupos etários sem nunca atingir o valor máximo encontrado nos indivíduos sãos. Quanto ao sexo feminino podemos concluir que esta relação é inconstante e que apenas há uma ligeira subida em relação aos clinicamente sãos.

Em ambos os sexos podemos dizer que as alterações desta relação devem estar ligadas sobretudo à variação do colesterol-HDL visto que, como vimos atrás, as curvas do colesterol não revelam uma diferença muito considerável dos indivíduos doentes em relação aos clinicamente sãos.

QUADRO Nº 25

RELAÇÃO  $\frac{\text{COLESTEROL TOTAL}}{\text{COLESTEROL} \times \text{LIPOPROTEÍNAS (H.D.L.)}}$



#### IV — CONCLUSÕES

Relativamente aos objectivos que nos propuzemos é possível concluir:

IV-1 — A incidência de hiperlipoproteinémias nos indivíduos doentes é maior que nos sãos sendo a respectiva quantificação como segue:

##### a) No sexo masculino

30,61 % de hiperlipoproteinémias (20,57 % nos indivíduos clinicamente sãos);

(10,62 % de tipos II a de Fredrickson (6,9 % nos clinicamente sãos); 13,12 % de tipos II b de Fredrickson (4,62 % nos clinicamente sãos); 6,87 % de tipos IV de Fredrickson (7,38 % nos clinicamente sãos).

##### b) No sexo feminino

30,42 % de hiperlipoproteinémias (17,5 % nas mulheres clinicamente sãs); 14,3 % de tipos II a de Fredrickson (9,6 % nas mulheres sãs) 10,86 % de tipos II b de Fredrickson (3,22 % nas mulheres clinicamente sãs);

5,43 % de tipos IV de Fredrickson (4,38 % nas mulheres clinicamente sãs).

IV-2 — Pelo que se refere às concentrações dos lípidos e lipoproteínas plasmáticas, tivemos ocasião de comentar as diferenças encontradas por parâmetro sendo, todavia, de notar:

- a) A colesterolémia nos homens com D. C. I. é mais alta na década dos 40, a anteceder aquela em que se refere maior incidência de situações agudas.

No sexo feminino a elevação da colesterolémia é maior nas décadas dos 50 e 60 anos, possivelmente em relação com a diminuição de estrogéneos.

- b) As subidas de triglicéridos nos dois sexos e nos indivíduos com D. C. I., relativamente aos clinicamente sãos, não são significativas.

- c) A determinação de lipoproteínas de baixa densidade ( $\beta$  + Pré  $\beta$  ou LDL + VLDL), sempre detectando valores mais altos nos doentes que nos sãos, continua a ter importância nos rastreios das hiperlipoproteinémias.

Sendo estas lipoproteínas  $\beta$  + Pré  $\beta$  que veiculam a maior concentração dos lípidos potencialmente mais aterogénicos, colesterol e triglicéridos, as suas variações são particularmente amplas nos grupos etários em maior risco de D. C. I. e, possivelmente, de outras doenças vasculares ateroscleróticas: os mais jovens masculinos e os mais idosos femininos.

- d) Do lipidograma não se conseguem tirar ilações importantes. Na verdade, e tal como em outras diferentes situações é-nos possível concordar com a opinião de numerosos autores de que ele constitui apenas elemento de corroboração das outras determinações de lípidos e lipoproteínas, ajudando na classificação das hiperlipidémias.

IV-3 — O quadro n.º 25 elucida sobre o grau de protecção proporcionado pelas  $\alpha$  lipoproteínas (ou HDL) nos indivíduos estudados (tanto nos clinicamente sãos como nos que tinham D. C. I.).

Nota-se nos homens doentes uma muito menor protecção particularmente nas décadas

em que há muito maior incidência de D. C. I. aguda.

Por outro lado, a pequena variação que se encontra no sexo feminino, certamente relacionada com problemas hormonais, está talvez na base da existência de muito maior número de D. C. I. de tipos não agudo mas sob a forma de isquémia do miocárdio.

Estamos gratos às Dras. Maria Odette Rodrigues e Maria Adelina Gomes que, no Laboratório de Química Clínica do INSA, com as suas equipas de trabalho, efectuaram as análises referidas nesta publicação.

## SUMMARY

Analysis concerning serum lipids and lipoproteins were performed on a population of 159 men and 92 women, survivors of myocardial infarct and / or with myocardial ischaemia (CHD).

The results of these determinations were compared with the results of similar ones performed on a healthy population of 444 men and 289 women.

The most important conclusions were the followings:

- 1 — There is a higher incidence of hyperlipoproteinemia in sick people .
- 2 — The cholesterolemia in men with CHD is higher in the forties, being this decade the one before which the incidence of acute cardiac situation is higher.
- 3 — The triglycerides are higher in both sexes in people with CHD, than in the healthy population, but the difference has no statistic significance.
- 4 — The turbidimetric determination of LDL+VLDL lipoproteins shows always higher values in people with CHD than in the healthy population. As a vehicle of cholesterol and triglyceride these lipoproteins are particularly increased in the groups at a higher risk of CHD: the younger in men, the older in female.
- 5 — In men with CHD there is a lesser protection by HDL cholesterol in the decades with a higher risk of acute CHD. In female there is a smaller variation certainly in accordance with hormonal problems.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — ALFREDO FRANCO, MARIA DO CARMO MARTINHO e MARIA DO CARMO CAVALHEIRO MARTINS — «Estudo prospectivo de lipídeos sanguíneos em amostras de população portuguesa — valores de referência na região de Lisboa in Arquivos do Instituto Nacional de Saúde, vol. IV (1980).
- 2 — R. M. IAMMARINO — «Lipoprotein electrophoresis should be discontinued as a routine procedure» in *Clinical Chemistry*, vol 21, n.º 3, 1975.
- 3 — PH DEWAILLY, G. SEZILLE, J. JAILLARD — Structure, métabolisme, fonctions et variations plasmatiques des lipoprotéines de haut densité (HDL) in «Journées de diabétologie», 1980.
- 4 — Primary prevention of Ischaemic heart disease: WHO coordinated cooperative trial in *Bulletin of the World Health Organization*, 57 (5) 801-805 (1979).
- 5 — TAVIA GORDON, CASTELLI, ET AL — «High density lipoprotein as a prospective factor against coronary heart disease» — The Framingham study — in the *American Journal of Medicine*, vol 62 (1977).
- 6 — WILLIAMS, HEISS ET AL — «Hiperlipidemia and nutrition; data base and trends» in *Atherosclerosis Reviews*, vol 7: Measurement and control of Cardiovascular risk factors (1980).
- 7 — J. MORGANROTH, ROBERT I. LEVY — The diagnosis and management of the hyperlipoproteinemias. In *Current Cardiovascular Topics*, vol. 1, edited by Ephraim Donoso, 1975 (Stratton Intercontinental Medical Book Corporation, New York).
- 8 — Edited by ANTONIO M. GOTTO, JR., LOUIS C. SMITH, BARBARA ALLEN, SPRINGER — Verlag, New York — Heidelberg — Berlin, 1980. *Atherosclerosis. V International Symposium — 1979*.
- 9 — ANTONIO M. GOTTO JR. — In *Atherosclerosis Reviews*, vol, 4, 1979. Status Report: Plasma Lipids, Lipoproteins and Coronary Artery Disease.
- 10 — ANTONIO M. GOTTO, JR., and RICHARD L JACKSON — Plasma lipoproteins and Atherosclerosis — In *Atherosclerosis Reviews* vol, 3, 1978.



## EXPERIMENTAL WORK ON THE DINOFLAGELLATE TOXIN PRODUCTION (1)

Estela Sousa Silva\* and Isabel Sousa\*\*

The search of the ecological factors that may influence the exceptional growth of one species of Dinoflagellates has taken very much attention of microbiologists. The start and development of «red waters» are supported by a whole of determinant conditions occurring simultaneously in the same region, however, not all of them were found toxic. The present note considers the results of a preliminar experimental study about different causes for the toxin production by some species, having or not growing in large populations, and now in culture. The media and their pH, the cell concentration and the age of culture, as well as the Dinoflagellate-Bacteria association are the main aspects now focused.

An early hypothesis considered the possible relationship between Dinoflagellate toxicity and the presence of bacteria either in the medium (Abbott & Ballantine, 1957) or inside the Dinoflagellate cell (Silva, 1959). Some experimental work in this field has been done recently and the first results were the subject of a communication to the IV IUPAC Symposium

on Mycotoxins and Phycotoxins, in Lausanne 1979. Reference was then made to different bacteria strains isolated from different Dinoflagellates species and also to a few successful crossed inoculations. One Bacteria strain got from the cell of a toxic species (*Gonyaulax tamarensis*) caused the cells of some others to become toxic.

### MATERIAL AND METHODS

The Dinoflagellates used in the experiments were: *Gonyaulax tamarensis* Lebour f. *excavata* Braarud, *Gyrodinium instriatum* Freud. & Lee, *Amphidinium carterae* Hulburt and *Prorocentrum minimum* Schiller. The last one has been already considered as *P. balticum* (Lohm) Loeblich in former papers and later kindly corrected by Dr. Tangen (University of Oslo) who studied our clone in scanning electron microscope.

These four species have been cultured in several synthetic media by Provasoli (12), ASP<sub>1</sub>, ASP<sub>2</sub>, ASP<sub>1</sub> + ASP<sub>2</sub> (1:1), ASP<sub>7</sub>, DV, and also in seawater (ESW) enriched with the Provasoli's solution ES (pers.comm.). Different pH values were essayed; the 16 hour-day / 8 hour-night regime and the temperature, 20° C, were maintained constant. Sometimes an antibiotic mixture (Provasoli's AM-9) was added to the medium.

(1) Paper presented to the VIth Intern. Congr. of Protozoology, Warsaw 1981.

(\*) Investigador, Laboratorio de Microbiologia Experimental do INSA.

(\*\*) Técnico-Auxiliar Principal do mesmo Lab.

The bacteria strain used for the inoculations here considered was isolated from the cell of *Gonyaulax tamarensis (excavata)* and has been grown in the 2216 ZoBell medium (24). That is *Pseudomonas* sp. (identification by Dr. M. A. Catry).

The Dinoflagellates toxicity was searched in cultures of different ages and different cell concentrations. Extracts of cells were obtained by an adaptation of the Sommer & Meyer method (20) and they were injected in mice of about 20 gr. The amount of toxins was estimated after the intensity of the mouse's reaction and the time of death.

## RESULTS

Different factors can influence the toxins production by Dinoflagellates: the nutrients and the pH of the medium, the age of the culture and especially the Dinoflagellate-Bacteria association (17,23). Relationship with other microorganisms is not now considered because the essayed material have grown in clonal cultures.

Dense cultures are required for the toxicity assays and there is a minimum of cells in each species for its extract may be found toxic, when cultured in good conditions for the toxin production. The cell concentration increases during log phase of growth but that period may be stretched in a culture beyond its usual maximum if some more nutritive liquid is added. The age of a culture and the age of the cultured cells keep influencing the intensity of the toxic action of the cell extract injected in the mouse. This fact has been clearly observed in all the essayed species: from two cultures of the same species, growing in the same medium, pH, temperature and light regime, the eldest always is more toxic. The pH of the medium seems to have an important influence on the toxins production, having been clearly observed in *A. carterae* and in *G. tamarensis*. From several essayed Bacteria inoculations only *Pseudomonas*, got from *G. tamarensis*, is now considered. The antibiotic mixture AM-9, added sometimes to the medium before transfer, keeps it bacteria-free but some Bacteria are still found inside cells.

*Amphidinium carterae* was cultured in ASP<sub>1</sub>, ASP<sub>2</sub>, DV, and ESW (Table 1). For the same cell concentration and identical age, the higher toxicity was found in the extract of cells cultured in ASP<sub>1</sub>. When grown in ASP<sub>2</sub>

no toxic effects could be seen even from very crowded cultures. The most evident differences in the composition of those media are the higher amount of silicate in ASP<sub>2</sub>, and the richer vitaminic content in ASP<sub>1</sub> and DV. The influence of pH of the medium is clear, the stronger toxic reactions correspond to lower pH values.

*Gonyaulax tamarensis (excavata)* has shown a higher toxicity when cultured in ASP<sub>1</sub> than in ESW (Table 2). The composition of ESW was undetermined except for the added ES solution. In this species the pH was also found to be important for the toxins amount in the cell extracts, the more intensive reaction corresponding to the lower pH. When the antibiotic mixture AM-9 was added to the medium, the cultures grew quicker and the extract of the cells is generally more toxic. The bacteria-free nutritive liquid favours the more intensive growth, however, cells always keep some of them inside.

The clone of *Prorocentrum minimum*, that was submitted to the experiments, revealed some toxic action only when inoculated with G.t.bacteria strain. The original clone was lost by accident in the culture room climatization system but the sub-clone, grown after inoculation, was more resistant and maintained for much longer. The extracts of cells from this sub-clone showed more intensive toxicity if cultured in ASP<sub>1</sub> although the species generally grows better in ASP<sub>2</sub> (Table 3).

Two clones of *Gyrodinium instriatum* have been studied in the same way, but the cells of one of them have endonuclear bacteria beyond their usual presence in cytoplasm. Both clones have grown in a mixture of ASP<sub>1</sub> + ASP<sub>2</sub> (1:1) and in ESW (Table 4). The clone without endonuclear bacteria showed an identical behaviour to that of *P. minimum*, which intends to be toxic only after inoculation of the G.t.bacteria strain. On the other hand, the clone with endonuclear bacteria had already shown some irregular toxicity before the same inoculation, specially if grown in ESW. The bacteria strain isolated from this clone with infected nucleus was not yet identified, but it is Gram negative. If toxic the cell extracts of *G. instriatum* provokes a more stretched reaction in the injected mouse, its death may occur sooner or later but a recuperation was never observed. Usually, when diluted extract of some other species is injected in mouse, its reaction is weaker and it may recuperate and live quite normally.

TABLE 1  
AMPHIDIUM CARTERAE Hulbert

Medium (pH)	Age of culture	Cell conc./ml	Total cells for extract	Reaction of the injected mice
DV (7.8)	1 m.	8,330	6,833,300	Weak reac., rec.
» »	1 m. 2 w.	29,400	23,555,600	Typ. reac. at 10 min. (1 h.), rec.
ASP <sub>2</sub> (7.8)	2 w.	81,670	30,625,000	No reac.
» »	1 m.	64,440	50,911,000	No reac.
ASP <sub>1</sub> (7.8)	2 w.	23,880	7,644,400	Typ. reac. at 2 min., D. 9 min.
» »	1 m.	11,110	8,889,000	Weak reac., rec.
ESW (7.6)	1 m.	5,600	2,237,300	Typ. reac. at 5 min., D. 7 min.
» (7.8)	1 m.	17,690	7,080,000	Typ. reac. at 12 min., n. rec.
» (8.2)	1 m.	44,390	17,754,400	Weak reac. at 40 min., n. rec.

D. = death; n. rec. = not recovered; rec = recovered; m. = month; w. = week; typ. reac. = typical reaction; no reac. = no reaction.

TABLE 2  
GONYAULAX TAMARENSIS Lebour v. EXCAVATA Braarud

Medium (pH)	Age of culture	Cell conc./ml	Total cells for extract	Reaction of the injected mice
ASP <sub>1</sub> (7.8)	2 m.	5,140	1,851,800	Typ. reac. at 3 min., D. 10 min.
» (7.8)	»	6,000	2,160,000	Typ. reac. at 1 min., D. 2 min.
ESW (7.6)	3 w.	6,640	1,328,800	Typ. reac. at 15 min., t. paral., n. rec.
» »	1 m.	5,600	2,237,800	Typ. reac. at 5 min., D. 7 min.
» »	1 m. 2 w.	5,300	1,988,400	Typ. reac. at 9 min., D. 18 min.
» (8.2)	3 w.	9,390	1,878,400	Weak reac. at 7 min., rec.
» »	1 m.	7,600	3,043,000	Typ. reac. at 5 min., D. 7 min.
» »	1 m. 2 w.	4,800	1,781,600	Typ. reac. at 6 min., D. 12 min.

D. = death; n. rec. = not recovered; rec = recovered; m. = month; w. = week; typ. reac. = typical reaction; no reac. = no reaction.

TABLE 3  
PROROCENTRUM MINIMUM (Loh.) Lœblich

G.t.bacteria inoculation	Medium (pH)	Age of culture	Cell conc./ml	Total cels for extract	Reaction of the injected mice
—	ASP <sub>2</sub> (7.8)	2 m 3 w.	(50 ml)	—	No reac.
Recent inoc.	» »	» »	»	—	Typ. reac., str. 2 h., n. rec.
Early inoc.	» »	1 m	17,990	5,894,300	No reac.
» »	» »	2 m	45,600	3,328,000	No reac.
» »	ASP <sub>1</sub> (7.8)	1 m	9,420	6,685,300	Typ. reac. at 3 min., D. 30 min.
» »	» »	1 m 3 w.	22,200	7,666,600	Typ. reac. at 5 min., t. paral., n. rec.
» »	» »	2 m	17,400	1,566,800	Typ. reac. at 3 min., D. 5 min.

D. = death; no reac. = no reaction; n. rec. = not recovered; m. = month; w. = week;  
Inoc. = inoculation; t. paral. = total paralysis; typ. reac. = typical reaction; st. = stretched.

TABLE 4  
GYRODINIUM INSTRIATUM Freud. & Lee

G.t.bacteria inoculation	Medium	Age of culture	Cell conc./ml	Total cels for extract	Reaction of the injected mice
—	ASP <sub>1</sub> + ASP <sub>2</sub>	1 m. 1 w.	(700 ml)	—	No reac.
Recent inoc.	»	» »	(750 ml)	—	Typ. reac. at 15 min., D. 30 min.
» »	»	6 m.	(800 ml)	—	Typ. reac. at 3 min., D. 10 min.
(EB)	»	4 m.	1,600	720,000	No reac.
( » )	»	5 m.	1,300	630,500	Weak reac., rec.
( » ) Recent inoc.	»	1 m.	2,340	1,718,400	No reac.
( » ) Early inoc.	»	»	3,270	998,100	No reac.
( » )	ESW	1 m. 10 d.	2,697	862,900	Typ. reac. at 10 min., n. rec.
( » )	»	» »	2,080	317,700	Typ. reac. at 20 min., rec.
( » ) Recent inoc.	»	3 w.	1,800	1,078,200	Typ. reac. at 11 min., t. paral., n. rec.
( » ) » »	»	2 m.	550	131,200	Typ. reac. at 5 min., n. rec.

D. = death; EB = clone of cells with endonuclear bacteria; n. rec. = not recovered;  
no reac. = no reaction; typ. reac. = typical reaction; t. paral. = total paralysis.

## DISCUSSION

Special attention has been given by several microbiologists to the hydrographic and oceanographic factors that allow for an intensive growth of one species of Dinoflagellates (8, 9). The senior author has been making some observations for some years (16, 18) on the ambient conditions that permitted sporadic «red water» development. Recently Mulligan (8) studied the oceanographic features associated with *G.tamarensis* blooms in coastal region of Massachusetts. Temperature or light intensity are related to vertical migrations of the microorganisms leading them to contact with different nutritional levels. The upwelling currents are very much related with blooms in different regions (2). Thus, there are several conditions that may be considered as probable causes for that uncommon high multiplication rate of one or two species. Experimental work in this field has been carried out by Norris & Chew (9), by Steidinger (21) and other microbiologists.

Nevertheless, not all the Dinoflagellate blooms are toxic ones and this is true even for those of the same species (17, 18). Besides to be able to cause Dinoflagellates intensive growth, some ecological factors and others have very probably some influence on their toxicity. Undetermined nutrients, the pH of the medium and the Bacteria have undoubtedly played a part on the toxins production. It was found that the presence of a relatively high amount of silicate in the medium appears to hold the toxin production, while, a rich vitaminic content apparently helps it (Tables 1, 3). The high pH (8.2-8.6) may destroy some toxins. Prof. Schantz, at the IV IUPAC Symposium (Lausanne, 1979) did recommend precisely the high pH of the liquid where clams are boiled for eating because the Dinoflagellate toxins, stored in the bivalves, are so destroyed.

There is no doubts about the presence of Bacteria within the cell of Dinoflagellates (5, 19) where they can live and multiply without apparent damage for the host cell (Figs. 1, 2). However, not all the Bacteria isolated from Dinoflagellates cell may have the same influence on the toxin production (17). Until now, only *Pseudomonas sp.*, isolated from *G. tamarensis* was found to provokes toxicity in some other species. The experiments on crossed inoculations are being prosecuted.

After Hugh and Gilardi (6) *Pseudomonas* have a wide distribution.

The research on paralytic shellfish poison (PSP) has been made since many years (14, 20). More recently that study has been mainly reported to the source of those toxins — the Dinoflagellates — and made in different ways, on biological, chemical and pharmaceutical aspects (4, 7, 13, 22). Biological influences on the Dinoflagellates toxin production may result from some metabolites and other substances freed in the cell lysis of other microorganisms in nature. But the Dinoflagellate toxin production can especially be due to some Bacteria living associated with Dinoflagellates and influencing their metabolism (17).

Oshima & Yasumoto have isolated different toxins from *G.tamarensis* in culture, and among them the gonyautoxin VI and neosaxitoxin were the most important (11). After Evans the *G.tamarensis* cell extracts essayed on the frog nerve provokes «a direct paralysing action on skeleton muscle» and that paralysis could be reversed by washing (4). We have often found the recovering of the mouse when injected with a low concentrated *G.tamarensis* toxic extract. Some other toxins may affect only fishes or different marine animals (23).

Cell extracts of *A.carterae* were found toxic for mice and for fishes by Thurberg & Sasner. These authors observed also its direct action on the *Cancer* heart causing «an increase in tension with irreversible systole arrest» (22). By another hand Duff et al. (3) found antibacterial activity in cell extract of the same species in natural bloom.

*Prorocentrum minimum* (formerly considered *P.balticum*) was found responsible for PSP accidents in different regions (16-18). From cultures of the same species Okarchi & Imatumi (10) have isolated two different toxic substances, the minor one with an action very close that of saxitoxin. We have not seen any reference to the toxicity of *Gyrodinium intriatum*.

After Schantz (13, 14) an accurate chemical research on the Dinoflagellate toxins can lead to find an antidote for the PSP. The pharmacological interest on the Dinoflagellate toxins (3, 4, 7, 22) is on their different actions already observed in a wide searching field, not yet led very far. Most working lines are still very little explored and represent a vast field to be studied. The practical interest of

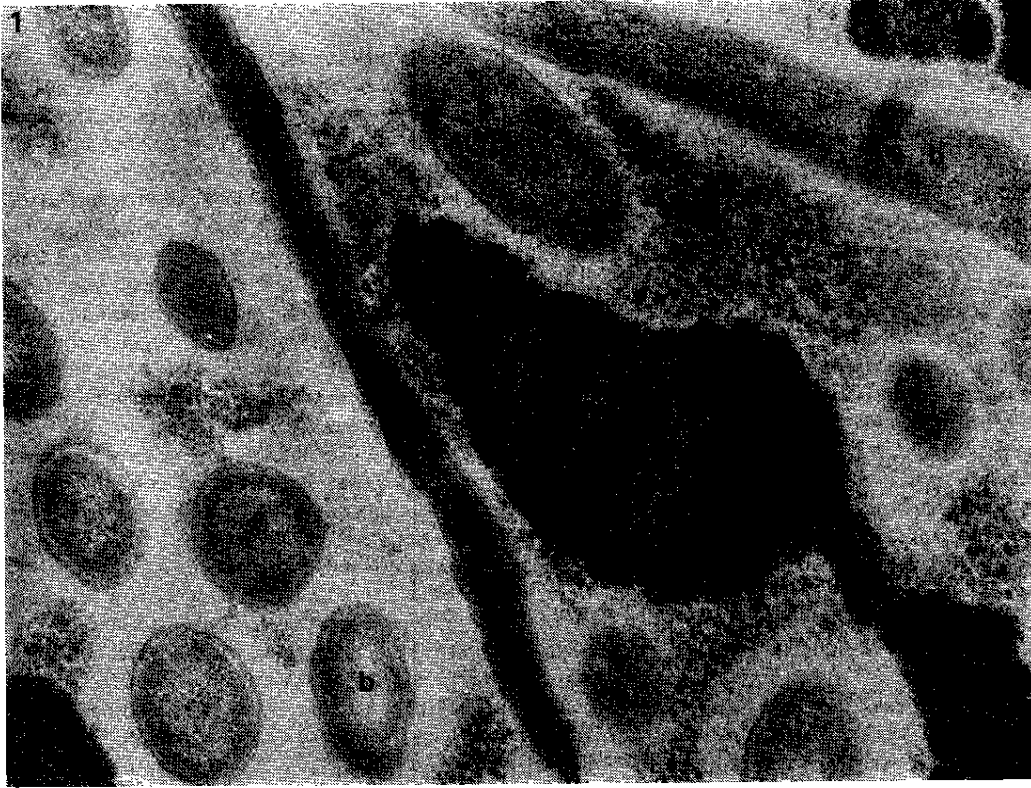


Fig. 1 — *Gyr. instriatum* 45,000 X  
chr — chromosome  
npl — nucleoplasm  
b — bacteria in the nucleus

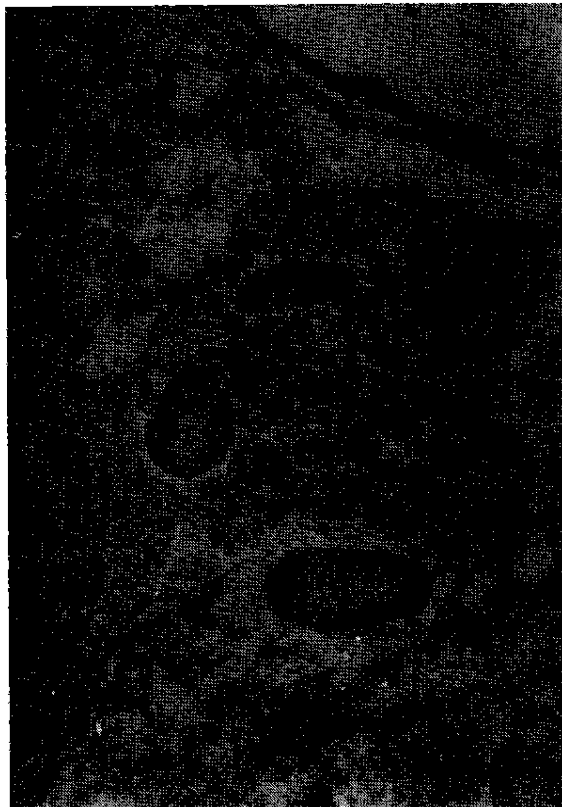


Fig. 2 — *Gon. tamarensis* 25,000  
m — mitochondria  
pl — plast  
v — vacuole  
cw — cell wall  
b — bacteria

these studies may be seen from different sides but certainly they will bring to more unexpected results.

We wish to thank Dr. Maria dos Anjos Catry (Departamento de Bacteriologia) for the classification of some bacteria strains.

## SUMMARY

The observations now presented resulted from experiments on the toxicity of dinoflagellates in culture, which refer to the composition and pH of the medium, to the cell concentration and age of a culture and also to the dinoflagellate-bacteria association. Each studied species was cultured in enriched seawater and in a few synthetic media differing in their contents of some salts amount and vitamin contents. A clear relationship between the toxicity and both the cell concentration and the age of culture could be found; also the essayed variation of pH of the nutritive liquid has given some interesting results. On the other hand, the search for the influence of intracellular bacteria on the toxins production in dinoflagellates, earlier considered, has been continued.

## REFERENCES

1. ABBOTT, B. C. and BALLANTINE, D., 1957 — The toxin from *Gymnodinium veneficum* Ballantine. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 36: 169-189.
2. BLASCO, D., 1975 — Red tides in upwelling regions. *Proc. 1st Intern. Conf. on Toxic Dinofl. blooms*, 113-119.
3. DUFF, D. C. B.; BRUCE, L. D. and ANTIA, N. J. — 1966 — The antibacterial activity of marine planktonic algae. *Stud. Fish. Res. Bd. Canada* (1967), n.º 1113: 27-35.
4. EVANS, M. H., 1975 — Saxitoxin and related poisons: their action on man and other mammals. *Proc. 1st Intern. Conf. on Toxic Dinofl. blooms*, 337-346.
5. FRANCA, S. and SILVA, E. S., 1981 — Intracellular Bacteria in Dinoflagellates; further observations on their morphological relationship. *VIIth Intern. Cong. of Protozool.*, Warsaw.
6. HUGH, R. and GILARDI, G. L., 1974 — *Pseudomonas*. In: «Manual of clinical Microbiology» Spaulding and Truant, (eds.) *Am. Soc. Microbiol.*, 250-269.
7. LEITÃO, J. A. and PINTO, J. S., 1965 — Acções cardiovasculares do veneno de *Cardium edule* L. In: «Livro de homenagem ao Prof. Fernando Fonseca», 1023-1136.
8. MULLIGAN, H. F., 1975 — Oceanographic factors associated with New England red tide blooms. *Proc. 1st Intern. Conf. on Toxic Dinofl. blooms*, 23-40.
9. NORRIS, L. and CHEW, K. K., 1975 — Effect of environmental factors on growth of *Gonyaulax catenella*. *Idem*, 143-152.
10. OKAICHI, T. and IMATUMI, Y., 1979 — Toxicity of *Prorocentrum minimum* var. *mariae-lebourae* assumed to be causative agent of short-necked clam poisoning. *Proc. 2nd Int. Conf. on Toxic Dinofl. blooms*, 385-388.
11. OSHIMA, Y. and YASUMOTO, T., 1979 — Analysis of toxins in cultured *Gonyaulax excavata* cells originating in Ofunato Bay, Japan. *Idem*, 377-380.
12. PROVASOLI, L., 1963 — Growing marine seaweeds. *Proc. 4th Intern. Seaweed Symp.*, 9-17.
13. SCHANTZ, E. J.; GHAZAROSSIAN, V. E.; SCHNOES, H. K. and STRONG, F. M., 1975 — Paralytic poisons from marine Dinoflagellates. *Proc. 1st Intern. Conf. on Toxic Dinofl. Blooms*, 267-274.
14. SCHANTZ, E. J.; MOLD, J. D.; STANGER, D. W.; SHAVEL, J.; RIEL, F. J.; BOWDEN, J. P.; LYNCH, J. M.; RIEGEL, B. and SOMMER, H., 1957 — Paralytic shellfish poison. VI. A procedure for the isolation and purification of the poison from toxic clams and mussel tissues. *J. Am. Chem. Soc.*, 79: 5230.
15. SILVA, E. S., 1959 — Some observations on marine Dinoflagellate cultures. I. *Prorocentrum micans*. Ehr. and *Gyrodinium* sp., *Not. Est. Inst. Biol. Mar.*, n.º 21: 1-20.
16. SILVA, E. S., 1963 — Les «red waters» à la lagune d'Obidos. Ses causes probables et ses rapports avec la toxicité des bivalves. *Proc. 4th Intern. Seaweed Symp.*, 265-271.
17. SILVA, E. S., 1979 — Intracellular Bacteria, the origin of the Dinoflagellates toxicity. *Proc. IVth IUPAC Symp. on Mycotoxins and Phycotoxins, Lausanne, Proc. Pathotox Publ.*
18. SILVA, E. S., 1980 — As grandes populações de Dinoflagelados tóxicos na lagoa de Obidos. *Arq. Inst. Nac. Saúde*, IV: 253-262.
19. SILVA, E. S., 1980 — Relationship between Dinoflagellates and intracellular Bacteria. In: «Marine Algae in Pharmaceutical Science», *Xth Intern. Seaweed Symposium, Göteborg, F. Gruyter & Co.*
20. SOMMER, H. and MEYER, K. F., 1937 — Paralytic shellfish poisoning. *Arch Path.* 24 (5).
21. STEIDINGER, K. A., 1975 — Basic factors influencing red tides. *Proc. 1st Int. Conf. on Toxic Dinofl. Blooms*, 153-163.
22. THURBERG, F. P. and SASNER, J. J., 1973 — Biological activity of a cell extract from the Dinoflagellate *Amphidinium carterae*. *Cesapeake Science*, 14 (1): 48-51.
23. WILSON, W. B., RAY, S. M. and ALDRICH, D. V., 1975 — *Gymnodinium breve*: population growth and development of toxicity in cultures. *Proc. 1st Int. Conf. on Toxic Dinofl. Blooms*, 127-141.
24. ZOBELL, C. E., 1941 — Studies on marine Bacteria. I. The cultural requirements of heterotrophic aerobs. *J. Mar. Res.*, IV (1-3): 42-75.



## UM SURTO EPIDÉMICO DE RUBÉOLA NUMA POPULAÇÃO ADULTA FEMININA

### Contribuição para o estudo da Rubéola no Norte de Portugal (I) CONSIDERAÇÕES SOBRE A EPIDEMIOLOGIA DA RUBÉOLA

*Dr.ª Maria Fernanda Ferreira (\*)*

Com a colaboração técnica de:

- *Dr.ª Maria do Rosário Aranha (\*\*)*
- *Aida Margarida Loureiro (\*\*\*)*
- *Laura Maria de Sousa (\*\*\*)*
- *Maria Manuel Guimarães e Sousa (\*\*\*)*
- *Zulmira Tavares Quintas (\*\*\*)*

Precisamente há um século (1881), num Congresso Internacional de Medicina, realizado em Londres, foi, oficialmente, aprovado o estatuto de «entidade nosológica independente» de um vulgar e quase inócuo exantema infantil que VEALE (1866) baptisara com o nome eufónico de «RUBÉLLA» — até então, ele era considerado uma forma fruste, atenuada, do Sarampo ou da Escarlatina.

ESS e Col. (1914) postularam a natureza vírica desta «3.ª doença», com base em estudos de transmissão da infecção para *Macacus rhesus*, mas passaram-se mais 25 anos até que HIRO e TASAKA produzissem Rubéola em crianças sãs por inoculação de lavados nasais de outras crianças doentes com o exantema máculo popular típico.

(\*) Médica, do Laboratório de Virologia da Delegação no Porto do INSA.

(\*\*) Médica, destacada pelo Quadro de Adidos, entre 1976 e 1977 no Laboratório de Virologia.

(\*\*\*) Técnicas do Laboratório de Virologia.

O marco fundamental para a compreensão da importância epidemiológica da Rubéola só começou com a publicação dos artigos de NORMAN GREGG, a partir de 1941. Este atento oftalmologista australiano registara, naquele ano, um inesperado aumento do número de recém-nascidos com cataratas congénitas: na sua casuística de 78 casos, em muitos deles, apareciam, também, malformações cardíacas, peso e estatura inferiores à normal, assim como, em quase todos, as suas mães contavam uma história de Rubéola no primeiro trimestre das suas gestações.

A comunidade médica recebeu com incredulidade estas observações: «THE LANCET» publicou, inclusive, em 1944, uma editorial «Rubella and congenital malformations» questionando a veracidade dos artigos de GREGG.

Mas, o processo estava em marcha: cada vez mais autores confirmavam a relação entre RUBÉOLA nas grávidas e malformações nos filhos.

A natureza encarregou-se da prova decisiva: em 1964, nos Estados Unidos, eclodiu uma terrível epidemia de Rubéola, eclodindo-se, pelo menos, 488 796 casos clínicos, nos quais se incluíam 50 000 mulheres grávidas; posteriormente, nasceram cerca de 20 000 crianças com Rubéola congénita e um número incalculável de mulheres sofreram aborto terapêutico ou espontâneo. SAUL KRUGMAN escreveu, em 1979: «é impossível avaliar a tragédia pessoal para muitos milhares de famílias que enfrentaram, inesperadamente, a responsabilidade de cuidar das suas crianças multideficientes»: foi calculado que o preço que o Estado Americano pagou pela manutenção e recuperação dos deficientes se elevou a 2 biliões de dólares.

Tal situação catastrófica impulsionou a investigação e posterior licenciamento de vacinas, possíveis porque dois grupos de virologistas — WELLER e NEVA na Harvard School of Public Health e PARKMAN, BUESCHER e ARNENSTEIN no Walter Reed Army Institute of Research — simultaneamente, tinham obtido a replicação de Rubivirus em diversos tipos de cultura de tecidos, em 1962.

Ensaíram-se vacinações em diferentes populações, com diferentes estratégias, aperfeiçoaram-se métodos laboratoriais de diagnóstico virológico, explicaram-se as patogenias das infecções, intra e extrauterinas, planearam-se e executaram-se estudos epidemiológicos, enfim, a Rubéola parecia tornar-se um «problema» ultrapassado.

Mas, conhecer-se-ão, hoje, todos os aspectos da Rubéola?

Centremos a nossa atenção, sobretudo, no comportamento epidemiológico da Rubéola, referindo os seguintes parâmetros:

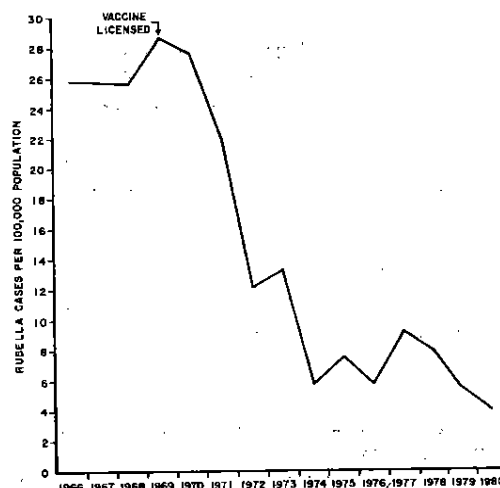
- 1.1. — Incidência, prevalência e curva epidémica
  - 1.2. — Distribuição geográfica
  - 1.3. — Factores individuais de idade, sexo e etnia
  - 1.4. — Mecanismos de transmissão, de patogenia e de imunidade
- 1.1. — Incidência, prevalência e curva epidémica

A incidência da Rubéola depende da periodicidade do ciclo epidemiológico, do número de susceptíveis e do grau de exposição dentro do grupo populacional.

Com uma reduzidíssima mortalidade (quando encarada como virose extra uterina), a Rubéola não é uma doença de declaração obrigatória na maior parte dos países — por exemplo, se não fora a grande epidemia de 64 anos Estados Unidos, não se obteriam dados nacionais naquele país. Mas, como todos sabemos, as declarações de doença contam apenas uma parte da realidade: no caso da Rubéola, o comprovado número de casos inaparentes e de casos subclínicos, a sua baixa taxa de complicações, etc., contribuem ainda mais para tal situação. (Em inquéritos planeados, as conclusões apontam, em geral, surtos para uma prevalência de 80 a 87% de imunidade nas mulheres em idade de procreação, quer na Europa, Japão, Austrália; (OMS, 1967).

As estatísticas referentes à Rubéola congénita são muito mais vagas e fragmentárias: em 1966, os EU instituíram programas nacionais com o objectivo de conhecer o problema e o Center for Disease Control (CDC) publica, regularmente, os seus dados. Vão ser citados como exemplo, mas tal não significa que possam ser entendidos como aplicáveis a qualquer outra população — desde já se afirma que o padrão epidemiológico da Rubéola é um tanto peculiar e não permite generalizações, como à primeira visita se poderia supor.

Assim, a figura 1, extraída do MMWR, 1980, v. 29, n.º 31, regista os casos notifica-



dos de Rubéola, por ano, nos Estados Unidos, de 1966 a 1980, e é apreciável a queda do número dos casos de Rubéola após a aplicação da vacina.

Quanto à figura 2, obtida, dos dados do CDC, regista a taxa de casos com síndrome de Rubéola congénita nos Estados Unidos; a sua diminuição coincide com a aplicação de 90,7 milhões de doses de vacina antirubéola no período de Junho de 69 a Dezembro de 78.

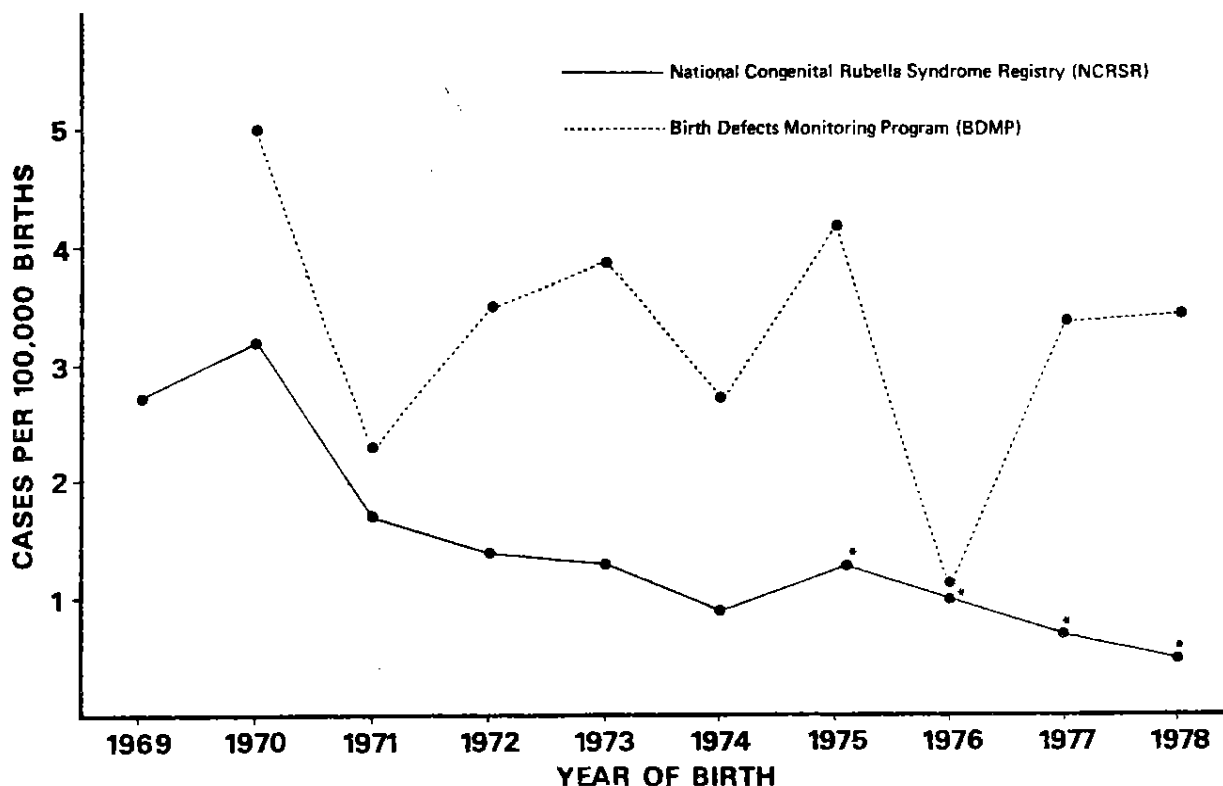
O comportamento epidémico da Rubéola nas populações não vacinadas é, regra geral, o de uma endemia com surtos epidémicos cada 6 a 9 anos e este padrão correlaciona-se com o nível imunitário geral de 85% da população adulta. Por que razão então, se desencadeiam extensas epidemias (exemplos, a de 1940 em Inglaterra, a de 1964 nos Estados Unidos, a de 1972 em Israel), em intervalos

de tempo maiores que os citados? Para D. H. HORTSMANN, nem se tem comprovado alterações antigénicas das estirpes víricas (embora possam ser observados alguns caracteres biológicos diversos nos vírus) nem tão pouco os hospedeiros infectados diferem na sua capacidade de «transmissores» ou «não transmissores» de umas epidemias para outras; deve haver pois, uma qualquer coisa, um factor desconhecido, que favorece a disseminação dos vírus em tais grandes epidemias.

Em conclusão, não é, ainda, explicável esta faceta do comportamento epidémico da Rubéola.

### 1.2. — Distribuição geográfica

Embora os Rubivirus não possuam hospedeiros humanos preferenciais, a verdade é que



nas populações insulares se descreve um padrão epidémico um tanto singular. Publicaram-se trabalhos epidemiológicos muito interessantes sobre este aspecto, de que se destacam os de GALE e Col. executados na Ilha Formosa, os de BISNO e Col. nas Trindades, EVANS e Col. nas Ilhas Barbados (Antilhas), BRODY e Col. nas Pribilofs (Alasca) etc. Para todos estes autores, a epidemiologia da Rubéola nas Ilhas «é claramente diferente da que ocorre em terras continentais, mas não parece existir um padrão insular comum» (EVANS, 1976).

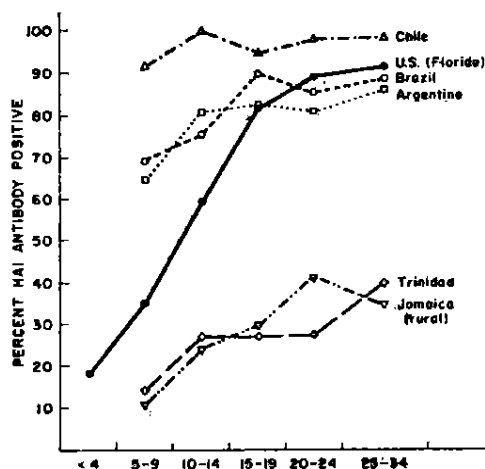
Por exemplo, na Formosa, uma Ilha de clima semitropical com alta densidade populacional e comunicações fáceis, registaram-se epidemias de Rubéola em 1944, 1957/58 e 1968/69 que sempre se iniciaram no norte e progrediam para o sul da Ilha, se extinguíam e deixavam, ainda, considerável número de susceptíveis.

GALE e Col. tiveram oportunidade de efectuar, em 1966, um inquérito virológico em crianças nascidas após a epidemia de 1958 — 96% dessas crianças não possuíam anticorpos para os vírus, isto é, não circulavam Rubivirus na população. Nas Ilhas Barbados, o quadro pos-epidémico obtido foi similar, o que EVANS não consegue justificar, tanto mais que as Ilhas são visitadas por cerca de 250 000 turistas por ano. A situação é, ainda, mais intrigante porque existe perto da Ilha Formosa uma pequena Ilhota, Quemoy, em que a Rubéola é endémica, isto é, 97% dos seus habitantes possuem, a partir dos 6 anos de idade, anticorpos para os Rubivirus. No Japão, a Rubéola é, também, endémica mas com picos epidémicos.

RAWLS afirma que não há epidemias de Rubéola próximo da linha do Equador. Em 1972, em inquéritos bem planeados, verificou que as mulheres nos Estados Unidos, Canadá e Europa, isto é, regiões a 30° latitude norte, tinham uma susceptibilidade média para a Rubéola de 15,5%; na Austrália, Nova Zelândia e alguns países sul americano, todos a latitudes 30° Sul, a susceptibilidade das mulheres era significativamente mais alta; em 6 áreas geográficas da Zona Equatorial, a susceptibilidade para a Rubéola atingia o alto valor significativo de 36%; para BISNO, a observação de que nas Trindades (10° norte do Equador) apenas se desenvolvem epidemias de Rubéola em pequenas comunidades, é mais um argumento a favor das teses (discutíveis) de RAWLS. São no verdade, necessários mais estudos epidemiológicos sobre este aspecto da Rubéola.

### 1.3. — Factores individuais de idade, sexo e etnia

Na era pré vacinal, considerava-se a Rubéola como uma virose característica da idade escolar, isto é, mais frequente dos 5 aos 9 anos, mas é muito marcada a variabilidade de idades da seroconversão em diferentes populações. Entre muitos outros, PAUL e WHITE (1973) compararam 5 países com os Estados Unidos, em que dos 15-19 anos, praticamente 80% da população já tem anticorpos para a Rubéola — no Chile, por exemplo, esta situação atinge-se, já, dos 5 aos 9 anos, enquanto que nas Ilhas Trindade e Jamaica nem aos 30 anos, 50% da população possui anticorpos (figura 3).



Não há diferenças na incidência da Rubéola quanto ao sexo, nem quanto à etnia, ainda que a tendência seja a de registar os fenómenos epidemiológicos sobretudo em relação com a população feminina, dado o tão importante aspecto da Rubéola adquirida in útero.

O risco da aquisição de Rubéola congénita depende, primariamente, do mês em que decorre a gestação. Acerca deste mal conhecido problema, muito ainda se vai escrever; mas, já em 1962, LUUDSTROM, publicando uma revisão de 15 estudos prospectivos de outros autores a que juntou a sua própria experiência,

adquirida após uma epidemia de Rubéola na Suécia em 1951, calculava que o risco de lesão fetal era de 33% quando a infecção materna ocorria no 1.º mês de gestação, 25% durante o 2.º mês, 9% no 3.º mês e, finalmente, 4% no 4.º mês. A tendência actual é de atribuir a maior importância não só (obviamente) às mal-formações diagnosticadas logo ao nascer, mas, sobretudo, àquelas que vêm a ser perceptíveis anos mais tarde.

Nos países que praticam a vacinação, o padrão epidemiológico da Rubéola tende a alterar-se: menor frequência da virose na idade escolar, com desvio para maior frequência na idade adulta, e aparecimentos de surtos epidémicos pontuais em pequenas comunidades de jovens e adultos (militares, colégios e universidades, hospitais, etc.), independentemente da estratégia da vacinação.

Nos Estados Unidos, por exemplo, o CDC, num estudo comparativo de dois períodos, 1963/67 (antes da vacinação) e 1969/72 (depois da vacinação) em 4 diferentes Estados, registou uma queda média anual de 12,8% de casos, por influência da vacinação. Mas, é necessário continuar pesquisas epidemiológicas neste campo por que o objectivo último da vacinação antirubéola não foi atingido: a erradicação da Rubéola congénita.

#### 1.4. — Mecanismos de transmissão, de patogenia e de imunidade

Já não estão em moda as «Rubella-parties»...mas saberemos muito mais sobre a transmissão dos Rubivirus do que há 30/20 anos?

A Rubéola é considerada menos contagiosa que outras viroses, como o Sarampo ou a Varicela. GREEN e Col. mostraram, experimentalmente, que a taxa de infecção é de somente 20% após contacto fortuito dos susceptíveis com a fonte da infecção, mas esta taxa aumenta quando as pessoas susceptíveis têm contactos por períodos prolongados, de tal modo que em surtos epidémicos em pequenas comunidades fechadas como quartéis ou instituições de deficientes mentais, se podem esgotar os 90 a 100% de susceptíveis.

A disseminação dos Rubivirus não é claramente conhecida, em todos os seus pormenores, já que os modelos animais não são muito adequados neste campo particular — assim, os dados têm sido obtidos em voluntários humanos. Mas há desde logo, uma muito importante referência — a Rubéola congénita e a Rubéola

adquirida são «manifestações finais de processos patológicos fundamentalmente diferentes» (CRISTIE, 1974).

Na Rubéola adquirida depois do nascimento, o hospedeiro e o agressor contactam por um período de tempo mais ou menos longo — entram em jogo os mecanismos imunitários do hospedeiro e, raramente, as lesões patológicas se traduzem por graves destruições; pelo contrário, na forma congénita, a despeito da produção de anticorpos, os vírus replicam nas células do hospedeiro, durante meses, de tal modo que, em certos casos, este fenómeno interfere com o crescimento normal das células causando lesões irreparáveis nos órgãos em desenvolvimento; em outros casos, só temporariamente as células são afectadas e, daí, apenas lesões funcionais; finalmente, em outras circunstâncias, vírus e células hospedeiras estabelecem equilíbrio (CRISTIE designa o fenómeno como «comensalismo») e não há praticamente desvio das actividades metabólicas das células.

Os Rubivirus persistem na natureza, porque são excretados pelos indivíduos doentes e logo precisam de encontrar hospedeiros susceptíveis — no caso da Rubéola pós-natal, são as secreções orofaríngeas que os contêm e a infecção associa-se, primeiramente, com as células da mucosa respiratória do hospedeiro susceptível — os Rubivirus persistem nas secreções desde cerca de 1 semana antes do exantema até 1 semana após o exantema, num tempo máximo de 26 dias após o contacto infectante. Sob o ponto de vista epidemiológico, é muito importante conhecer exactamente este aspecto da Rubéola, dadas as suas implicações no caso das grávidas susceptíveis que contactem com transmissores. Recentemente, os virologistas finlandeses, SEPPALA e VAHERI, encontraram vírus nas secreções cervicais 2 a 6 dias depois do início de exantema — resta relacionar esta observação com o perigo que, eventualmente, possa advir para um feto em desenvolvimento, e até que ponto, também, esta via de excreção tem influência na persistência dos vírus no meio.

No entanto, são os recém-nascidos e crianças com Rubéola congénita os principais disseminadores de vírus à sua volta. Sem fazer mais do que esquemáticas referências a um problema que se nos apresenta, ainda, com muitas incógnitas, podemos referir que parece ser a viremia da mãe que, provoca corionite seguida por pequenos emboli infectados que vão circular no sistema vascular fetal. Para

uns, a placenta e feto infectam-se ao mesmo tempo; para outros, a infecção fetal é consequência de infecção da placenta — o importante, epidemiologicamente, é que a infecção persiste no feto, e recém-nascidos que adquiriram a infecção no 1.º trimestre ainda excretam vírus, ao nascer, pela urina, fezes, líquido céfalo-raquidiano e secreções faríngeas. Esta secreção vírica vai diminuindo ao longo do 1.º ano de vida. Segundo COOPER e KRUGMAN, 90% dos recém nascidos com síndrome de Rubéola congénita são excretores ao nascer, e 17% deles continuam para além dos 12 meses — MENSER publicou um isolamento de Rubivírus do cristalino de uma criança com 3 anos de idade com Rubéola congénita. São, pois, nas maternidades, infantários, etc., potencialmente perigosos transmissores para mulheres grávidas.

O padrão da secreção de vírus nos vacinados, contudo, é diferente daquele que se observa na infecção natural. Há um período de tempo menor na excreção nasofaríngea, e a dose infectante é, também, menor.

Segundo MAYER, a taxa mais alta de isolamento de vírus nos vacinados obtém-se entre o 10.º e o 15.º dias após a vacinação, e excretam cerca de 1/100 do TDC<sub>50</sub> dos indivíduos com infecção natural. Ora, estes dados têm o maior interesse epidemiológico, pois haveria que contar com uma eventual disseminação de vírus dos vacinados para os seus contactos — no caso da Rubéola parece que o baixo teor da excreção e a atenuação dos próprios vírus não favorecem a sua disseminação, para o grupo populacional que neste caso mais interessaria preservar — o das grávidas.

LEVINE e col e FLEET e col, em estudos de índole diversa mas que se revestem de grande importância epidemiológica, estudaram o problema. LEVINE (1974) observou um total de 55 mulheres susceptíveis que foram vacinadas com diferentes vacinas durante a gestação ou nos 2 meses prévios à concepção. Após interrupção das gestações, foram examinados os fetos quanto à presença de vírus. De 33 mulheres que receberam a estirpe HPV-77, isolaram-se vírus da placenta ou decídua de 8, e de um feto; 12 mulheres receberam vacina CENDEHILL, e destas somente 1 feto continha vírus; 6 receberam vacina RA 27/3 e de nenhuma se recuperaram vírus; de 4 mulheres vacinadas com vacinas não referenciadas, 1 feto de uma delas e 1 placenta de outra, continha vírus.

Por sua vez, FLEET (1975) efectuou um inquérito numa população de 11 635 mulheres e seus bebés, após uma vacinação antirubéola de 24 000 crianças. Não recuperou vírus da orofaringe de 10 951 recém nascidos, nem tão pouco de 240 produtos de abortos efectuados no mesmo período de tempo.

Ambos os estudos levam à conclusão de que o risco para o feto por vírus se limita à eventual vacinação materna durante a gestação, acentuando-se que o potencial teratogénico dos vírus vacinais é real embora ainda mal definido — mais uma área que necessita de investigação.

Finalmente, algumas notas muito superficiais sobre a imunidade para a Rubéola, distinguindo a imunidade pós-natal, primária, após a infecção congénita e consequente à vacinação.

A agressão vírica estimula a produção de anticorpos, demonstráveis por diversas técnicas laboratoriais. Os três grandes grupos de anticorpos são:

- os de inibição de hemaglutinação (IHA)
- os de fixação de complemento (FC)
- os de neutralização (N)

Afastando, propositadamente, referências acerca das novas tecnologias que permitiram aprofundar a interpretação da imunologia da Rubéola, sob o ponto de vista epidemiológico, o esquema que interessa fixar é o seguinte:

- a) — Na Rubéola primária pós-natal, os anticorpos de IHA são os primeiros a ser detectados; demonstram-se 15 a 16 dias após o contacto infectante, atingem o seu valor máximo ao 30.º dia e, embora declinem um pouco, persistem toda a vida. Os anticorpos de FC desenvolvem-se cerca de 30 dias após o contacto, aumentam lentamente, o seu pico máximo aparece 1 a 2 meses depois, e deixam de ser doseáveis 3 a 4 meses após o contacto. Quanto aos anticorpos N, aparecem cerca de 2-3 dias depois dos anticorpos IHA, sobem rapidamente, atingem o seu maior valor aos 35 dias e permanecem toda a vida. Na prática, raramente é usado este parâmetro, por dificuldades meramente técnicas. Quanto às imunoglobulinas, IgM e IgA específicas, são as primeiras a circular no sangue, por

vezes tão precocemente que antecedem o exantema, atingem o seu pico mais alto aos 25 dias e, para grande número de autores, declinam até 50 a 60 dias depois da infecção.

As IgG sobem rapidamente desde a 1.<sup>a</sup> semana e persistem durante longo tempo depois da infecção.

O carácter transitório das IgM específicas da Rubéola torna-as extremamente úteis como «marcadores» numa infecção primária — a sua persistência parece relacionar-se com situações anormais (infecção intrauterina, complicações articulares, etc.).

- b) — Na *Rubéola congénita*, o quadro imunológico é extremamente complexo — em geral o lactente tem títulos sericos iguais ou superiores aos da mãe, em anticorpos de IHA. A IgM específica de Rubéola é produzida pelo feto; após o seu nascimento, e à medida que a sua idade avança, a IgG materna é gradualmente substituída pela que ele próprio produz, atingindo o seu valor máximo aos 12 meses. Sob o ponto de vista de diagnóstico, a persistência de qualquer tipo de anticorpos para Rubéola (FC, IHA, N) e de imunoglobulinas específicas IgM e IgG num lactente para além dos 8-12 meses de idade, deve ser considerada como prova de infecção in útero (RHODES, 1977).

- c) — Na *Rubéola post vacinal*, há uma certa diversidade de produção de anticorpos (qualitativa e quantitativamente), consoante o tipo de vacina usada.

Presentemente, é possível usar em vacinação 3 diferentes estirpes de vírus atenuados: *HPV-77* e *Cendehell* (geralmente em uso nos Estados Unidos) e *RA 27/3* (mais utilizada na Europa).

As vacinas diferem entre si pela taxa de seroconversões que provocam, pelo tipo de anticorpos que o vacinado produz, pelas reacções secundárias que as acompanham, pelo tempo em que se mantem o mesmo título de anticorpos circulantes, e ainda, pela maior ou menor eficiência em relação com a via de administra-

ção. Sob o ponto de vista epidemiológico, há que resolver uma questão muito importante e para a qual não se obteve ainda um consenso — quanto tempo persistem os anticorpos induzidos pela vacina?

Se os anticorpos vacinais vão desaparecendo dum modo semelhante aos anticorpos post-infecção primária, então ao chegar à idade de procreação, as raparigas vacinadas na infância podem já não possuir anticorpos protectores.

Por outro lado, outros autores supõem que os anticorpos post-vacinais têm um rápido desaparecimento e, assim, mesmo que se vacinem indivíduos na adolescência, podem chegar à idade adulta sem protecção. A tendência actual é de supor que os anticorpos vacinais têm um comportamento semelhante aos anticorpos naturais (sobretudo se for utilizada a estirpe RA 27/3), e daí o seu uso cada vez maior.

Qualquer que seja a estratégia da vacinação, não existem ainda dados suficientemente comprovados que nos permitam optar, sem hesitação, por um ou outro — isto é, vacinar todas as crianças antes da idade escolar ou, apenas, as raparigas adolescentes e as mulheres susceptíveis em idade de procreação.

Não existem muitas publicações acerca da Rubéola na população portuguesa — desconhece-se a idade de seroconversão, desconhece-se o impacto da Rubéola congénita no conjunto mais amplo das malformações, vacina-se cada indivíduo consoante o conceito «pessoal» do seu médico (e, até, consoante a sua própria vontade, grau de cultura ou possibilidades económicas), fazem-se interrupções de gravidez baseadas em diagnósticos imprecisos (já temos tido ocasião de testemunhar tal facto), outras vezes é o clínico que não sabe ou não deseja informar concretamente sobre o «risco» da gestante (também são situações da nossa experiência pessoal) e, finalmente, porque pensamos que a Rubéola não é um «problema resolvido», quisemos contribuir com a publicação desse aspecto da nossa experiência pessoal, a que outros, oportunamente se irão acrescentando.

## UM SURTO EPIDÉMICO DE RUBÉOLA NUMA POPULAÇÃO FEMININA ADULTA NO NORTE DE PORTUGAL

Em Janeiro de 1976, a Dr.<sup>a</sup> Maria Tigre, médica duma empresa fabril (Ph), comunicou ao Laboratório de Virologia que se desencadeara um surto epidémico de Rubéola em trabalhadoras daquela empresa e pedia o nosso apoio para determinar o risco decorrente da virose em mulheres grávidas a seu cargo; a quando da primeira visita à empresa, fomos informados que em outras unidades fabris da zona se declararam situações semelhantes, e, deste modo, tivemos oportunidade de observar trabalhadoras de mais 5 empresas.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### 1. Localização das empresas fabris

As empresas fabris (Ph, Rb, Fr, Sc, Fn, e Fp) situam-se a 35 km do Porto, no Concelho de Ovar (figura 4).

O Concelho de Ovar tem aproximadamente, 18 000 habitantes e 160 km<sup>2</sup> de superfície; de características rurais, possui, no entanto, algumas unidades industriais disseminadas.

#### 2 População observada

Nas 6 empresas acima referidas, trabalhavam em Janeiro de 1976, um total de 1776 homens e 1137 mulheres, das quais 86 (7%) estavam grávidas.

Após reuniões com os trabalhadores das empresas a quem se expôs o significado médico especial da Rubéola, increveram-se para observação epidemiológica *todas* as mulheres grávidas, 70% das mulheres não grávidas, e 1 homem, no total de 824 indivíduos (quadro I).

A residência e as ideias da população observada, assim como o tempo de gestação das 86 grávidas, estão indicadas nos quadros II, III e IV.

#### 3. Protocolo da observação clínica e estudo serológico da população

3.1. — Em fichas individuais, registaram-se além da identificação (nome, mora-

da, idade, eventual estado de gestação), o *exame clínico sumário* a que procedemos, apenas relacionado com o diagnóstico da Rubéola e antecedentes pessoais dos últimos 2 meses que pudessem ser esclarecedores da situação. Em 1980, enviaram-se circulares às grávidas que tiveram Rubéola em 1976, com o objectivo de recolher informações sobre os seus filhos; compareceram 36 dessas mulheres.

3.2. — Efectuaram-se colheitas de sangue em todas as mulheres inscritas, de 28 de Janeiro a 24 de Fevereiro, mas 70% das colheitas foram efectuadas em 28 e 29 de Janeiro. Em todas as grávidas, nas mulheres com exantema típico de Rubéola ou com sintomatologia clínica eventualmente relacionada com a virose (ex. síndrome «gripal», faringite, tosse, adenopatias, dores articulares, etc.), recolheu-se uma 2.<sup>a</sup> amostra de sangue, em regra, 7 a 21 dias após a primeira.

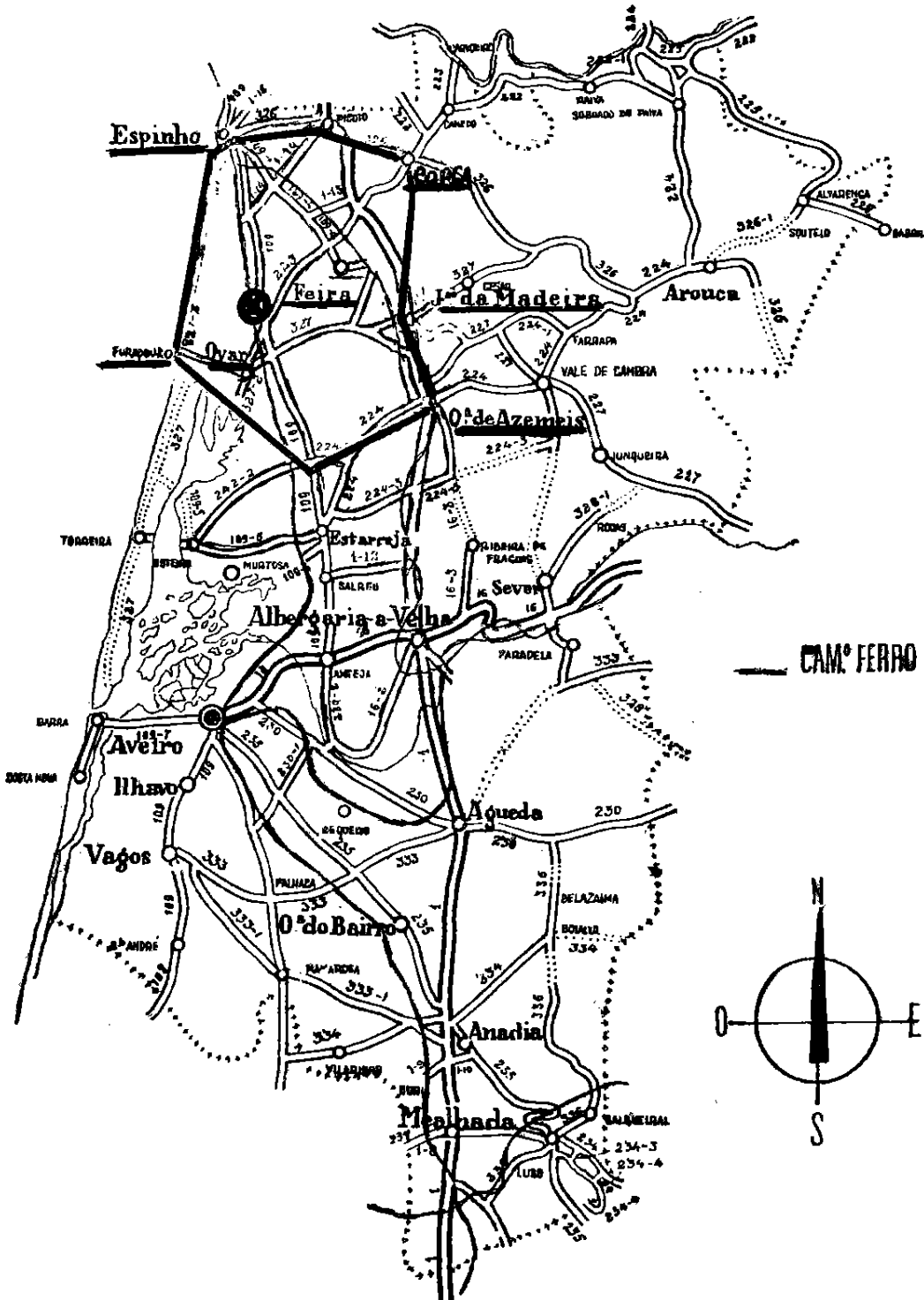
Em 1978, num grupo de mulheres não imunes durante o surto epidémico de 1976, efectuou-se uma terceira colheita de sangue.

3.3. — O diagnóstico serológico da Rubéola foi comprovado por: — doseamento de anticorpos de inibição de hemaglutinação (IHA), segundo a técnica do «CDC standardized haemagglutination — inhibition test», com tratamento prévio dos soros pela mistura de cloreto manganoso — heparina, utilizando-se antigénio comercial (Flow e Behringwerke);

— separação, em colunas de Sephadex G200 (20×40 Pharmacia), das imunoglobulinas séricas e doseamento da actividade hemaglutinante das fracções obtidas IgM/IgA, para o antigénio Rubéola, de acordo com as técnicas de PATTISON, MACE e col.

# ESTRADAS E CAMINHOS DE FERRO

## DISTRITO DE AVEIRO



QUADRO I

População observada (823 M e 1 H) em relação com o total de trabalhadores (1137 M e 1776 H) das empresas fabris Ph; Rb; Fr; Sc; Fm e Fp

	POPULAÇÃO FABRIL							POPULAÇÃO OBSERVADA							%
	Ph	Rb	Fr	Sc	Fm	Fp	TOTAL	Ph	Rb	Fr	Sc	Fm	Fp	TOTAL	
Homens	103	379	962	145	94	93	1776	1	0	0	0	0	0	1	—
Mulheres grávidas	50	6	23	4	1	2	86	50	6	23	4	1	2	86	100
Mulheres não grávidas	487	164	201	106	75	18	1051	355	115	123	80	51	13	737	70
Total	640	549	1186	255	17	113	2913	406	121	146	84	52	15	824	

QUADRO II

Residência das mulheres observadas (823)

Residência	Ph	Rb	Fr	Sc	Fn	Fp	TOTAL
Ovar	225	104	124	52	50	12	567
Arada	—	6	4	—	—	—	10
Avanca	23	2	3	—	—	—	28
Valega	—	4	5	5	—	—	14
V. Feira	56	1	1	5	—	—	63
Espinho	19	3	—	2	—	—	24
S. F. Marinha	—	1	—	—	—	—	1
Furadouro	7	—	8	6	2	3	26
S. João da Madeira	—	—	1	1	—	—	2
Cortegaça	14	—	—	3	—	—	17
Torreira	—	—	—	10	—	—	10
Paramos	28	—	—	—	—	—	28
Esmoriz	26	—	—	—	—	—	26
Travanca	4	—	—	—	—	—	4
Oliveira Azemeis	3	—	—	—	—	—	3
<b>Total</b>	<b>405</b>	<b>121</b>	<b>146</b>	<b>84</b>	<b>52</b>	<b>15</b>	<b>823</b>

**QUADRO III**  
**Idade das Mulheres Observadas (823)**

IDADE (anos)	MULHERES OBSERVADAS
16	4
17	19
18	58
19	101
20	100
21	77
22	74
23	67
24	61
25	46
26	39
27	30
28	20
29	14
30	17
≥31	96
<b>TOTAL</b>	<b>823</b>

**QUADRO IV**  
**Distribuição das mulheres grávidas (86) segundo o tempo da gestação**

Tempo da Gestação (Semanas)	NÚMERO DE MULHERES							GRUPO	
	Ph	Rb	Fr	Sc	Fn	Fp	TOTAL		
Até à 4. <sup>a</sup>	6	—	—	—	—	—	8	37	A
5. <sup>a</sup> à 7. <sup>a</sup>	8	—	2	1	—	—	9		
8. <sup>a</sup> à 12. <sup>a</sup>	10	3	5	1	—	—	20		
13. <sup>a</sup> à 20. <sup>a</sup>	9	1	3	1	—	1	14	14	B
≥ 21. <sup>a</sup>	17	2	13	1	1	1	35	35	C
<b>TOTAL</b>	<b>50</b>	<b>6</b>	<b>23</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>86</b>		

## RESULTADOS

### 1. Observação clínica

De acordo com os exames clínicos sumários a que procedemos e, também baseados em informações prestadas pela Dr.<sup>a</sup> Maria Tigre e Enfermeira Angela, a população observada em Janeiro/Fevereiro de 1976 podia ser agrupada em:

Grupo I — sem doença clínica aparente.

Grupo II — com extrema máculo popular típico de Rubéola (e, por vezes, outros sinais clínicos).

Grupo III — com, pelo menos, 2 sinais clínicos de Rubéola mas sem exantema.

No seu conjunto, totalizaram:

— Grupo I	761 (695 não grávidas e 66 grávidas)
— Grupo II	40 (+ 1 homem)
— Grupo III	22
<b>TOTAL</b>	<b>823 (+ 1 homem)</b>

### 2. Estudo serológico da população

2.1. — Num total de 737 mulheres não grávidas, 695 não apresentavam doença clínica aparente; em 31 foi observado um quadro clínico de Rubéola e em 11 pôde verificar-se um conjunto de

sintomatologia sugestiva da virose. Os quadros V, VI e VII resumem os resultados obtidos.

2.2. — Num total de 86 grávidas, distribuídas consoante o seu tempo de gestação em 3 grupos (A, B e C, quadro IV), efectuaram-se o doseamento de anticorpos de IHA e a pesquisa de imunoglobulinas específicas de Rubéola, cujos resultados se encontram nos quadros VIII, IX, X e XI.

2.3. — A nosso pedido a Dr.<sup>a</sup> Maria Antonieta Mansilha (Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar) calculou a partir de tabelas de números casualizados, uma amostra significativa de mulheres não grávidas, cujo título de anticorpos de IHA fora previamente determinado e que na data da colheita (28.1.76) não apresentavam doença clínica aparente (quadro XII). Depois de tabulados, a amostragem calculada (31 soros) correspondia às mulheres cujas fichas se mostram no quadro XIII. Foi efectuada a pesquisa de imunoglobulinas específicas após fraccionamento dos soros de Sephadex, e os resultados finais obtidos estão registados no quadro XIV

Nas 3 últimas colunas do quadro inicial (quadro XII) estão calculadas as proporções «p», as complementares «q» das proporções e as suas

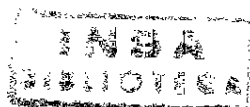
### QUADRO V

Título de anticorpos de IHA em 695 mulheres grávidas, sem doença aparente, expostas aos casos de Rubéola

IHA (Inverso)	MULHERES NÃO GRAVIDAS						TOTAL	%
	Ph	Rb	Fr	Sc	Fn	Fs		
≥ 8	39	26	22	8	4	6	105	15,1
16	31	45	19	21	13	2	131	84,9
32	92	23	46	27	12	3	203	
64	113	14	25	23	20	1	196	
128	42	5	9	3	1	—	60	
<b>TOTAL</b>	<b>317</b>	<b>113</b>	<b>121</b>	<b>82</b>	<b>50</b>	<b>12</b>	<b>695</b>	<b>100</b>

NÃO IMUNES = 15,1%

IMUNES = 84,9%



QUADRO VI  
Mulheres não grávidas com Exantema rubeliforme (31 casos)

N.º de ordem	N.º de ficha	Data 1.ª/2.ª Colheita	Informação Clínica	Título* IHA (inverso)	Pesquisa** IgM específica	Conclusão
1	13	28-1 5-2	Exantema	<8 32	Positiva	Rubéola
2	81	28-1 5-2	Exantema, adenopatias, febre	<8 32	Positiva	»
3	82	28-1 5-2	Exantema, rinite, tosse	8 128	Positiva	»
4	83	28-1 12-2	Exantema	128 256	Positiva	»
5	99	28-1 5-2	Exantema, febre	128 256	Positiva	»
6	84	29-1 5-2	Exantema, adenopatias, febre	128 128	Positiva	»
7	85	29-1 12-2	Exantema, febre	16 64	Positiva	»
8	125 c	29-1 5-2	Exantema, febre	32 32	Positiva	»
9	131 b	29-1 5-2	Exantema, febre	128 32	Positiva	»
10	133 c	29-1 12-2	Exantema, cefaleia, febre	64 256	Positiva	»
11	150 c	29-1 12-2	Exantema	<8 256	Positiva	»
12	159 c	29-1 —	Exantema, cefaleia, febre	8	Positiva	»
13	164 b	29-1 5-2	Exantema, febre	32 128	N.E.***	»
14	186 c	29-1 5-2	Exantema, adenopatias, faringite	256 256	Positiva	»
15	93	5-2 19-2	Exantema, faringite, febre	128 128	Positiva	»
16	94	5-2 12-2	Exantema, febre, tosse, conjuntivite	64 128	Positiva	»
17	95	5-2 12-2	Exantema, adenopatias, epistaxis	64 128	Positiva	»
18	96	5-2 12-2	Exantema, febre, rinite, cefaleia	32 128	Positiva	»
19	97	5-2 12-2	Exantema fugaz, febre	128 128	Positiva	»
20	98	5-2 12-2	Exantema	128 128	Positiva	»
21	100	5-2 12-2	Exantema	256 256	Positiva	»
22	101	5-2 12-2	Exantema	256 256	Positiva	»
23	69	9-2 —	Exantema	128	Positiva	»
24	102	12-2 19-2	Exantema, febre	256 256	Positiva	»
25	390	15-2 26-2	Exantemas, adenopatias, febre	64 128	N.E.***	»
26	228	17-2 26-2	Exantemas, adenopatias, febre	8 32	N.E.***	»
27	106	19-2 —	Exantemas, adenopatias, febre	128	Positiva	»
28	340	24-2 —	Exantema, febre	64	Positiva	»
29	378	24-2	Exantema, febre	128	Positiva	»
30	504	26-2	Exantema	64	Positiva	»
31	560	26-2 1-4	Exantema	8 64	N.E.***	»

\*IHA = título de anticorpos de inibição de Hemaglutinação para o antígeno Rubéola.

\*\*POSITIVA = título de anticorpos de IHA na fracção IgM  $\geq 40$ , em, pelo menos, 1 amostra.

\*\*\*NE = não executado.

QUADRO VIII  
Situação clínica e serológica de 37 grávidas (grupo A)

N.º de Ordem	N.º de Ficha	Tempo Gestação	Data 1.ª/2.ª colheita	Informação Clínica	Título* IHA	Pesquisa** IgM	Conclusão
1	15	4 semanas	28-1 12-2	Sem doença aparente	32 32	Negativa	Imune
2	34	4 »	28-1 12-2	» »	516 256	Positiva	Rubéola
	Idem	20 »	28-6 10-7		32 32	Negativa	
3	167 b	4 »	28-1 12-2	Febre, laringite	<8 32	Positiva	Rubéola
4	184 c	4 »	28-2 12-2	Sem doença aparente	16 16	Negativa	Imune
5	211 c	4 »	28-1 12-2 4-3	Sem doença aparente	<8 8	Positiva	Rubéola
				Sem doença aparente febre, síndrome gripal	123		
6	342	4 »	9-2 26-2	Sem doença aparente	64 64	Negativa	Imune
				Febre conjuntivite, cefaleia intensa	8	Positiva	Rubéola
8	349	4 »	24-2 20-4	Sem doença aparente	32 32		Imune
9	6	6 »	28-1 5-2	Sem doença aparente	32 32	Negativa	Imune
10	8	6 »	28-1 5-2	Sem doença aparente	64 256	Negativa	Reinfecção
11	10	6 »	28-1 5-2	» »	32	Negativa	Imune
12	11	6 »	28-1 13-2 20-4	» »	<8 <8	Negativa	Não imune
				» »	<8		
13	19	6 »	28-1 5-2	Exantema, amigdalite, febre	64 128	Positiva	Rubéola
14	23	6 »	28-1 5-2		32 32	Negativa	Imune
15	102 c	6 »	29-1 12-2	Sem doença aparente	16	Positiva	Rubéola
				Exantema, febre, adenopatias	128		
16	132	6 »		Sem doença aparente	64 64	Positiva	Rubéola
17	296	6 »	19-3 27-9	» »	<8 <8	N.E.***	Não imune
18	7	8 »	28-1 5-2	Exantema, febre, amigdalite, adenopatias	<8 8	Positiva	Rubéola
19	20	8 »	28-1 5-2	Exantema, febre, adenopatias	64 64	Positiva	Rubéola
				suboccipital	64		
20	36	8 »	9-2 26-2	Sem doença aparente	16 16	N.E.***	Imune
21	301	8 »	24-2 20-3	» »	32 32	N.E.***	Imune
22	346	8 »	24-2 20-3	» »	64 64	Negativa	Imune
				» »	64		
23	411	8 »	24-2 20-3	» »	64 64	N.E.***	Imune
				» »	64		
24	415	8 »	26-2 20-3	» »	<8 <8	N.E.***	Não imune
25	526	8 »	28-1 5-2	» »	64 64	Negativa	Imune
				» »	64		
26	14	10 »	28-1 5-2	Síndrome gripal	64 64	Positiva	Rubéola
27	16	10 »	28-1 5-2	Sem doença aparente		Positiva	Rubéola
28	17	10 »	28-1 5-2	Síndrome gripal	128 32	Positiva	Rubéola
				Sem doença aparente	32		
29	18	10 »	28-1 5-2	Sem doença aparente	128 32	Negativa	Imune
				» »	64 256	Positiva	Rubéola
30	21	10 »		» »	64 256	Positiva	Rubéola
				» »	16 16	Negativa	Imune
31	100 c	10 »	29-1 5-2	» »	16 16	Negativa	Imune
				» »	<8 <8	Negativa	Não imune
32	4	12 »	28-1 5-2 20-3	» »	<8 <8	Negativa	Não imune
				» »	<8		
33	9	12 »	28-1 5-2	Síndrome gripal	<8 8	Positiva	Rubéola
34	22	12 »	28-1 5-2	Sem doença aparente	64 32	Negativa	Imune
				» »	16 16	N.E.***	Imune
35	405	12 »	26-2 20-3	» »	64 32	Negativa	Imune
				» »	32		
36	514	12 »	26-2 20-3	» »	64 32	Negativa	Imune
				» »	32		
37	525	12 »	26-2 20-3	» »	32 32	Negativa	Imune

\*IHA = título de anticorpos de inibição de Hemaglutinação para o antígeno Rubéola.

\*\*POSITIVA = título de anticorpos de IHA na fracção IgM  $\geq$  40, em, pelo menos, 1 amostra.

\*\*\*NE = não executado.

QUADRO X  
Situação clínica e serológica de 35 grávidas (grupo C)

N.º de Ordem	N.º de Ficha	Tempo Gestação	Data 1.º/3.ª colheita	Informação Clínica	Título* IHA	Pesquisa** IgM	Conclusão
1		22 semanas	24-2 10-3	Sem doença aparente	16 16	—	Imune
2		24 »	24-2 10-3	» » »	16 16	—	Imune
3		24 »	24-2 10-3	Exantema, febre amigdalite	64 64	—	Imune
4		24 »	24-2 10-3	Exantema, febre	16 16	—	Imune
5		24 »	24-2 10-3	Sem doença aparente	32 32	—	Imune
6		24 »	24-2 10-3	» » »	16 16	—	Imune
7		24 »	24-2 10-3	» » »	64 64	—	Imune
8		24 »	24-2 10-3	Amigdalite	32 32	—	Imune
9		24 »	24-2 10-3	Sem doença aparente	32 32	—	Imune
10		24 »	28-1 5-2	Exantema, febre adenopatia retroamicular	16 128	Positiva	Rubéola
11		24 »	9-2	Sem doença aparente	64	Positiva	Rubéola
12		24 »	28-1 5-2	» » »	32 128	Positiva	Rubéola
13		24 »	28-1 5-2	Alergia na 1.ª semana de Janeiro	32 128	Positiva	Rubéola
14		24 »	24-2 20-3	Síndrome gripal	8 8	N.E.***	Não imune
15		24 »	28-1 25-2	Síndrome gripal	<8 <8	Negativa	Não imune
16		26 »	28-1 5-2	Sem doença aparente	32 64	Negativa	Imune
17		26 »	28-1 5-2	» » »	128 64	Positiva	Rubéola
18		28 »	26-2 20-3	» » »	<8 <8	N.E.***	Não imune
19		28 »	26-2 20-3	» » »	<8 <8	N.E.***	Não imune
20		28 »	28-1 12-2	» » »	32 256	Negativa	Reinfecção
21		28 »	28-1 5-2	» » »	<8 32	Positiva	Rubéola
22		28 »	28-1 5-2	» » »	64 64	Positiva	Rubéola
23		28 »	5-2 10-3	» » »	64 64	Negativa	Imune
24		30 »	28-1 25-2	» » »	<8 <8	Negativa	Não imune
25		30 »	26-2	Síndrome gripal, astralgias, febre	16	N.E.***	Imune
26		30 »	28-1 5-2	Sem doença aparente	128 64	Negativa	Imune
27		30 »	29-1 5-2	» » »	32 32	Negativa	Imune
28		32 »	28-1 12-2	» » »	32 32	Negativa	Imune
29		32 »	28-1 5-2	Sem doença aparente	32 32	Negativa	Imune
30		32 »	28-1 5-2	» » »	<8 <8	Negativa	Não imune
31		32 »	24-2 26-2	» » »	<8 <8	N.E.***	Não imune
32		32 »	28-1 5-2	» » »	<8 32	Positiva	Rubéola
33		36 »	24-2	» » »	32	N.E.***	Imune
34		36 »	28-1 5-2	» » »	64 64	N.E.***	Imune
35		26 »	24-2	» » »	32	Negativa	Imune

\*IHA = título de anticorpos de inibição de Hemaglutinação para o antígeno Rubéola.

\*\*POSITIVA = título de anticorpos de IHA na fracção IgM  $\geq 40$ , em, pelo menos, 1 amostra.

\*\*\*NE = não executado.

QUADRO VII

Mulheres não grávidas com Rubéola confirmada serologicamente (11 casos)

N.º de Ordem	N.º de Ficha	Data da 1.ª colheita	Informação clínica	Título IHA (inversa)*	Pesquisa IgM**	Conclusão
1	51	28-1	Síndrome gripal	256	Positiva	Rubéola
2	116	29-1	» »	128	»	»
3	118	29-1	» »	128	»	»
4	127	29-1	Febre, astenia	512	»	»
5	141 b	29-1	Síndrome gripal	256	»	»
6	162	29-1	» »	32	»	»
7	163	29-1	» »	256	»	»
8	165 c	29-1	Febre, faringite, cefaleia	128	»	»
9	103	12-2	Febre, faringite, tosse	256	»	»
10	341	24-2	Síndrome gripal	128	»	»
11	365		» »	128	»	»

\* — IHA = título de anticorpos de inibição de Hemaglutinação para o antígeno Rubéola.

\*\* — POSITIVA = título de anticorpos de IHA na fracção IgM  $\geq 40$ , em, pelo menos, 1 amostra.

QUADRO IX

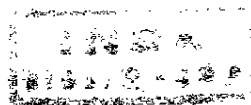
Situação clínica e serológica de 14 grávidas (grupo B)

N.º de Ordem	N.º de Ficha	Tempo Gestação	Data 1.ª 2.ª colh.	Informação clínica	Título* IHA	Pesquisa** IgM	Conclusão
1	24	14 semanas	28-1 5-2	Síndrome gripal	64 64	Negativa	Imune
2	104	14 »	12-2 19-2	S/ doença aparente	128 32	Positiva	Rubéola
3	41	16 »	28-1 5-2	» » »	32 16	Negativa	Imune
4	25	16 »	28-1 12-2	» » »	64 64	Negativa	Imune
5	38	16 »	28-1 5-2	Síndrome gripal, tosse, febre, rinite	64 128	Positiva	Rubéola
6	69	16 »	10-2 20-2	Exantema, febre epistaxis	128 128	Positiva	Rubéola
7	345	16 »	24-2 10-3	S/ doença aparente	<8 <8	N.E.***	Não imune
8	505	16 »	24-2 10-3	» » »	<8 <8	N.E.***	» »
9	410	16 »	24-2 10-3	» » »	64 64	Negativa	Imune
10	212	18 »	13-2 24-2	» » »	32 32	N.E.***	Imune
11	26	20 »	28-1 5-2	Alergia no 1.º mês de gestação	128 128	Negativa	Imune
12	27	20 »	28-1 5-2	S/ doença aparente	32 32	Negativa	Imune
13	35	20 »	28-1 5-2	» » »	64 128	Positiva	Rubéola
14	221	20 »	9-2 10-3	» » »	64 32	Negativa	Imune

\*IHA = título de anticorpos de inibição de Hemaglutinação para o antígeno Rubéola.

\*\*POSITIVA = título de anticorpos de IHA na fracção IgM  $\geq 40$ , em, pelo menos, 1 amostra.

\*\*\*NE = não executado.



QUADRO XI

Situação clínica e serológica das 86 grávidas durante o surto epidêmico de Rubéola nas empresas fabris Ph, Rb, Fr, Sc, Fn e Ep

Gestação Tempo de (semanas)	Imu- nes	Não Imu- nes	Rubé- ola com e sem exan- tema, IgM	RE-IN- FEC- ÇÃO	TOTAL
Até 12. <sup>a</sup> (grupo A)	18	4	14	1	37
13. <sup>a</sup> à 20. <sup>a</sup> (grupo B)	8	2	4		14
≥ 22. <sup>a</sup> (grupo C)	19	7	8	1	35
TOTAL	45	13	26	2	86

QUADRO XII

Cálculo de uma amostragem significativa (31 soros) incluídos numa população de 322 mulheres não grávidas, sem doença aparente

Títulos de IHA	Ni	f'	ni	mi	$p = \frac{m}{n}$	q	$s^2 = \frac{pq}{n}$
≤ 8	39	35%	5	2	2:5	3:5	0,048000
16	36	30%	4	1	1:4	3:4	0,046875
32	92	20%	7	3	3:7	4:7	0,034985
64	113	20%	9	3	1:3	2:3	0,024,691
128	42	35%	6	2	1:3	2:3	0,037037
TOTAL	322		31	11			

QUADRO XIII

Enumeração de 31 soros calculados pelas tabelas de números casualizados como amostragem significativa

IHA 8	IHA 16	IHA 32	IHA 64	IHA 128
89	78	58	5	110 a
106 b	138 a	70	145 a	72
125 b	175 a	106 a	168 a	165 a
153 b	147 c	142 a	152 b	136 b
180 c		173 b	168 b	157 b
		186 b	177 b	182 b
		210 c	184 b	
			105 c	
			178 c	
5	4	7	9	6

QUADRO XIV

Resultados da pesquisa de IgM/A específica de Rubéola em 31 soros, escolhidos segundo a tabela de números casualizados

IHA (Inverso)	Pesquisa de IgM/A posit.	Pesquisa de IgM/A negat	TOTAL
8	2	3	5
16	1	3	4
32	3	4	7
64	3	6	9
128	2	4	6
TOTAL	11	20	31

«variâncias». Em seguida, indagou-se da homogeneidade das variâncias, tendo, para tal, sido aplicado o teste de BARTLETT, que é um teste de  $X^2$  (qui quadro). O resultado do teste permitiu concluir que a variância média obtida ( $S^2 = 0,035586$ ) podia ser considerada como a variância de qualquer dos grupos.

Depois, verificaram-se as diferenças entre as proporções pelo teste «t», sendo possível concluir que nenhuma das diferenças é significativa (isto é, os títulos IHA usados para cada corte não diferiam significativamente entre si para a obtenção do resultado final). Assim, poderiam associar-se as diferentes amostras, com os resultados:

$$- n = 31 ; m = 11 ; p = \frac{11}{31} = 0,354839 ;$$

$$q = \frac{20}{31} ; S = \sqrt{\frac{pq}{n}} = 0,085935 ;$$

$$g.t = 30 ; t = 2,042 ; \text{limites fiduciais de «p» a 5\%:}$$

$$p \pm t \sqrt{\frac{pq}{n}} = \frac{11}{31} \pm 2,042 \times 0,085935 =$$

$$= 0,354839 \pm 0,175479$$

$$(0,179360 - 0,530317) - (17,94\% - 53,03\%)$$

Será, pois, de esperar:

	Valores Esperados	Limites fiduciais
p%	0,3548	0,1794-0,5303
	35,38	17,94-53,03
N=31	11	6-16
N=322	114	58-171

2.4 — Em 1978, obtivemos novas amostras de sangue de um grupo de mulheres que, em 1976, eram susceptíveis à Rubéola e não apresentaram qualquer sintomatologia da vírose, num total de 62.

A seroconversão dessas mulheres, num prazo de 38 meses, foi de 41/46 (66%), como se registou no quadro XV.

Foi-nos concedida a possibilidade de consultar as fichas clínicas das 16 mulheres da empresa Ph que fizeram seroconversão para a Rubéola entre Janeiro de 1976 e Março de 1978; para o quadro XVI, copiaram-se as ocorrências que figuravam nas suas fichas.

2.5 — O quadro XI resume a situação clínica e serológica das 86 grávidas que trabalhavam nas 6 empresas

QUADRO XV

Seroconversão para a Rubéola em 62 soros de mulheres não imunes em 1976

Empresas						%de Seroconversão
	N.º de soros	IHA	N.º de soros	IHA $\leq 8$	IHA $\geq 8$	
Ph	39	$< 8$	24	8	16	
Rb	26	$\leq 8$	20	7	13	
Fr	22	$\leq 8$	17	6	11	
Sc	8	$\leq 8$	—	—		
Fn	4	$\leq 8$	—	—		
Fp	6	$\leq 8$	1	—	1	
TOTAL	105		62	21	41	

QUADRO XVI

Dados clínicos registados (1978) num grupo de mulheres não imunes em 1976 e que fizeram seroconversão para Rubéola da empresa Ph

N.º de Ordem	N.º de Ficha	1976 IHA	1978 IHA	Dados Clínicos
1	125 b	$\leq 8$	$\geq 16$	sem dados registados
2	153 b	»	»	» » »
3	180 c	»	»	» » »
4	136 c	»	»	gripe (7-1-77)
5	148 b	»	»	
6	59	»	»	astenia, febre ((6-1-77)
7	197 c	»	»	febre,eczema? (23-3-76)
8	200 c	»	»	sem dados registados
9	158 a	»	»	gripe (25-3-76)
10	151 c	»	»	gripe (24-2-78)
11	148 c	»	»	gripe (13-12-77)
12	212 c	»	»	mal (estar geral, febre (6-5-77)
13	181 c	»	»	sem dados registados
14	179 c	»	»	gripe (17-2-78
15	80	»	»	» (29-1-77)
16	174 c	»	»	» (29-3-76)

estudadas. Às mulheres dos grupos A e B (51 no total), foi enviada uma carta-circular, convidando-as para uma entrevista, a fim de que pudessemos ajuizar das consequências do surto de Rubéola de 76. Compareceram 33 mulheres (quadro XVII), acompanhadas de seus filhos. Como orientação do exame clínico sumário a que procedemos, utilizamos o modelo da ficha da

Direcção Geral de Saúde «SAÚDE INFANTIL» (mod. CS/6) que incluímos em anexo e que nos permitiu agrupar, nos quadros XVIII e XIX, as conclusões do interrogatório das mães e observação clínica sumária dos filhos. Em alguns casos, obtivemos confirmação de dados pelos pediatras que, habitualmente, observaram essas crianças.

#### QUADRO XVII

Enumeração das observações clínicas efectuadas em 32 filhos das grávidas dos grupos A e B

GRUPO	IMUNES	NÃO IMUNES	CASOS DE RUBÉOLA	REINFECÇÃO
A	filhos observados 8 sem dados 10 8/18	filhos observados 2 sem dados 2 2/4	filhos observados 14 — 14/14	filhos observados 1 — 1/1
B	filhos observados 3 sem dados 5 3/8	filhos observados 0 sem dados 2 0/2	filhos observados 4 — 4/4	—
TOTAL	11/26	2/6	18/18	1/1

#### QUADRO XIX

Observação clínica de 6 filhos de 7 grávidas do grupo B

N.º de Ordem	N.º de Ficha	Gestação (semanas) diagnóstico	OBSERVAÇÃO CLÍNICA DOS FILHOS			
			Gestação	Parto	Peso e estatura ao nascer situação clínica em 1980	Médico/Serviço de Saúde
1	24	16/IMUNE	T	E	3700 gr.; 50 cm NORMAL	Médico/Serviço de Saúde
2	27	20/IMUNE	T	E	3750 gr.; 50 cm NORMAL	Dr. Santos/Aveiro
	41	20/IMUNE	T	E	3900 gr.; 50 cm NORMAL	Dr. Arez/Porto
4	26	20/IMUNE	6 meses	—	MORTE (prematuridade?)	—
5	35	20/RUBÉOLA	T	E	4300 gr.; 50 cm NORMAL	S.M.S. Estarreja
6	69	20/RUBÉOLA	T	E	3100 gr.; 51 cm NORMAL	C. Saúde Espinho
7	104	16/RUBÉOLA	T	E	3600 gr.; 50 cm NORMAL	Dr. Costa/Ovar

T = gestação de Termo  
E = eutócico

QUADRO XVIII  
Observação clínica de 22 filhos de 25 grávidas do grupo A

N.º de Ordem	N.º de Ficha	Gestação (semanas) diagnóstico	Gravidez	Parto	Peso e estatura ao nascer; situação clínica em 1980	Médico ou Serviço de Saúde
1	5	4/IMUNE	T	E	3620 gr.; 50 cm NORMAL	C. Saúde Ovar
2	148 c	4/IMUNE	T	E	3200 gr.; 45,5 cm NORMAL	Dr. Terra/V. Feira
3	6	6/IMUNE	T	E	2900 gr.; 50 cm NORMAL	C. Saúde Espinho
4	10	6/IMUNE	T	E	3200 gr.; 52 cm NORMAL	Dr. Basto/V. Feira
5	23	6/IMUNE	T	E	3200 gr.; >50 cm NORMAL	C. Saúde Espinho
6	18	10/IMUNE	T	E	2400 gr.; <50 cm NORMAL	Dr. Costa/Ovar
7	100 c	10/IMUNE	T	E	3100 gr.; 50 cm HÉRNIA, dificuldade da fala; ouve mal	Dr. Terra/V. Feira
8	22	12/IMUNE	T	E	3500 gr.; 50 cm NORMAL	Dr. Costa/V. Feira
9	11	6/N. IMUNE	T	E	2600 gr.; 50 cm NORMAL	Dr. Costa/Ovar
10	4	12/N. IMUNE	T	E	3200 gr.; 50 cm NORMAL	Dr. Costa/Ovar
11	34	4/RUBÉOLA	7	E	2400 gr.; <45 cm, mal formação cardíaca, cataracta congénita, prematuridade	H. St.º António
12	105	4/RUBÉOLA	meses	E	3550 gr.; 51 cm NORMAL	Dr. Queirós/S.J.Madeira
13	167 b	4/RUBÉOLA	—	—	Interrupção da gravidez	—
14	211 c	4/RUBÉOLA	T	E	4670 gr.; 50 cm NORMAL	Dr. Moreira/Porto
15	19	6/RUBÉOLA	T	E	3000 gr.; <50 cm NORMAL	Dr. Braz/S.J.Madeira
16	102 c	6/RUBÉOLA	—	—	ABORTO espontâneo	—
17	132 c	6/RUBÉOLA	T	E	3250 gr.; 50 cm NORMAL	Dr. Fernandes/Espinho
18	7	8/RUBÉOLA	T	E	3500 gr.; >50 cm NORMAL	C. Saúde de Ovar
19	20	8/RUBÉOLA	T	E	2300 gr.; <50 cm pé raso NORMAL	C. Saúde Espinho
20	14	10/RUBÉOLA	T	E	3350 gr.; >50 cm NORMAL	Dr. Costa/Ovar
21	16	10/RUBÉOLA	T	E	2800 gr.; 47 cm Fimose NORMAL	Dr.ª Lurdes/Esmoriz
22	17	10/RUBÉOLA	T	E	3000 gr.; 50 cm NORMAL	Dr. Valente/Válega
23	21	10/RUBÉOLA	7 meses	E	MORTE (prematuridade?) NORMAL	—
24	9	12/RUBÉOLA	T	E	3100 gr.; 55 cm NORMAL	Dr. Santos/Aveiro
25	8	6/REINFECÇÃO	T	E	3400 gr.; <50 cm NORMAL	Dr. Acácio/Porto

T = gestação de Termo

E = eutócico

## DISCUSSÃO

O objectivo do inquérito realizado nas 823 mulheres das empresas fabris «Ph», «Rb», «Fr», «Fn» e «Fp» visava, fundamentalmente, determinar o risco decorrente dum surto de Rubéola em 86 grávidas expostas à virose, simultaneamente, ser-nos-ia possível obter mais dados sobre a epidemiologia da Rubéola que pensamos ser ainda mal compreendida entre nós.

Baseamos a caracterização da população estudada em critérios clínicos e serológicos.

Sob o ponto de vista clínico, a resposta à infecção primária por Rubivirus, no adulto, pode esquematizar-se em:

— Rubéola com exantema típico.

— Rubéola sem exantema, mas com sinais de síndrome «gripal», tosse, faringite, adenopatias.

— Rubéola inaparente.

Laboratorialmente, a confirmação dos casos observados obteve-se por:

— seroconversão dos títulos de anticorpos de IHA, em 2 amostras de sangue ( $T_1 \leq -$   
 $- T_2 \geq 32$ ).

— subida, pelo menos de 4x, do título de anticorpos de IHA em 2 amostra de sangue ( $T_2 \geq 4 \times T_1$ ), nos casos clínicos de exantema máculo-popular típico de Rubéola.

— pesquisa da actividade hemaglutinante para o antigénio Rubéola nas fracções séricas, IgM/IgA e IgG, considerada como **positiva** se a título hemaglutinante da fracção IgM/IgA fosse igual ou superior a 1:40.

Os resultados obtidos permitem-nos alguns comentários, de ordem sociológica, clínica e epidemiológica.

1. — Em qualquer uma das 6 empresas que visitámos, iniciámos a recolha de dados após uma curta palestra dirigida a todos os trabalhadores, em que se explicava principalmente, a importância da Rubéola nas mulheres grávidas, mas acentuando-se, sempre, que a transmissão dos vírus se fazia pelo contacto de pessoa a pessoa, sem exclusão do sexo masculino; além disso, o diagnóstico comprovado da Rubéola necessitava da colheita de sangue destinado à execução de prova laboratoriais. Pois, em 1176 homens, apenas fomos abordados por 1 indivíduo (e que, efectivamente, tinha Rubéola com exantema), preocupado com a possibilidade de transmitir a virose à sua mulher que, nem sequer, estava grávida...

supomos que dispensa comentários a situação observada.

Quanto a obtermos 100% da colaboração das mulheres grávidas, ainda que estivessem no último mês de gestação, tal facto provou quanto as mulheres se sensibilizaram ao «factor» que podia por em causa a saúde dos seus futuros filhos; e só obtivemos 70% de amostras de sangue na restante população feminina, porque estabelecemos os 35 anos de idade como limite da inscrição para os exames clínicos e laboratoriais.

2. — Teria sido materialmente impossível realizar exames clínicos pormenorizados a todas as mulheres inscritas.

Deste modo, adoptamos o critério sumário da existência do exantema típico da Rubéola, acompanhado ou não dos sinais clínicos conhecidos. Não valorizamos, portanto, a sintomatologia registada nos quadros VI e X — no entanto, em 62 casos de Rubéola, laboratorialmente confirmados, pudemos observar 40 com exantema típico (40/62) o que não se afasta muito da percentagem indicada por alguns autores. Por exemplo, BRODY e col indicam, que em pequenos surtos epidémicos, 40% dos casos podem não apresentar o exantema típico; HILLEN BRAND considera que 1/3 dos casos de Rubéola são inaparentes. Mas, numa das epidemias melhor caracterizadas a que eclodiu em Israel (1972), FOGEL e col. encontraram os seguintes dados: em 689 mulheres grávidas, com Rubéola serologicamente confirmada, o exantema típico era o único sintoma em 267 casos (38%) e nas restantes, aparecia, além do exantema, febrícula em 25%, adenopatias em 31% e dores articulares em 3%.

3. — Um dos aspectos mais controversos da Rubéola é o da proporção existente entre os casos de Rubéola inaparente e os que se diagnosticam clínica / serologicamente, pois se alguns autores como LUNDSTRÖM (1962) afirmaram que «o risco de lesão fetal aumenta somente na presença de Rubéola clínica com exantema», actualmente, julga-se que «a Rubéola materna inaparente causa tantas e tão graves consequências quanto a Rubéola com exantema» (CRISTIE, 1976).

Numa tentativa de obter tais dados na população que estudámos, num grupo de 322 mulheres, observadas todas na mesma data e não apresentando «doença clínica aparente», recolheu-se sangue no dia seguinte ao da observação, e depois de determinados os títulos de

IHA, calculou-se uma amostra estatisticamente significativa (como se descreveu anteriormente), em que foi doseada a actividade hemaglutinante das fracções IgM/IgA e IgG. Os resultados obtidos nos 31 soros apontam para um número médio de 114, ou melhor, um valor situado entre 58 e 171 casos de Rubéola inaparentes nesse conjunto. EVANS (1976) considera que a relação de casos inaparentes para casos clínicos na Rubéola é de 2:1, e daí que os nossos números não apareçam afastar-se dos que são aceites na literatura — efectivamente, na empresa «Ph» onde trabalhavam as 322 mulheres desse grupo, pudemos encontrar 46 casos de Rubéola, confirmada laboratorialmente, na população feminina.

4 — Não foi possível descobrir o caso inicial («index case»), mas, por informações prestadas pela Enfermeira da empresa «Ph»: em Dezembro/75 teria havido uma mulher com um exantema(?) que foi classificado de «alergia», mas cujos filhos tinham Rubéola, diagnosticada clinicamente.

A figura 6 mostra, apenas o conjunto das nossas observações entre Janeiro e Março de 1976 e não pretendemos através desse gráfico caracterizar o surto epidémico, pois, como anteriormente referimos, apenas tivemos a colaboração da população feminina das empresas, e a Rubéola tem, como se sabe, igual incidência no sexo feminino e masculino. Mas, há um facto que refutamos interessante — é o desenvolvimento do surto numa época do ano (inverno) em que a Rubéola não parece ser frequente. Tentamos averiguar da existência de um aumento inesperado de casos na população infantil a partir do outono anterior, através de cartas ou entrevistas com as autoridades sanitárias do distrito onde se localizavam as empresas, mas a resposta unânime foi «que se desconhecia a existência de Rubéola no distrito, a não ser raros casos em consultas pediátricas».

Na população observada (823 mulheres), a taxa de infecção foi de 68/823, isto é, 8%, com uma susceptibilidade de 15,4% no mesmo total. Se admitirmos que a população fabril era de 2913 indivíduos, que trabalhando juntos, pelo menos, 8 horas/dia, e, portanto, com probabilidades de contacto semelhantes ao grupo estudado, teoricamente, deveríamos ter tido um total de duas centenas de casos de Rubéola. A taxa de infecção de 8% que encontramos é semelhante à que outros autores publicaram em surtos epidémicos localizados.

Por exemplo: num escritório de New Jersey (MMWR, 1980, v. 29, n.º 43) com 432 empregados de ambos os sexos, registaram-se 23 casos de Rubéola (4 deles é que foram confirmados serologicamente), com uma taxa de infecção global de 5,3% — susceptibilidade do grupo era desconhecida em 235 indivíduos, dos quais 15 grávidas.

STRASSBURG (1981) descreveu um surto de Rubéola num Serviço de Obstetrícia de Los Angeles, ocorrido em Fevereiro/Março de 1978, em que o «index case» fora um médico que adoecera com um síndrome febril que, só depois do aparecimento de 2 casos de Rubéola típica em 2 médicos, foi diagnosticado como tal. A situação levou ao estudo de um total de 410 membros da equipa hospitalar (19,2% eram susceptíveis) tendo sido diagnosticado 15 casos de Rubéola (em que só 4 foram confirmados laboratorialmente). Como entretanto tinham passado pelo Serviço mulheres grávidas (consultas, internamentos, etc.) os A.A. elaboraram uma lista de 231 grávidas em risco, tendo obtido informações em, apenas, 140 delas — 61% — o resultado do seu estudo serológico (IHA) foi de que 25% eram susceptíveis; das restantes (93) recolheram uma segunda amostra de sangue e seleccionaram, ao caso, 60 para pesquisa de imunoglobulinas M específicas, tendo apenas uma revelado IgM positiva. Não obtiveram dados dos filhos nascidos daquelas grávidas.

Um outro pequeno surto epidémico interessante foi publicado em 1977, por SCHLOSSBERG, surgido num quartel, na primavera de 1975, em que se diagnosticaram 46 casos (32 homens e 11 mulheres), jovens de 17 a 22 anos, em que apenas 52% tiveram exantema e em somente 9 foi a epidemia confirmada pela pesquisa de IgM específica (os AA não indicaram a população total em que se desenvolveu o surto epidémico).

A questão de fundo nestas situações descritas, é a impossibilidade de se responder, hoje, à seguinte questão: que papel desempenha a «herd inunity» na disseminação epidémica dos Rubivirus?

O conceito de «herd inunity» foi desenvolvido por Fox e, em linhas gerais, significa a proporção de membros imunes de uma população que, como tal, reduzem a probabilidade de disseminação do agente para os membros susceptíveis da mesma população. Ora, este conceito tem sido válido para outras doenças infecciosas — difteria, poliomielite, sarampo —

mas, na Rubéola parece não poder explicar a existência dos surtos epidémicos localizados. KLOCK e col. puderam observar, em 1971, na cidade de Casper (SU) a comprovação na prática deste ponto de vista que, inclusivé, põe em causa a vacinação antirubéola das crianças como meio de alcançar a erradicação da Rubéola congénita. O «caso Casper» (como se designa na literatura especializada) é tão elucidativo que merece ser citado com algum pormenor: na previsão de uma epidemia teoricamente possível nos anos 70, iniciou-se nos EU um programa nacional de vacinação antirubéola em crianças de ambos os sexos, do 1 aos 12 anos, pensando-se que a disseminação da Rubéola para as mulheres grávidas seria, indirectamente, evitada. Em 1971, cerca de 25 milhões de crianças americanas já tinham sido vacinadas. Na cidade de Casper, com 49000 habitantes dos quais 12 300 crianças até aos 12 anos, em Maio de 70, aplicaram-se 7 253 doses da vacina (HPV-77-DK12) em crianças de 1 aos 6 anos, e mais 1400 doses em outros grupos etários — em conclusão, o nível de imunidade dado pela vacinação atingia 70% das crianças no total (52% na idade pré escolar e 83% das crianças da escola primária). Pois, em Janeiro de 1971, começaram a aparecer casos de Rubéola em todos os grupos etários, num total de 1039, incluindo adultos (4% do total dos casos) e, pelo menos, 7 mulheres grávidas tiveram Rubéola.

A taxa de infecções aparentes para inaparentes foi, neste estudo, de 2,5 : 1, e a taxa de infecção variou de 14 a 17%. Para os A.A., a principal razão para a ocorrência da epidemia foi a da falha do conceito de «herd inumunity» quando este é aplicado ao controle da Rubéola — «this investigation demonstrates that inumunity to rubella in one segment of the population may have no influence on the occurrence of this disease in a second segment of that population.

5. — Um outro aspecto que refutamos interessante no decurso do estudo da nossa população é que algumas mulheres «viveram» o surto epidémico como susceptíveis e continuaram a sê-lo 38 meses depois de este se ter extinguido, num total de 25/66 (38%). Quanto àquelas que, entretanto, fizeram a seroconversão (41/66), nenhuma nos referiu a recordação de exantema rubeliforme; em 16 dessas mulheres não há qualquer indicação de quadro de Rubéola nas suas fichas médicas que tivemos a oportunidade de consultar.

Fazemos notar que tivemos a precaução de conservar as primeiras amostras de soro a 20°C e repetir as reacções em conjunto com os soros colhidos posteriormente, pelo que, pensamos poder afastar erro técnico.

Todos os autores afirmam que a observação clínica da Rubéola nem sempre é fácil — mas aceitar que todos aqueles casos de seroconversão fossem infecções inaparentes, parece-nos bastante improvável, e, em nosso entender, reflectem o reduzido interesse que a virose desperta, mesmo a nível médico, a não ser em situações epidémicas ou na clínica privada.

6. — Na população observada, 86 mulheres estavam grávidas, embora em diferentes graus de risco para os seus filhos — consideramos em alto risco, um total de 18 mulheres (até à 12.<sup>a</sup> semana), risco moderado 6 mulheres (até à 20.<sup>a</sup> semana) e sem risco para a sua actual descendência 61 mulheres — no entanto, como 13 eram susceptíveis à Rubéola, estas deveriam ser encaradas como um grupo em risco para futuras gestações.

Em conclusão:

— Grávidas em risco	18
— Grávidas em moderado risco	6
— Grávidas sem risco imediato	62
TOTAL	86 (24/86, 28%)

Não foi possível obter sangues de **cordão umbilical** (com excepção de 1 caso que a seguir se descreve), dos filhos das grávidas em alto risco, embora na ocasião do surto epidémico tivéssemos tentado obter a sua colaboração. No entanto, compareceram, na entrevista destinada a verificar a situação dos nascimentos posteriores ao surto, não só as 18 mulheres em alto risco como ainda mais 3 do grupo seguinte.

Antes de analisar o resultado dessas entrevistas, apresentamos um dos casos curiosos que observamos no decurso deste surto.

Ficha 33: MLO, 33 anos, grávida na 32.<sup>a</sup> semana, tem febre, síndrome «gripal», intensas dores articulares (foi medicada com «Tanderil» segundo a sua ficha clínica); em 29-1-76 foi observada por nós, já sem sintomatologia clínica e o resultado da determinação dos anticorpos de IHA é de 1:16 na 1.<sup>a</sup> amostra, com pesquisa de IgM específica positiva. Feita a 2.<sup>a</sup> colheita (5-2-76) sobem os anticorpos de IHA 1:32, e os anticorpos de FC são inferiores

a 1:4. O seu filho nasceu a 16 Março 76, com 3250 gr., 50 cm, exame clínico normal (Hospital de Santo António) e no sangue do cordão umbilical obtivemos o título de IHA 1:64, com IgM positiva (1:80) e IgM (1:40). Tratou-se, pois, segundo a nossa interpretação de um bebé que teve Rubéola in útero, após a viremia da mãe.

Resumindo os resultados registados nos quadros XVIII e XIX, verificámos o seguinte:

Grávidas	Crianças NORMAIS (1980)	Interrupções de gravidez (1976)	Prematuros (1970)	Malformações (1980)				
25 (Até à 12. <sup>a</sup> semana)	20	2	1  3. <sup>a</sup> semana *	<table style="border: none;"> <tr> <td style="border: none;">Prematuridade Catarata M. Cardíaca (Comunicações interventriculares)</td> <td style="border: none;">} 1</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">Audição deficiente fala deficiente fimosose</td> <td style="border: none;">} 1</td> </tr> </table>	Prematuridade Catarata M. Cardíaca (Comunicações interventriculares)	} 1	Audição deficiente fala deficiente fimosose	} 1
Prematuridade Catarata M. Cardíaca (Comunicações interventriculares)	} 1							
Audição deficiente fala deficiente fimosose	} 1							
7 (13. <sup>a</sup> a 20. <sup>a</sup> semanas)	6	—	1 (24. <sup>a</sup> semana) MORTE**					
TOTAL	26	2		2				

\* observação no Hospital de Santo António: prematuridade, icterícia prolongada, microcefalia, e exames posteriores mostraram que apresentava atraso pricomotor notório (Dr. Octávio Cunha).

\*\* no decurso da entrevista em 1980, a mãe apenas soube referir que o bebé morreu pouco depois de nascer.

Como não possuímos dados laboratoriais que deveriam ter sido obtidos nos sangues dos cordões umbilicais dos recém-nascidos, apenas nos é lícito concluir que os resultados são altamente sugestivos como consequência das Rubéolas nas mães, estas, sim, efectivamente comprovados sob o ponto de vista laboratorial.

### CONCLUSÃO

A observação deste surto epidémico de Rubéola numa pequena área do Norte, permite-nos fazer algumas considerações sobre o problema:

1. É necessário destruir o «mito» de que a Rubéola só interessa à população feminina — A Rubéola tem igual incidência em ambos os sexos, e podem ser indivíduos do sexo masculino a introduzir a virose em populações semi fechadas, tal como exemplificámos anterior-

mente. Cabe aos Serviços de Educação para a Saúde informar correctamente sobre o problema não só apresentado a «imagem da grávida» (como é óbvio, esta é o alvo mais importante) mas, também, não esquecendo os transmissores, crianças e adultos de ambos os sexos.

2. A existência de pequenos surtos epidémicos deveria ser sempre assinalada aos Serviços de Saúde; pudemos estudar esta popula-

ção graças ao profissionalismo atento duma médica (a Dr.<sup>a</sup> Maria Tigre) correctamente informada dos riscos da virose; mas, também, pudemos verificar que nem todos os clínicos da zona em que decorreu o surto possuíam o mesmo grau de informação, dado que não obtivemos a colaboração tão simples, e fácil, do envio de sangues do cordão umbilical dos recém-nascidos, quando, quase todos os partos, se efectuaram em estabelecimentos hospitalares. Há, pois, que insistir na publicação da nossa experiência em relação com o risco das gestantes em contacto com a Rubéola, e afirmar quando nos é necessária a colaboração dos clínicos para o conhecimento do problema.

3. Duas das mulheres em alto risco decidiram fazer interrupções da gravidez como medida preventiva, e, muito provavelmente, 1 prematuro morreu e 2 crianças nasceram com mal formações em consequência da Rubéola materna.

Não é possível continuar a deixar ao acaso a probabilidade de um mulher levar ou não a bom termo a sua gestação no que diz respeito à interferência da Rubéola. Numa editorial do Am. J. of Public Health (1979, V69, n.º 3), KRUGMAN embora não escondendo os problemas que não foram completamente elucidados acerca dos resultados práticos da vacinação, não hesita em escrever, como potenciais soluções o seguinte:

1) identificação e imunização de 30 a 35% do coorte não imunizado da população infantil.

2) **identificação e imunização selectiva dos adolescentes e mulheres adultas em idade de procreação.**

O M.S. Public Health Service Advisory Committee on Immunization Practices (1981) acentua a necessidade de mais efectiva vacinação de indivíduos adultos, recomendando que «instituições educacionais e de treino, como colégios, universidades, lares, quartéis devem fazer investigação da imunidade para Rubéola e, muito especialmente, o pessoal masculino e feminino de estabelecimentos hospitalares».

Não esqueçamos as limitações económicas no nosso caso particular para efectivação de tal programa — mas o que se torna necessário é afirmá-lo claramente.

3. Não podemos provar que a observação de pequenos surtos epidémicos sejam um sinal de alerta para a eclosão de epidemias de maiores proporções — mas a verdade é que, em 1979, tivemos a experiência dum inesperado aumento de casos de Rubéola em mulheres adultas na população da população do Norte, a que se seguiram nascimentos de algumas dezenas de crianças com infecção congénita por Rubéola — estes resultados serão, em breve, publicados.

Apesar das nossas limitadas possibilidades, a equipe do Laboratório de Virologia da Delegação no Porto do INSA sentir-se-à compensada no seu trabalho se conseguir contribuir para sensibilizar todos os que trabalham em Saúde para o problema da Rubéola, esforçando-nos para que menos crianças portuguesas nasçam com malformações por causas evitáveis, como é o caso da Rubéola.

#### B I B L I O G R A F I A

AYRES, L. e FERREIRA, MF — Seroepidemiologia da Rubéola «Arquivos do Instituto Nacional de Saúde», 1972, n.º 1, 1-9.

- BADER, M. M. e col. — Rubella in Seattle King County, Washington «Am. J. of Public Health», 1977, 67:1078 a 1809.
- BANATVALA, J. E. e col — Maternal Rubella at St. Thomas' Hospital, — «The Lancet», 1978, 1928 — 1300.
- CHERRY, J. D. e col. — The new epidemiology of Measles and Rubella «Hosp. Pract.», 1980, 15 (7), 49 a 57.
- BOUÉ, A. e col. — Reinfection With Rubella in pregnant Woman «The Lancet», 1971, 1251 a 1253.
- BRODY, J. — The infection sensess of Rubella and the possibility of reinfection «Am. J. Publ. Health, 1966, 56(7), 1082 a 87.
- CHAPPELL, J. A. e col. — Implications of Rubella susceptibility in young adults — «Public Health Brefs.», 1979, 69(3), 279 a 286.
- CHRISTIE, AB — Infections Diseases: Epidermology and Clinical Practice 1974, 2.ª ed., Churchill Livingstone — NY.
- DESMYTER, J. e col — The IgM antibodies response in Rubella during pregnancy «J. Med Microb.» 1971, 4:107 a 114.
- EVANS, A. S. — Viral infections of humans, 1976, 1.ª ed., John Wiley e Sons.
- FERREIRA, MF e col — Diagnostico serológico da Rubéola pelo fraccionamento de soros em coluna de Sephadex, «Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas», Sup. n.º 1, 1978, 197 a 200.
- FLEET, WF e col — Fatal consequences of maternal rubella immunization JAMA, 1974, 227(6): 621 a 627.
- FIELDING, JE e col — A cost-benefit analysis of a mandatory premarital Rubella antibody screening program — The new Engl. J. Med, 1979, 300 (15): 856 a 859.
- FOGEL, A. e col — Serologic studies in 11466 women during the 1972 Rubella epidemic in Israel — Am. J. of Epid., 1976, 103 (1), 51 a 59.
- FREESTONE, D.S. e col — History of infection and immunity to Rubella, Am. J. of Epid. 1972, 96 (1): 70 a 73.
- FORSGREN, M. e col — Congenital Rubella after maternal reinfection — Scand. J. Inf Diseases, 1979, 11: 81 a 83.
- FROHLICH, MM e col — Separation of normal and abnormal immunoglobulins and their components — Proc. of Biol. Fluids, 1968, 14: 637 a 640.
- GUYER, B. e col — The Memphis State University Rubella out break JAMA, 1974, 22 (11): 1298 a 1300.
- HAMBLING, MH e col — Effect of a vaccination program on the distribution of Rubella antibodies in women childbearing age — The Lancet, 1975, 1130 a 1133.
- KLOCK, LE e col — Failure of Rubella herd immunity during an epidemic — The New Engl. J. of Med. 1973, 288: 69 a 72.
- KURSTAK, E. e col — Comparative Diagnosis of Viral Diseases, VI, 1977, Academic Press.
- MANDELL, GL e col — Principles and Practice of Infectious Diseases 1979, 1.ª ed., John Wiley e scns.
- MC. CAUGHLIN e col — The New York Rubella incident; a case for changing hospital policy regarding Rubella Testing and immunology — Public Health Br. 1979, 69 (3): 287 a 289.
- MILLIAN, SJ e col — Rubella serology: applications, Am J. of P. Health, 1972 — 179 a 75.
- PATTISON, J. e MACE, JE — A simple, inexpensive gel filtration technique for use in diagnostic serology — J of Clin. Path. 1973, 26: 309 a 313.

- Idem — The detection of specific IgM antibodies following infection with Rubella virus — *J. Clin. Path.* 1975, 28, 377 a 382.
- Idem — The use of high speed gel filtration for the detection of Rubella IgM — *J. of Im. Methods*, 1978, 19: 269 a 277.
- ROOYEM, VCE e col — A trial of Rubella RA 27/3 vaccine — *Canad. J. of P. Health*, 1977, 66: 375 a 377.
- SCHLOSSBERG, CD e col — Military Rubella — *JAMA*, 1977, 238 (12): 1273 a 1274.
- SCHOEMBAIX, SC e col — Benefit Cost Analysis of Rubella Vaccination policy — *The New Engl J. of Med.* 1979, 294 (6), 306 a 310.
- SHELBY, A. e col — Inadvertent Rubella vaccination of pregnant women — *JAMA*, 1973, 225 (12): 1472 a 77.
- SEPPALA, M. e col. — Natural infection with Rubivirus in the female genital tract — *The Lancet*, 1974 — 46 a 49.
- STRAUSSBURG, MA e col. — Rubella outbreak among hospital employees obst and gynecology, 1981, 57 (3): 283 a 288.
- SWARTZ, TA — An extensive Rubella epidemic in Israel, 1972 *Am. J. of Epid.* 1972, 103 (1): 60 a 66.
- VAHERI, A. e col — Transmission of attenuated Rubella vaccine to the human fetus — *Am J. Dis. Child.* 1969, 118: 243 a 246.
- MOGENS, V. e col — Rubella IgM antibodies in sera from infants born after maternal Rubella later than the 12th week of pregnancy *Scand. J. Inf Dis.*, 1980, 12: 1 a 5.
- WELLER, T. e col. — Retrospective Diagnosis by serologic means of congenitally acquired Rubella infections — *The New Engl. J. of Med.* 1964, 270 (20): 1039 a 1041.
- ZACKLER, J. e col. — Premarital IHA screening for Rubella antibodies — *Health Rep.* 1971, 86 (11): 1004 a 1006.

### 3.ª SECÇÃO

- 1 — Consultas em postos dos Serviços Médico-Sociais e em Centros de Saúde. Satisfação dos utentes e qualidade das prestações

*Adriano Rosário Natário*

*António Botelho de Sousa*

*António Correia de Campos*

*António J. da Costa Marinho*

*J. G. Sampaio Faria*

*José L. Castanheira dos Santos*

*Manuel Schiappa T. Mendes*

- 2 — Cinco anos de ambulatório em saúde mental: possíveis consequências no sector de internamento psiquiátrico

*J. G. Sampaio Faria*

- 3 — A situação proteica nacional

*F. A. Gonçalves Ferreira*



## CONSULTAS EM POSTOS DOS SERVIÇOS MÉDICO-SOCIAIS E EM CENTROS DE SAÚDE. SATISFAÇÃO DOS UTENTES E QUALIDADE DAS PRESTAÇÕES (a)

*Adriano Rosário Natário \**  
*António Botelho de Sousa \**  
*António Correia de Campos \*\**  
*António J. da Costa Marinho \**  
*J. G. Sampaio Faria \*\**  
*José L. Castanheira dos Santos \**  
*Manuel Schiappa T. Mendes \**

### RESUMO

A partir da informação recolhida por inquérito dirigido aos utentes de Centros de Saúde e Postos dos Serviços Médico-Sociais em cinco localidades na periferia próxima ou distante de Lisboa — Arruda dos Vinhos, Mosca- vide, Brandoa, Bombarral e Nazaré — onde desempenham funções de médicos de saúde pública cinco antigos alunos da E. N. S. P. — os autores, no seguimento de anterior trabalho centrado sobre a integração de cuidados primários (1), pretenderam comparar os serviços prestados em Centros de Saúde com os de Postos dos Serviços Médico-Sociais. Demonstrada a homogeneidade sócio-económico-cultural da população que recorre a cada um dos subsistemas, verificou-se mais elevado grau de satisfação nas consultas dos primeiros; de acordo com os poucos indicadores de qualidade das prestações que não ofereceram dúvidas,

existirão também diferenças sensíveis na decomposição da consulta em actos elementares, nomeadamente quanto à existência de exames prévios e à duração do contacto médico-doente. Por inexistência de critérios de validação, foram rejeitados os indicadores «n.º de medicamentos prescritos» e «percentagem de consultas com prescrição de radiografias e de análises».

Foi confirmada a utilidade e validade metodológicas da avaliação de cuidados de saúde primários através de inquéritos de opinião aos utentes, uma vez que não parecem viáveis outras técnicas de análise do conteúdo como as praticadas em internamento hospitalar. Sugere-se que futuros trabalhos de investigação nesta área procurem determinar a relação de causalidade entre as variáveis dependentes observadas e as normas ou directrizes centralmente definidas, a formação e a motivação dos prestadores e a qualidade dos recursos materiais utilizados, quer isoladamente, quer sofrendo a influência de uma política de integração de cuidados primários, nos diversos gradientes em que ela se concretize.

(a) Comunicação apresentada às 1.ª Jornadas de Saúde Pública, 8-10 de Abril, 1981.

\* Médico de Saúde Pública

\*\* Docente da Escola Nacional de Saúde Pública.

## 1. Introdução

O sistema português de cuidados primários encontra-se repartido por duas entidades diferentes: S. M. S. e D. G. Saúde. Os primeiros tutelam 1 700 postos que prestam cerca de 21 milhões de consultas, das quais 30% são de especialidades. A D. G. Saúde coordena a actividade dos 261 Centros de Saúde que em 1978 realizaram cerca de 1 milhão e meio de consultas de Saúde Materna e Saúde Infantil. A D. G. S. superintende também, no antigo Instituto Maternal, no S. L. A. T., no I. A. P., no Instituto de Luta Contra a Doença de Hansen, nos Serviços de Higiene Rural e Defesa Anti-Seasonática e nos Dispensários de Higiene Social. O QUADRO I reproduz o número total de consultas prestadas pelos serviços e estabelecimentos de cada um destes órgãos.

Por seu lado, os serviços dependentes da D. G. Saúde prestaram um considerável número de sessões de educação sanitária, sessões de ensino a grávidas e puérperas, vacinações, exames de sanidade, controlo e verificação de atestados, óbitos, vistorias, etc. Da Direcção-Geral de Saúde dependiam também os Hospitais Concelhios (7 758 camas em 1979) que se estima tenham internado, nesse mesmo ano, 104 367 doentes, assistido 652 347 doentes em consulta externa e socorrido 1 214 783 em urgência (3). O total dos encargos dispendidos em 1978 por serviços dependentes da D. G. Saúde (incluindo os Hospitais Concelhios) ascendeu a 3 585 mil contos. É importante verificar que sobre aquela Direcção-Geral impendem em exclusivo as acções de prevenção primária a cargo da Secretaria de Estado da Saúde (outras, como por exemplo o saneamento

### QUADRO I

#### Consultas médicas de cuidados de saúde primários

SERVIÇOS	CONSULTAS
Serviços Médico-Sociais (Postos e Domicílios) ... ..	21 229 422
Centros de Saúde (Saúde Materna e Saúde Infantil) ... ..	1 428 784
Dispensários do Serviço de Luta Anti-Tuberculosa (SLAT) ... ..	354 492
Dispensários e Centros de Saúde Mental ... ..	123 691
Dispensários e Postos Anti-Venéreos ... ..	9 073
Estações e Postos Anti-Seasonáticos ... ..	46 196
TOTAL ... ..	23 191 658

FONTE: I. N. E., Estatísticas da Saúde 1978.

Os valores aqui referidos não esgotam a situação. Os Serviços Médico-Sociais financiam a aquisição de serviços e bens médicos a prestadores privados. Em 1978, 1,2 milhões de radiografias e radioscopias custaram 337 mil contos, 5,3 milhões de análises custaram 766 mil contos, a parte comparticipada em medicamentos ascendeu a 5,5 milhões de contos e em dispositivos complementares de terapêutica a 453 mil contos. O total dos encargos dispendidos, nesse ano, através dos S. M. S. ascendeu a 12,8 milhões de contos (2).

mento básico, incumbem ao M. H. O. P. e Autarquias). Estas acções custaram, em 1978, 155 mil contos, já incluídos no montante atrás referido.

Acontece, ainda, que uma parte considerável de cuidados primários são prestados por hospitais através de consultas de urgência. Houve nada menos que 3,7 milhões de urgências em 1978. Destas, apenas uma parte se podem considerar cuidados diferenciados. Tendo em conta o número esmagador de doentes socorridos na urgência e mandados

para casa (93,3% no H. G. Sto. António em 1977) (4) poderemos admitir com segurança que 70% dos que ocorrem às urgências poderiam ter sido observados em unidades de cuidados primários se elas estivessem disponíveis e acessíveis. Se nos lembrarmos que o custo médio do atendimento de urgência nos cinco principais hospitais centrais, atingia, em 1978, 615\$00 (5), poderemos ter uma ideia do montante a que ascende o uso inadequado de serviços diferenciados e dispendiosos, por carências da rede de cuidados primários.

Em resumo, e em termos globais, em Portugal (QUADRO II), do total de consultas

Recentemente GONÇALVES FERREIRA (6) ao chamar a atenção para o conceito de «padrão de doença», referiu que, nos SMS «o número de consultas por doença, em relação ao total de consultas (...) é muito mais próximo do «padrão pouco evoluído» (95%) do que do «padrão moderno» (76,0%) o que significa que o número de consultas para vigilância da saúde é (aí) ainda baixo». Este tipo de análise não pode ser aplicado às consultas dos Centros de Saúde dado que nunca esteve ao seu alcance, ao contrário dos SMS, a construção de um sistema de saúde com universalidade de cobertura.

#### QUADRO II

##### Consultas médicas de cuidados de saúde primários prestados pelos S. M. S., D. G. Saúde, e Urgências Hospitalares

SERVIÇOS	QUANTIDADE	%
— Serviços Médico-Sociais (Postos e Domicílios) ... ..	21 229 422	82,4
— Centros de Saúde (Saúde Materna e Infantil) ... ..	1 428 784	5,5
— Outros Serviços da D. G. Saúde (SLAT, IAP, etc.) ... ..	533 452	2,1
— Urgências Hospitalares (a) ... ..	2 584 372	10,0
	25 775 030	100,0

(a) Admitindo que 70% das urgências são cuidados primários de saúde.

FONTE: I. N. E., Estatísticas da Saúde 1978.

que caem na designação de cuidados primários (estão excluídas as consultas externas hospitalares) 82% são prestadas pelo S. M. S., 10% pelos hospitais nos «bancos» de urgência, e 8% pelos Centros de Saúde e outros serviços dependentes da D. G. Saúde.

Se olharmos à desagregação destas actividades por valência ou disciplina em 1979 (QUADRO III) verificamos uma inversão quase total de actividades, entre S. M. S. e D. G. S. Os S. M. S. prestam 90% de consultas «de doença» e só 10% de consultas materno-infantis, mais próximas talvez do conceito de «vigilância». Em contraposição, na D. G. S. as consultas de Saúde Materna e Saúde Infantil e Cuidados Médicos de Base são, na sua esmagadora maioria consultas de vigilância.

#### 2. Objectivo do estudo e indicadores de análise

As comparações entre os Serviços Médico-Sociais e os Centros de Saúde quase nunca têm analisado realidades ou rúbricas comparáveis. A não uniformidade do sistema de informação estatística, explicada pela duplicação de estruturas orgânicas, não tem permitido mais do que genéricas comparações de dados agregados: total de consultas, total de médicos, enfermeiros, postos ou centros, valores financeiros globalmente consumidos.

Se pretendermos realizar comparações com maior validade, teremos de observar e avaliar as próprias prestações, pois embora aparentem a mesma realidade, poderão ter conteúdo diferente. Assim, por exemplo, uma consulta

QUADRO III

Consultas médicas prestadas nos Serviços Médico-Sociais e nos Centros de Saúde, por especialidade ou valência

SERVIÇOS MÉDICO-SOCIAIS			CENTROS DE SAÚDE		
		%			%
<b>Saúde Materno-Infantil:</b>					
Obstetrícia ... ..	163 293	0,8	Saúde Materna ... ..	231 852	13,3
Pediatria .....	1 777 262	9,0	Planeamento Familiar .	112 306	6,5
<b>Doença:</b>			Saúde Infantil . . . . .		
Clínica Médica ... ..	13 800 183	70,1	Cuidados Médicos de	993 446	57,1
Estomatologia ... ..	892 827	4,5	Base . . . . .	364 179	20,9
Ginecologia ... ..	675 173	3,4	Estomatologia . . . . .	37 483	2,2
Cirurgia ... ..	425 830	2,2			
Otorrino . . . . .	375 459	1,9			
Oftalmologia . . . . .	238 770	1,2			
Dermatovenerologia .	227 850	1,2			
Psiquiatria ... ..	203 952	1,1			
	112 393	0,6			
Outras especialidades	787 075	4,0			
<b>TOTAL ... ..</b>	<b>19 680 067</b>	<b>100,0</b>		<b>1 739 266</b>	<b>100,0</b>

Fontes: **SMS:** Acção Médico-Social, Síntese de dados Estatísticos, Serviços de Estatística, SMS, 1979.

**Centros de Saúde:** Movimento dos Centros de Saúde, Serviços de Estatística, DGS, 1979.

de Obstetrícia nos SMS está bem longe de conter os mesmos actos elementares que uma consulta de Saúde Materna num centro de saúde. O presente trabalho procurou analisar essa realidade a nível micro. Através de um inquérito a utentes dos dois subsistemas foi possível conhecer um pouco melhor como é que decorrem os actos médicos principais — as consultas.

Procurou-se identificar as acções que imediatamente a precedem (inquérito por enfermeira, medição da TA, por exemplo) conhecer o seu tempo de duração, a forma como decorre (ensino da medicação, por exemplo), os actos

a que se dá sequência (n.º de análises, de radiografias e de medicamentos prescritos) tentando, a partir dessa informação, construir um conjunto de indicadores indirectos de qualidade. A par deles, a opinião pessoal do utente permite conhecer níveis de satisfação por aqueles exteriorizados.

Dada a natureza e dimensão da amostra, deixa de ter validade e interesse a comparação entre locais, para nos limitarmos à comparação simples entre os subsistemas.

Sintetizando, poderemos considerar como objectivo para o presente trabalho a demonstração da seguinte *hipótese nula*:

*Diferentes orientações que ao longo dos anos têm presidido ao desenvolvimento de duas redes separadas de cuidados primários — a dos SMS e a dos Centros de Saúde —, traduzíveis em diferentes padrões de atendimento ocasionarão, em populações com características relativamente semelhantes, idênticas opiniões acerca da satisfação no recurso aos serviços. Complementarmente, indicadores de qualidade do atendimento, definidos de acordo com a percepção dos autores, teriam resultados semelhantes em cada um dos subsistemas.*

Para tal, será necessário identificar as seguintes potenciais variáveis:

a) De caracterização da população:

- Idade
- Sexo
- Grau de instrução
- Situação sócio-económica
- recurso a um «banco» hospitalar, nos últimos meses \*
- Consulta a «especialista» nos últimos seis meses \*

b) De satisfação dos utentes:

- Opinião sobre os serviços: respostas MB ou B à pergunta «Como acha que estão a funcionar os serviços de saúde da sua área?»
- Razão de escolha: respostas «Médico de confiança», «É bem atendido» ou «É a que frequenta habitualmente», à pergunta «Qual a razão porque escolheu esta consulta?»
- Satisfação: resposta afirmativa à pergunta «Acha que valeu a pena ter vindo hoje à consulta?»
- Aumento na procura de serviços públicos: combinação de respostas revelando uma mudança de hábitos de frequência de serviços, para aquele em que decorre o inquérito, ocorrida em cinco anos
- Opinião sobre a evolução dos serviços: resposta «Muito melhores» e «Melhores» à pergunta «Como consi-

\* A frequência de recurso a um «banco» hospitalar ou a um especialista funciona aqui como indicador de caracterização do «padrão» de consumo de outros serviços de saúde.

dera os serviços em relação à cinco anos atrás?»

- Onde preferia ter ido: respostas «Aqui mesmo» ou «Aqui, a outro médico» à pergunta «Onde preferia ter ido, por este motivo de consulta?».

c) De qualidade dos cuidados:

- Ensino da medicação: caso tenha sido praticado pelo médico ou enfermeira (%)
- Duração da consulta: duração média segundo informação colhida do utente (em minutos)
- Observação na pré-consulta: simples existência ou ausência de qualquer exame prévio, peso, T. A., (%)
- Número de medicamentos prescritos: número médio por consulta (unidades)
- Não repetição de consultas: resposta negativa à pergunta «Por esta mesma razão já foi ao médico», ou afirmativa, desde que ao mesmo médico (%)
- Prescrição de radiografias: utentes a quem tenham sido prescritas radiografias na consulta (%)
- Prescrição de análises: utentes a quem tenham sido prescritas análises na consulta (%)

### 3. Metodologia da recolha de informação

A informação é proveniente de um inquérito de opinião a utentes dos serviços de saúde (S. M. S. e Centros de Saúde) de cinco localidades na periferia próxima ou mais distante de Lisboa (Brandão, Moscavide, Arruda dos Vinhos, Bombarral e Nazaré) onde exercem funções cinco antigos alunos do Curso de Saúde Pública.

A amostra de utentes nos S. M. S. foi de 202 e nos Centros de Saúde de 34, respectivamente 86,1% e 13,9% dos 236 inquiridos. Foram excluídos 17 inquéritos realizados em consultas domiciliárias dos S.M.S. por não haver termo de comparação nos Centros de Saúde. Como já foi dito em trabalho anterior (1), a amostra consistiu em aproximadamente 15% do número médio de utentes de todas as unidades inquiridas em dois dias úteis da semana. Esse valor foi distribuído proporcionalmente ao número de consultas por localidade, veri-

ficadas durante todo o ano de 1979 e foi ainda estratificado por sexos. A dimensão da amostra foi condicionada ao número de inquiridores disponíveis: tendo em conta um número aceitável de dez inquéritos por inquiridor, tornou-se necessário recrutar e preparar 27 inquiridores, de entre médicos policlínicos (P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>) e enfermeiras de saúde pública. A alternativa a 20% (n = 352) implicando 35 inquiridores tornava-se já incomportável para os recursos do projecto. Os dados foram transcritos para cartões perfurados e tratados em computador. O QUADRO IV apresenta os valores correspondentes ao universo inquirido (utentes durante dois dias da semana) em confronto com os relativos à amostra colhida.

#### 4. Resultados

##### 4.1. Características da população utente

A circunstância de os Centros de Saúde terem desenvolvido prioritariamente as valências de Saúde Materna e Saúde Infantil, e o predomínio da Clínica Médica nos Serviços Médico-Sociais determina algumas diferenças na idade e sexo dos utentes, QUADRO VI. Assim, as mulheres são mais numerosas (73,5%) nos Centros de Saúde que nos S. M. S. (61,2%), e as crianças até 15 anos representam 55,9% da procura nos primeiros e só 18,1% nos segundos. O grupo dos 15-34 anos é relativamente homogéneo nos dois subsistemas,

QUADRO IV

Comparação de distribuição percentual por subsistema no universo e na amostra

SUBSISTEMA	UNIVERSO		AMOSTRA	
		%		%
Centros de Saúde ... ..	278	16,0	34	13,9
Serviços Médico-Sociais ... ..	1 428	84,0	211	86,1
TOTAL ... ..	1 706	100,0	245	100,0

Foram excluídos os «domicílios».

No que respeita à distribuição por sexos, obteve-se na amostra uma percentagem de 37,1% de homens. Embora não se dispusesse dos valores do universo em análise, os resultados encontrados não diferem muito dos valores nacionais para o somatório de consultas em postos dos S. M. S. e para as de Saúde Materna e Infantil nos Centros de Saúde, respectivamente 41% e 59% (1977) (7). E até se aproximam mais da informação estatística sectorial recente: em 1979 nos S. M. S. os valores encontrados são 40% e 60% (8) e, as valências dos centros de saúde que aparecem referidas pelo I. N. E., apresentam os valores de 39,5% e 60,5% respectivamente (9).

Se pretendemos testar a compatibilidade da amostra com o universo verificamos, no QUADRO V, que não existem diferenças significativas quanto à distribuição global por subsistema (Centros de Saúde ou S. M. S.), por sexo e por localidade.

26,5% e 24,9%, respectivamente. Nos S. M. S. predominam os utentes de 35-64 anos, representando 47,0% do seu total e apenas 17,6% nos Centros de Saúde. Nestes, a amostra não identificou idosos (65 e + anos) enquanto nos S. M. S. eles foram 8,6% do total dos inquiridos.

Já quanto à caracterização social dos utentes (QUADRO VII), não encontramos estas diferenças. Se a frequência de menores de 15 anos faz subir o peso dos «sem profissão» a 48,5% nos Centros de Saúde (para 14,8% nos S. M. S.), quando elaboramos o índice composto de situação sócio-económica (rendimento familiar per capita, profissão e grau de instrução) que a NORMA costuma utilizar em estudos de opinião (10) observamos grande similitude.

Há uma considerável homogeneidade na população que procura cada um dos sistemas: nos Centros de Saúde 63,6% pertencem à classe média e alta e 61,5% nos S.M.S. A análise

QUADRO V

Compatibilidade da amostra com o universo

PARAMETRO	Amostra	Universo	Teste de Compatibilidade
<i>Subsistema</i>			
— Centros de Saúde (%) ... ..	13,9	16,0	$\lambda = 0,78$
— Serviços Médico-Sociais (%)	86,1	84,0	$\lambda = 0,33$
<i>Sexo (%)</i>			
— Homens ... ..	37,1	41,0(a)	$\lambda = 0,91$
— Mulheres ... ..	62,9	59,0(a)	$\lambda = 0,74$
<i>Localidades (n.º de consultas)</i>			
— Arruda dos Vinhos ... ..	25	177	$\chi^2 = 1,37$
— Bombarral ... ..	34	237	
— Nazaré ... ..	36	246	
— Moscavide ... ..	87	630	
— Brandoa ... ..	63	416	

(a) I. N. E., Estatísticas de Saúde, 1977 (último ano com desagregação por sexos).

QUADRO VI

Distribuição por grupos etários e sexo da amostra observada nos dois subsistemas

IDADE E SEXO		C. de Saúde		S. M. S.		TOTAL	
		Quant.	%	Quant.	%	Quant.	%
GRUPOS ETÁRIOS	< 15 anos	19	59,9	38	18,1	57	23,4
	15 - 24 anos	4	11,8	23	11,1	27	11,0
	25 - 34 anos	5	14,7	29	13,8	34	14,0
	35 - 44 anos	3	8,8	38	18,1	41	16,8
	45 - 54 anos	—	—	33	15,6	33	13,5
	55 - 64 anos	3	8,8	28	13,3	31	12,7
	≥ 65 anos	—	—	21	10,0	21	8,6
SEXO	Homens	9	26,5	82	38,9	91	37,1
	Mulheres	25	73,5	129	61,1	154	62,9
TOTAL		34	100,0	211	100,0	245	100,0

QUADRO VII

Caracterização sócio-económica e cultural da população utente inquirida

SITUAÇÃO		C. de Saúde		S. M. S.		TOTAL	
Indicador	Nível	Quant.	%	Quant.	%	Quant.	%
Situação Sócio-Económica	Alto	—	—	10	4,5	10	4,1
	Médio	21	63,6	119	57,0	140	6,0
	Baixo	12	36,4	81	38,5	93	38,3
Grau de Instrução	Alto	1	3,0	13	6,2	14	61,0
	Médio	24	72,8	124	59,0	148	57,0
	Baixo	8	24,2	71	33,8	79	33,0

por grau de instrução revela também as mesmas características, embora o predomínio do nível médio seja maior nos Centros de Saúde. Para cada um dos indicadores o teste de significância dá valores de  $\lambda$  extremamente baixos: 0,27 a 0,35 na situação sócio-económica e 1,32 a 1,71 no grau de instrução.

Considerámos, também, que o padrão de utilização/consumo de outros cuidados médicos em ambulatório poderia ajudar a encontrar similitudes ou diferenças nos inquiridos. A pergunta «Nos últimos 12 meses recorreu a algum «banco» hospitalar?» observam-se valores que não apresentam grande dissemelhança entre os utentes dos dois subsistemas ( $\chi^2 = 2,67$ ). E quando se perguntou «Quantos especialistas consultou nos últimos 6 meses?», as respostas são ainda mais coincidentes: 64,7% nos Centros de Saúde e 61,1% nos S. M. S. não tinham consultado nenhum, 20,6% e 26,5% consultaram um e 14,7% e 11,3% haviam consultado dois ou mais ( $\chi^2 = 0,57$ ).

Podemos concluir que, quanto aos atributos de caracterização da população inquirida, eles aparecem com valores muito próximos, tanto em utentes dos Centros de Saúde como dos Serviços Médico-Sociais. Encontra-se assim demonstrado o pressuposto de não selectividade da população, indispensável para se prosseguir na comprovação da hipótese.

#### 4.2. Satisfação dos utentes

Nas respostas obtidas às seis perguntas que deram origem a indicadores de satisfação

foram aplicados testes para verificar diferenças de proporções (11). Só em três casos as diferenças são significativas, conforme se pode observar no QUADRO VIII.

A diferença menos significativa foi encontrada na resposta afirmativa à pergunta «Acha que valeu a pena ter vindo hoje à consulta?». Responderam afirmativamente 100% dos utentes nos Centros de Saúde e 89% nos S. M. S. A seguir aparece a opinião sobre a evolução dos serviços, 52% nos Centros de Saúde e 53% nos S. M. S., consideram que os serviços estão «muito melhores» ou «melhores», em relação a cinco anos atrás. Também a preferência manifestada pelo recurso ao serviço frequentado se lhe fosse dado a escolher, não se revela significativamente diferente: 91% nos Centros de Saúde e 78% nos S. M. S. As diferenças notórias aparecem na resposta à opinião sobre os serviços, à razão da escolha e ao aumento da procura daquele serviço oficial de saúde. 69% dos inquiridos nos Centros de Saúde e apenas 41% nos S. M. S. responderam «Muito Bem» ou «Bem» à pergunta «Como acha que estão a funcionar os serviços de saúde da sua área?». 53% nos Centros de Saúde e apenas 30% nos S. M. S. adiantaram como razão de escolha as respostas «médico de confiança», «é bem atendido» ou «é a que frequenta habitualmente». E finalmente 37% nos Centros de Saúde e 12% nos S. M. S. manifestaram uma mudança de hábitos de frequência de serviços em relação ao passado recente (cinco anos). Em relação a

QUADRO VIII

Indicadores de satisfação de utentes dos C. S. e S. M. S.  
 Percentagem de respostas favoráveis, por ordem decrescente de significância

INDICADOR	C. S.	S. M. S.	Teste de diferença de proporções $ \lambda $
1. <i>Aumento na procura de serviços públicos</i> : combinação de respostas revelando mudança de hábitos de frequência de serviços	36,7	12,2	8,44 *
2. <i>Razão de escolha</i> : respostas «médico de confiança», «é bem atendido» ou «é a que frequenta habitualmente» à pergunta «Qual a razão porque escolheu esta consulta?»	52,9	29,8	3,79 *
3. <i>Opinião actual sobre os serviços</i> : respostas MB ou B à pergunta «Como acha que estão a funcionar os serviços de saúde da sua área?»	68,8	41,2	3,26 *
4. <i>Onde preferia ter ido</i> : respostas «aqui mesmo» ou «aqui, a outro médico», à pergunta «Onde preferia ter ido por este motivo de consulta?»	91,2	77,7	0,92
5. <i>Satisfação</i> : resposta afirmativa à pergunta «Acha que valeu a pena ter vindo hoje à consulta?»	100,0	88,9	0,67
6. <i>Evolução dos serviços</i> : respostas «Muito melhores» ou «Melhores» à pergunta sobre como considera os serviços em relação à cinco anos atrás	32,4	53,3	0,08

\* São significativos, a mais de 1%,  $\lambda \geq 2,58$ .

este último indicador parecem, todavia, suscitar-se-nos algumas reservas: embora a formulação das respostas possíveis tenha permitido identificar o serviço de saúde (público ou de empresa) para o qual se orientou a mudança de hábitos de frequência, outros factores, não enquadráveis em «satisfação dos utentes», poderão justificar esse aumento de procura: consciência do direito à utilização dos serviços como contrapartida das quotizações salariais para o seguro-doença, redução da disponibilidade-acessibilidade da oferta alternativa, aumento do preço — intrínseco ou exterior — dos outros serviços oferecidos.

Poderemos afirmar que, se não aparecem diferenças significativas de opinião quanto à satisfação pelo uso de um ou outro dos subsistemas em perguntas de resposta obviamente favorável aos serviços — percentagens sempre superiores a 50% ou até acima de 75% — essas diferenças são já notórias em perguntas que procuram conhecer razões de satisfação

um pouco mais profundas, como as motivações da procura (razão de escolha) e a opinião concreta sobre os serviços da sua área.

#### 4.3. Qualidade dos cuidados

Os indicadores inicialmente propostos não parecem ter todos a mesma validade: a quantidade de medicamentos, a percentagem de utentes a quem foram prescritas radiografias e a percentagem de utentes a quem foram prescritas análises, não permitem indicar, com segurança, variações na qualidade de cuidados. As diferenças quanto aos dois primeiros são altamente significativas (a mais de 1% (QUADRO IX) mas provavelmente decorrerão de casuísticas pouco semelhantes — e aqui o peso da Clínica Médica nos S. M. S. pode ser decisivo —; poderão também decorrer de diferentes normas de atendimento, ou ainda de diferentes motivações de procura — os Centros de Saúde são supostos praticarem mais consultas de «manutenção» que os

QUADRO IX

Prescrição de medicamentos, radiografias e análises em CS e SMS

INDICADOR	C. S.	S. M. S.	Teste de diferença de proporções $ \lambda $
<i>Medicamentos prescritos</i> : número médio por consulta (unidades)	1,47	2,66	3,30 *
<i>Prescrição de radiografias</i> : utentes a quem tenham sido prescritas radiografias nos últimos 6 meses (%)	17,7	36,5	3,04 *
<i>Prescrição de análises</i> : utentes a quem tenham sido prescritas análises nos últimos 6 meses (%)	47,1	53,3	0,65

\* Significativos, a mais de 1%,  $\lambda \geq 2,58$ .

S. M. S., logo, usarão de maior sobriedade na prescrição de medicamentos, de radiografias e de análises. Se ainda se pode admitir que a economia terapêutica possa funcionar como indicador indirecto de qualidade — e não deixa de causar surpresa o número elevado de medicamentos prescritos por consulta nos Centros de Saúde —, já o mesmo se não pode dizer dos dois outros indicadores. A prescrição de análises é sinal de recurso à tecnologia

adequada até um dado limite, naturalmente difícil de conhecer, passando a sintoma de consumo desnecessário ou de insegurança do clínico, a partir desse limite. A prescrição de radiografias é muitas vezes imprescindível em consultas pré-baixas ou pré-reforma, as quais só existem nos S. M. S.

Nestas condições, apenas os restantes indicadores (QUADRO X) poderão servir para discriminar a qualidade dos serviços. Trata-se,

QUADRO X

Possíveis indicadores de qualidade de cuidados nos C. S. e S. M. S., por ordem decrescente de significância

INDICADOR	C. S.	S. M. S.	Teste de diferença de proporções $ \lambda $
<i>Observação na pré-consulta</i> : simples existência ou ausência de qualquer exame prévio (peso, T. A., etc.) (%)	67,7	6,2	23,6 *
<i>Duração da consulta</i> : duração média segundo informação colhida do utente (minutos)	14,6	9,6	2,73 *
<i>Ensino da medicação</i> : caso tenha sido praticado pelo médico ou enfermeira (%)	100,0	89,3	0,57
<i>Não repetição de consultas</i> : resposta negativa «Por esta mesma razão já foi ao médico?» ou afirmativa, desde que ao mesmo médico (%)	64,7	72,0	0,56

\* significativos, a mais de 1%,  $\lambda \geq 2,58$ .

é bom frisar, de indicadores indirectos, cuja única garantia reside em terem recebido o consenso dos autores. Não admira a diferença observada quanto à existência de exame prévio na consulta. Sendo essa a rotina recomendada nos Centros de Saúde, surpreende até a baixa percentagem encontrada. A duração elevada da consulta nos Centros de Saúde também não traz surpresa, se nos lembrarmos da constrição temporal ainda prevalente nos S. M. S.: a cada consulta de Clínica Médica são destinados 10 minutos (12 doentes em duas horas). O ensino de medicação e a não repetição de consultas não apresentam diferenças significativas.

## 5. Discussão

A análise dos serviços prestados pelos subsistemas dos Serviços Médico-Sociais e dos Centros de Saúde, terá de incidir cada vez mais no conteúdo e qualidade do acto principal — a consulta — do que em valores globais relativos a volume, preço, e seus comportamentos tendenciais. A análise a nível micro tem de identificar o próprio conteúdo do acto de consulta, os serviços que o compõem, as razões que a motivam e a satisfação que deixam no utente. As análises de conteúdo usadas em meio hospitalar não têm aplicação fácil em cuidados primários ambulatoriais, qualquer que seja a modalidade de recolha de informação utilizável. Na realidade, a técnica de «análise de actividade» pressupõe inúmeras observações instantâneas do prestador e a de «observação contínua», o seguimento permanente do doente (12). Uma e outra parecem pouco adequadas ao «colóquio singular» que caracteriza a consulta, pela rotura de privacidade que pressupõem. Daí o recurso ao inquérito aos utentes, subsequente ao acto de consulta. O ideal seria complementá-lo com inquérito aos prestadores (médicos e enfermeiras) para controlo dos resultados obtidos. Dificuldades de ordem operacional impossibilitaram a realização do inquérito inicialmente planeado, a uma amostra representativa dos médicos que trabalham nas localidades estudadas.

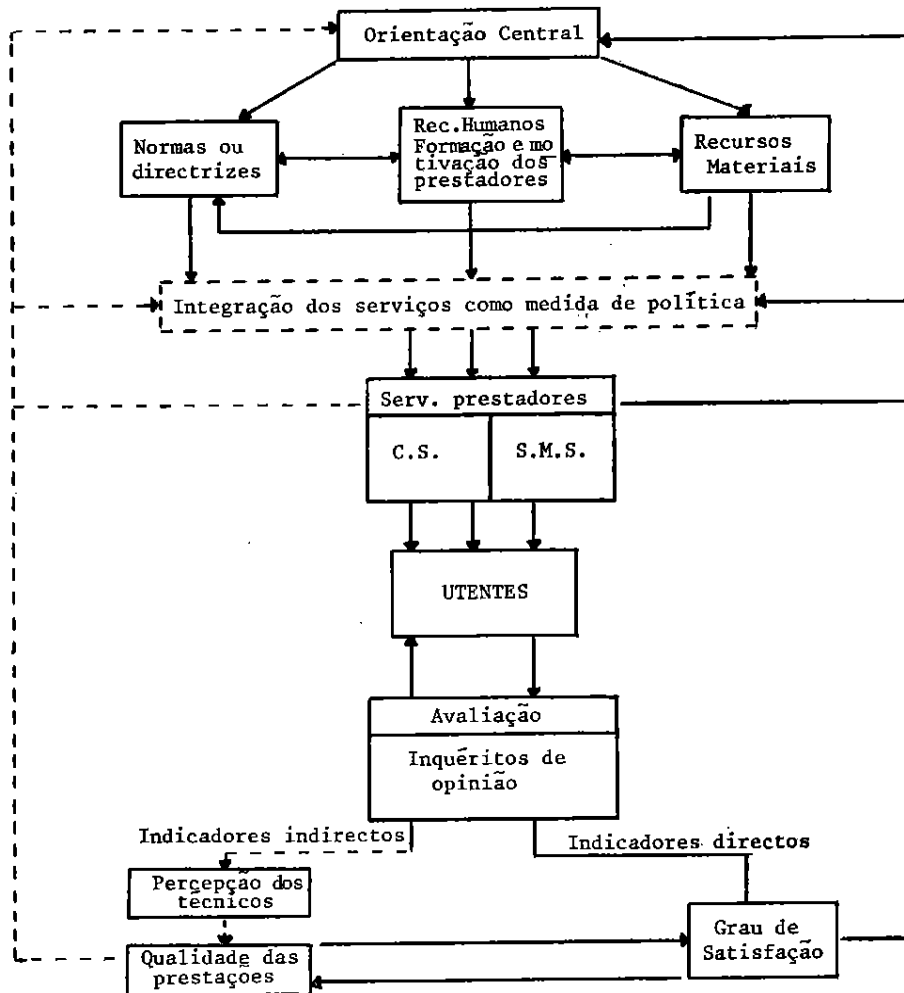
O presente inquérito pretendeu iniciar entre nós uma metodologia de avaliação de cuidados de saúde primários prestados nos dois diferentes subsistemas — Centros de Saúde e S. M. S., seleccionando indicadores directos — os de satisfação dos utentes — e indicadores

indirectos — os que, na percepção de técnicos da saúde, poderão facultar informação aproximada sobre a qualidade das prestações. De acordo com o diagrama apresentado na FIGURA A, os serviços prestados traduzem a influência de três grupos de elementos: os *meios ou recursos materiais* (instalações, equipamentos, bens de consumo), os *meios humanos*, isto é, os prestadores de cuidados, essencialmente médicos e enfermeiros, cuja qualidade de trabalho é determinada pela sua formação e pelo grau de motivação com que desempenham as tarefas cometidas e as *normas ou directrizes* determinadas pelos órgãos de orientação central. Já vimos, em trabalho anterior (1) a importância que na congregação racional destes meios pode ter a orientação política de *integração de serviços*, e os seus reflexos na qualidade, satisfação e eficácia e eficiência das prestações. Agora, no presente trabalho pretendeu-se testar a hipótese nula que admitia a não-existência de diferenças significativas entre os dois subsistemas, na satisfação dos utentes e na qualidade das prestações. Comprovámos a homogeneidade da população frequentadora, não em relação a grupos etários e sexo, mas em relação a nível social, económico e cultural e ao padrão de consumo-utilização de outros cuidados de saúde. E observámos que existem diferenças significativas quanto ao grau de satisfação, nomeadamente quanto à razão de escolha do serviço de saúde utilizado e quanto à opinião actual sobre o mesmo. Observámos também que dentre os quatro indicadores indirectos de qualidade considerados utilizáveis, a existência de observação na pré-consulta e a duração da consulta são os mais claramente discriminatórios. *Em ambos os grupos de indicadores, os serviços prestados em Centros de Saúde resultaram mais favoravelmente apreciados que os prestados em Postos dos Serviços Médico-Sociais.*

Se é certo que rejeitámos a hipótese nula inicialmente colocada, também não aprofundámos a análise dos factores causais das diferenças observadas. O diagrama apresentado na FIGURA A permite-nos antever o interesse em prosseguir esta linha de investigação para conhecer os factores mais responsabilizáveis pelas diferenças. «A priori», parece que os três grupos atrás referidos poderão estar-lhes associados. Mas também julgamos interessante conhecer o possível efeito da integração dos serviços. Para tal o recurso à matriz de tipificação dos níveis de integração apresentada

FIGURA A

Diagrama da avaliação de serviços de cuidados primários por inquérito de opinião



no anterior trabalho (1) depois de testada e corrigida a partir de dados de outros locais, poderá ter utilidade no conhecimento do comportamento das diferenças dentro de cada localidade.

Se quisermos recomendar linhas de orientação para futuros trabalhos nesta área, diremos, em síntese, que elas deverão:

- ter em conta comparações de consultas de casuística tanto quanto possível semelhante: ex. Saúde Materna e Obstetrícia, Saúde Infantil e Pediatria;
- analisar isoladamente o efeito de cada um dos três componentes principais

— normas ou directrizes técnicas, formação e motivação dos prestadores e meios materiais — para conhecer toda a amplitude do seu efeito;

— identificar o impacto das decisões políticas de integração de serviços, isolando-a também dos três factores referidos;

— utilizar critérios diferentes para avaliar serviços que é pressuposto serem realmente diferentes (consultas de «manutenção» ou consultas de «doença») e finalmente,

— melhorar o desenho do projecto de investigação para evitar os inconvenien-

tes que resultam do recurso indiscriminado ou anárquico pelos utentes, a um ou outro dos subsistemas, procurando conhecer as motivações que, em cada momento, os determinam.

#### REFERÊNCIAS

- 1 — NATÁRIO Adriano et al. — Integração de Unidades de Cuidados Primários de Saúde: Avaliação da Eficácia dos Serviços, *Arquivos do Instituto Nacional de Saúde*, vol. V, 1981, p. 311-323.
- 2 — Os valores relativos a gastos públicos em saúde foram retirados de CORREIA DE CAMPOS, A., GIRALDES M. do Rosário, THEIAS Margarida e ALMEIDA M. Odete, Gastos Públicos com a Saúde em Portugal, 1970-1978, Comunicação apresentada ao Congresso Mundial de Economia da Saúde, Leyden, Setembro de 1980.
- 3 — D. G. Saúde, Elementos Estatísticos dos Hospitais Concelhios, 1979.
- 4 — MENDO Paulo e CARVALHO Luis, — O acesso nos cuidados de urgência, II.ª Jornadas de Administração Hospitalar, ENSP, 1978.
- 5 — TRANQUADA Maria Suzette — Hospitais Centrais, Despesas de Exploração e Custos no Triénio de 1976/1978, D. G. H., 1978.
- 6 — GONÇALVES FERREIRA F. A. — Padrão de Doença em Portugal e suas tendências, *Arquivos do Instituto Nacional de Saúde*, vol. V, 1981, p. 59-63.
- 7 — I. N. E., Estatísticas da Saúde, 1977 (último ano com desagregação por sexos).
- 8 — I. N. E., Estatísticas da Saúde, 1978.
- 9 — I. N. E., Estatísticas da Saúde, 1979.
- 10 — NORMA, S. A. R. L. — Estudo de Opinião Junto de Utentes dos S. M. S., Dez. 1979.
- 11 — GALVÃO DE MELO F. — Introdução aos Métodos Estatísticos, Vol. II, Cadernos do Instituto de Orientação Profissional, Lisboa, 1973, p. 248.
- 12 — BARR ALEX — Measurement of Nursing Care, Operational Research Unit, Oxford Regional Hospital Board, 1967, 26 p.



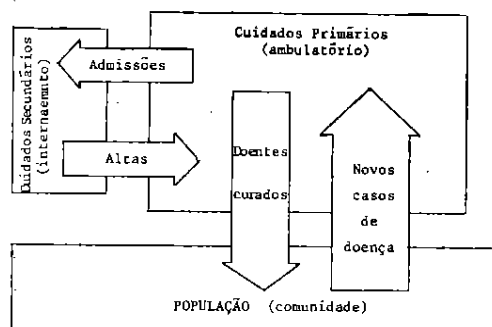
# CINCO ANOS DE AMBULATÓRIO EM SAÚDE MENTAL: POSSÍVEIS CONSEQUÊNCIAS NO SECTOR DE INTERNAMENTO PSIQUIÁTRICO

J. G. Sampaio-Faria \*

## Introdução

Pode dizer-se e de uma maneira geral, que o presente padrão da procura exercida sobre os serviços de cuidados ambulatoriais psiquiátricos sofre fundamentalmente a influência, quer do balanço existente entre as taxas de incidência e resolução (cura) dos casos de doença mental prevalentes, quer do balanço entre o fluxo de doentes admitidos e saídos no sector de cuidados de internamento (Fig. 1).

## Principais sub-sistemas responsáveis pelos níveis de pressão exercidas no sector de cuidados ambulatoriais



Para uma taxa crescente de incidência por exemplo, e uma fraca capacidade de resposta dos serviços existentes, tenderá a haver um conseqüente exagero da procura exercida nos serviços do sector primário. Também, e de modo idêntico, a um ritmo de altas mais elevado do que o das admissões deverá corresponder seguramente uma maior pressão a nível dos cuidados ambulatoriais. Qualquer alteração quantitativa ou qualitativa exercida num elemento do sistema conduzirá a uma modificação dos presentes níveis de equilíbrio existentes.

Se bem que em termos de volume, o balanço incidência/cura seja significativamente mais elevado que o da interface ambulatorio/internamento, este último reveste-se de particular importância na medida em que é a ele que se vem dedicando a quase totalidade dos recursos humanos, físicos e económicos disponíveis entre nós, na área dos cuidados de saúde mental.

## Métodos

Tendo como base os dados estatísticos do I. N. E. já publicados (Estatísticas de Saúde, 1969-78, Anuário Estatístico 1978), procuramos descrever qual a tendência evolutiva re-

\* Especialista de psiquiatria do HOSPITAL MIGUEL BOMBARDA, Lisboa. Docente da Escola Nacional de Saúde Pública, Lisboa.

cente observada a nível do balanço existente entre os sectores de internamento e ambulatório. Dado que apenas existem números sobre o ambulatório desde 1975, o presente estudo cobre apenas o período compreendido entre 1975-78.

#### Tendências Observadas desde 1975.

##### 1 — No sector de internamento

No Quadro 1, pode ver-se que a partir de 1975 se desenha em Portugal um decréscimo do número total das admissões efectuadas em estabelecimentos de psiquiatria com internamento, fenómeno aliás similar ao que se vem verificando noutros países europeus. Essa baixa global reflecte sobretudo a quebra existente a nível das 1.<sup>as</sup> e 2.<sup>as</sup> admissões (descidas de 14% e 3% respectivamente), tendência essa que não encontrou compensação com a subida de 16,6% observada a nível das 3.<sup>as</sup> e mais admissões.

QUADRO 1

#### 1.<sup>as</sup>, 2.<sup>as</sup>, 3.<sup>as</sup> E MAIS ADMISSÕES NOS ESTABELECIMENTOS DE PSIQUIATRIA COM INTERNAMENTO, NO PERÍODO 1969/78

	1. <sup>as</sup>	2. <sup>as</sup>	3. <sup>as</sup> e +	TOTAL
1969	6 026	1 323	1 287	8 636
1970	6 475	1 662	1 576	9 713
1971	6 905	1 728	1 816	10 449
1972	7 205	1 885	1 950	11 040
1973	7 770 (28,9)	1 807 (36,6)	1 837 (42,7)	11 414 (32,2)
1974	8 045	2 128	2 292	12 465
1975	8 465	2 293	2 721	13 777
1976	8 763	2 432	2 899	13 796
1977	7 821	2 352	2 715	12 888
1978	7 543 (25,2)	2 227 (68,3)	3 175 (146,7)	12 945 (49,9)

NOTA: percentagem de aumento entre parêntesis.

O Quadro 2 mostra que a diminuição das 1.<sup>as</sup> admissões parece ser real, visto que as respectivas taxas por 100 000 habitantes apresentam também um decréscimo a partir de 1975.

Esta baixa das admissões, associada a uma diminuta capacidade de mobilização e reinserção social dos doentes há longos anos internados nas Instituições psiquiátricas — existe um excesso médio anual de apenas 84 altas

QUADRO 2

#### NÚMERO E TAXAS DE 1.<sup>as</sup> ADMISSÕES, NOS ESTABELECIMENTOS DE PSIQUIATRIA COM INTERNAMENTO NO PERÍODO 1969/78

ANO	Número	Taxa (100.000)
1969	6 026	66,4
1970	6 475	71,8
1971	6 905	77,0
1972	7 205	80,3
1973	7 770	86,5
1974	8 045	87,3
1975	8 763	91,0
1976	8 465	87,3
1977	7 821	80,0
1978	7 543	76,7

NOTA: percentagem de aumento entre parêntesis.

em relação às admissões nos últimos 10 anos — poderá explicar, como se verifica no Quadro 3, que o número de altas global e por cama tenha vindo a diminuir nos últimos anos.

##### 2 — No sector ambulatório (brigadas móveis e dispensários de saúde mental).

No Quadro 4 mostra que o número de consultas aumentou em termos absolutos de 21,3%, tendo as respectivas taxas por 100.000 habitantes sofrido um acréscimo de 18,8%, valores que apontam para uma possível inten-

QUADRO 3

**PRODUTIVIDADE DAS CAMAS EXISTENTES NOS ESTABELECIMENTOS DE PSIQUIATRIA COM INTERNAMENTO NO PERÍODO 75/78**

Anos	Camas existentes	Altas	Altas/Cama
1975	10 482	13 960	1.3
1976	10 353	13 804	1.3
1977	10 607	12 863	1.2
1978	10 970	13 344	1.2

sificação real da procura deste tipo de cuidados.

QUADRO 4

**CONSULTAS E RESPECTIVAS TAXAS/ /100 000 HABITANTES REALIZADAS PELAS BRIGADAS MÓVEIS E DISPENSÁRIOS DE SAÚDE MENTAL ENTRE 1975/78**

ANOS	NÚMERO	TAXAS (100.000)
1975	102 002	1 058,8
1976	106 187	1 103,1
1977	112 397	1 149,5
1978	123 691 (21,3%)	1 257,9 (18,8%)

NOTA: percentagem de aumento entre parêntesis.

No Quadro 5, pode ver-se que os recursos humanos em serviço nos dispensários e brigadas móveis de saúde mental registaram um acréscimo global de 19,8% desde 1975. É interessante verificar que essa evolução positiva se apresenta com amplitude diferente para as diversas categorias profissionais, chegando mesmo a ser negativa para o sector dos enfermeiros (-11%).

Para um aumento de recursos humanos da ordem dos 19,8%, o respectivo volume de consultas efectuadas sofre um crescimento percentual aproximado (21%), não parecendo portanto ter-se registado uma melhoria significativa dos níveis de produtividade prevalentes. Este aspecto torna-se mais aparente no Quadro 6, que apresenta a produtividade das várias categorias profissionais ao serviço nos

QUADRO 5

**RECURSOS HUMANOS, SEGUNDO A PROFISSÃO, EM SERVIÇO NOS DISPENSÁRIOS E BRIGADAS MÓVEIS DE SAÚDE MENTAL 1975/78**

	1975	1976	1977	1978
Médicos	109	109 (0)	126 (15,6)	159 (45,9)
Enfermeiros	101	104 (2,0)	94 (-6,9)	90 (-10,9)
Pessoal administrativo	129	134 (3,9)	141 (9,3)	150 (16,3)
Outros profissionais	60	55 (-8,3)	75 (25)	79 (31,7)
Total	399	402 (0,8)	436 (9,2)	478 (19,8)

NOTA: percentagem de aumento entre parêntesis.

dispensários e equipas móveis de saúde mental no período 1975/78. Verifica-se que o número de consultas por profissional praticamente não se modificou, chegando mesmo a diminuir no que respeita ao grupo dos médicos e outros profissionais.

Mas se a produtividade não parece ter melhorado em termos quantitativos, o mesmo se não poderá dizer quanto à eficácia conseguida no que respeita à redução do número de internamentos.

QUADRO 6

**PRODUTIVIDADE DOS RECURSOS HUMANOS AO SERVIÇO NOS DISPENSÁRIOS E EQUIPAS MÓVEIS DE SAÚDE MENTAL NO PERÍODO 1975/78**

	1975	1978
Consultas/Profissional	256	259
Consultas/Médico	936	778
Consultas/Enfermeiro	1 010	1 374
Consultas/Administrativo	791	825
Consultas/Outros Profissionais	1 700	1 566
Internamentos/Equipa	6.7	4.9

QUADRO 7

ACTIVIDADE DESENVOLVIDA PELOS DISPENSÁRIOS E EQUIPAS MÓVEIS  
DE SAÚDE MENTAL ENTRE 1975/78

Anos	1975	1976	1977	1978
Consultas	102 002	106 987	112 397	(21,3) 123 691
Doentes que baixaram ao Hospital	1 414	1 103	1 261	(-12,0) 1 244

NOTA: percentagem de aumento entre parêntesis.

Com efeito, o Quadro 7 e a última linha do Quadro 6 mostram que, tanto o número de doentes seguidos nas consultas e que baixaram ao hospital, como o de internamentos por equipa (médico+enfermeiro) têm vindo a diminuir desde 1975, apesar do aumento verificado no número de consultas realizadas durante o período. Este facto pode ser justificativo da quebra que nos últimos anos se tem vindo a verificar no volume de internamentos psiquiátricos em Portugal, aspecto a que já foi feita a devida referência no início deste trabalho.

**CONCLUSÕES**

Desde 1975 que as admissões em estabelecimentos de psiquiatria com internamento têm diminuído a um ritmo médio de 1,5% ao ano.

Esta baixa, associada à insuficiente capacidade de reinserção comunitária dos doentes asilados é responsável pela descida também verificada no número de altas.

Simultaneamente o número de consultas efectuadas nos dispensários e equipas móveis vem aumentando a um ritmo médio de 5,3% ao ano, tendo no mesmo período diminuído o número de utentes das consultas que baixou ao hospital.

Estas tendências sugerem que a melhoria operacional registada a nível dos cuidados ambulatoriais, constitui um dos factores determinantes da presente redução do número de admissões em estabelecimentos de psiquiatria com internamento.

**BIBLIOGRAFIA**

- I. N. E. — Estatística da Saúde  
1969 - 1978.
- I. N. E. — Anuário Estatístico  
1978.

## A SITUAÇÃO PROTEICA NACIONAL

F. A. Gonçalves Ferreira \*

Em 23 de Novembro de 1931, iniciou-se em Lisboa, sob o patrocínio da NOPROT 81, organização promotora de estudos relacionados com a produção de proteínas alimentares não convencionais em Portugal, o I Simpósio sobre produção de novas proteínas e utilização de recursos inexplorados.

O Simpósio foi principalmente constituído por mesas redondas e comunicações em que foram analisados problemas de produção de proteínas a partir de microalgas, de bactérias e outros microrganismos e, ainda, problemas de matérias-primas, relativos à bioconversão de biomassa, resíduos líquidos e matérias celulósicas.

Os trabalhos de análise foram precedidos por uma exposição que os organizadores intitularam «A situação proteica nacional», que é agora publicada neste VI volume dos «Arquivos do INNSA», pelo interesse das relações de vários dos seus dados informativos com os estudos de alimentação-nutrição-saúde efectuados nos serviços do INSA, principalmente sobre necessidades e valor biológico das proteínas de consumo corrente em Portugal.

*Esta exposição no começo do I Simpósio Nacional sobre produção de novas proteínas e utilização de recursos inexplorados tem por objectivo a análise da situação alimentar portuguesa, no que diz respeito às necessidades*

*e disponibilidades de proteínas para consumo da população, e nela serão apresentados e discutidos os seguintes assuntos principais:*

- 1 — *Estado actual dos nossos conhecimentos sobre o cálculo das necessidades e a avaliação das disponibilidades de proteínas — totais, animais e vegetais — para a alimentação humana em Portugal;*
- 2 — *Comparação da situação portuguesa com a de outros países mais evoluídos, quanto à finalidade da elaboração e actualização de Tabelas de Necessidades por grupos de idades, sexo, valor médio padrão e diferenças entre valores recomendados em diversos países.*
- 3 — *Como têm sido avaliadas as necessidades de proteínas no decurso de um século até ao presente e que significado atribuir às Tabelas de Necessidades e às diferenças verificadas entre os valores recomendados e os valores do consumo real pelas populações respectivas;*

\* Director do Instituto Nacional de Saúde e do Centro de Estudos de Nutrição. Professor de Nutrição na Escola Nacional de Saúde Pública.

4 — *Análise comparativa da situação portuguesa em 1961-1962 e no presente, a 20 anos de distância;*

5 — *O problema da quantidade e da qualidade das proteínas alimentares, as relações com o valor da energia consumida (calorias) e os estudos efectuados em alimentos portugueses;*

6 — *A investigação a desenvolver com objectivos concretos em termos de política alimentar, de nutrição e de saúde geral da população, quanto a:*

a) *proteínas totais desejáveis — quantidade e fontes alimentares principais no presente;*

b) *proteínas animais — quantidade e fontes alimentares a considerar prioritariamente;*

c) *proteínas vegetais — quantidade e fontes alimentares a considerar prioritariamente;*

d) *proteínas de alimentos não habituais, novos ou de síntese que convirá aproveitar, directa ou indirectamente, para a alimentação da população portuguesa;*

e) *enriquecimento de alimentos habituais ou dietéticos com proteínas seleccionadas ou ácidos aminados.*

7 — *O papel do CAN (Conselho de Alimentação e Nutrição), do CEN (Centro de Estudos de Nutrição do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge), do IQA (Instituto da Qualidade Alimentar) e de outras instituições da Agricultura, Comércio e Pescas, Indústria, Universidades e Comissão Nacional da FAO, na promoção da investigação a desenvolver no campo das proteínas alimentares em Portugal.*

1 — *O cálculo das necessidades alimentares dos indivíduos, de grupos da população, da população de cada país e da população mundial continua a apresentar dificuldades de ordem científica, técnica e administrativa e exige mais estudos para se poderem analisar*

na extensão necessária os factores de variação intervenientes. Mas as dificuldades não são menores quando se procura avaliar o consumo real de alimentos — ou seja a quantidade de alimentos que são ingeridos pelas pessoas em populações inteiras — e comparar este consumo real com a quantidade de alimentos que as mesmas populações utilizam, e ainda comparar a quantidade real consumida, isto é, que foi ingerida, a quantidade que foi adquirida ou gasta e a quantidade total que estava disponível para a alimentação humana.

As diferenças que têm sido verificadas entre as disponibilidades de alimentos, as quantidades gastas e o consumo real são enormes, avaliando-se as perdas num país de boas estatísticas e com o assunto cuidadosamente estudado, como são os EUA, em cerca de 50%, o que significa que metade dos alimentos destinados a consumo humano se perdem em desperdícios e outras faltas de aproveitamento, até serem ingeridos. Estas dificuldades de estudo — tanto em Portugal e outros países de nível semelhante de desenvolvimento como nos países evoluídos — continuam a ser desafios à eficiência e capacidade dos respectivos organismos de estudo e investigação nacionais, e também, a nível mundial, para a FAO e outros organismos responsáveis pela sua orientação. Em alguns países, porém, foram feitos avanços importantes no esclarecimento de todo este complexo problema, e os seus serviços de estudo e investigação, quer no sector da alimentação e da política alimentar que a deve condicionar, quer da nutrição nas suas relações com o metabolismo humano e a saúde geral da população, dispõem de dados mais concretos e seguros e em permanente actualização.

Em Portugal, os estudos conduzidos pelo Centro de Estudos de Nutrição (CEN) do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, como é referido adiante no ponto 3, levaram à elaboração recente de uma *Tabela de Necessidades de Nutrientes e de Alimentos*, que veio a ser aprovada oficialmente em 1978, e compreende duas partes:

a) a *lista de nutrientes* cujas quantidades recomendadas para assegurarem o equilíbrio da nutrição individual são consideradas adequadas para satisfazerem as necessidades gerais da população. Assenta nos dados referentes a 11 nutrientes, incluindo os energéticos. Um *Padrão médio* para toda a população, aqui

referido apenas para calorias e proteínas, foi calculado a partir de aproximações pragmáticas (Quadro 1);

QUADRO 1

Tabela de necessidades de calorias e proteínas

IDADE (Anos)	CALORIAS	PROTEÍNAS (g/dia)
0-0,5	700	12,5
0,6-1	900	30
1-2	1150	40
3-5	1300	45
6-9	1900	60
10-14	2800-2400	80-75
15-19	3000-2400	90-80
20-49	2700-2200	85-70
50-64	2500-2000	75-65
≥ 65	2350-1800	75-63
Padrão médio	2800	80

b) a lista dos alimentos desejáveis que devem fornecer os nutrientes indispensáveis especificados na lista a), e que aparecem expressos em quantidade de consumo diário (Quadro 2).

QUADRO 2

Tabela de necessidades de alimentos

ALIMENTOS	QUANTIDADE (g/dia)	PROTEÍNAS (g/dia)
Leite e derivados	400	12
Carne e peixe	160	20
Ovos	25	3
Pão	300	19
Arroz e massas	75	5
Vegetais verdes	500	13
Batata	400	7
Frutos	300	1

porém, em face da lista dos alimentos recomendados, a cerca de 35 g de proteínas animais (proporção de 44%) e de 45 g de proteínas vegetais (proporção de 56%).

A contribuição em proteínas dos diversos grupos de alimentos do «Padrão» do CEN seria a indicada no Quadro 3.

As disponibilidades de proteínas para consumo da população têm sido calculadas pelo Instituto Nacional de Estatística (INE), anualmente, em função dos alimentos considerados como destinados ao consumo da população, e

QUADRO 3

Proteínas dos alimentos

POR GRUPO DE ALIMENTOS	1.º GRUPO	2.º GRUPO	3.º GRUPO	4.º GRUPO	5.º GRUPO
Proteínas totais (g/dia)	12	23	—	24	21
Proteínas animais (g/dia)	12	23	—	—	—
Proteínas vegetais (g/dia)	—	—	—	24	21

**Padrão médio**

Proteínas totais	(g/dia)	80
Proteínas animais	(g/dia)	35 (44%)
Proteínas vegetais	(g/dia)	45 (56%)

Na primeira lista (nutrientes), as proteínas aparecem expressas em valor global, como proteínas totais, e não separadas nas de proveniência animal e vegetal. A quantidade total de 80 g, do Padrão médio deve corresponder

provenientes tanto de produção interna como importados.

Os valores dos últimos anos, de que foram dados a conhecer os cálculos, constam do Quadro 4.

QUADRO 4

**Disponibilidades alimentares anuais**  
(Balanças alimentares INE)

PROTEÍNAS, G/DIA	1974	1975	1976	1977
Proteínas totais	87,7	86,4	80,1	83,7
Proteínas animais	39,5 (45%)	39,6 (46%)	37,8 (47%)	38,7 (46%)
Proteínas vegetais	48,2 (55%)	46,6 (54%)	42,3 (53%)	45,0 (54%)

O valor do consumo real, avaliado por inquéritos directos na população, é ainda mal conhecido entre nós, por dispormos apenas de dados fragmentários e limitados, podendo citar-se os do Quadro 5.

QUADRO 5

**Dados de inquéritos alimentares**

	PROTEÍNAS G/DIA		
	Totais	Animais	Vegetais
Baixo Alentejo (1973)			
Zona 1	59	12	47
Zona 2	81	20	61
Torres Vedras (1977)	91-118	4-66	49-51
Lisboa (1978)			
(100 Famílias)	98	65,9	32,1
Ponte de Lima (1979)			
Verão	58,9	14,1	44,8
Inverno	69,9	27,3	42,7

Por curiosidade, fazemos referência a cálculos de necessidades e disponibilidades de proteínas feitos entre nós por alguns investigadores, desde 1940, traduzidos nos valores do Quadro 6, os quais mostram dois factos importantes: o valor baixo das proteínas animais e a restrição no período da guerra (1939-1945).

Espera-se que os dados do inquérito alimentar nacional iniciado em 1980, sob a orientação do CEN, que em princípio deveria abranger 2<sup>o</sup>/<sub>00</sub> da população, ou sejam cerca de 18 000 pessoas de todas as idades e regiões do País, comecem em breve a ser apurados, o que per-

QUADRO 6

**Valores de proteínas calculados de 1940 a 1960**  
(Gramas/Pessoa/Dia)

	PROTEÍNAS		
	Totais	Animais	Vegetais
Maia Loureiro (1940) (1927-1937)	92	20 (21,8%)	72 (78,2%)
Rocha Faria (1950) (1937-1947)	60	16 (26,7%)	44 (73,3%)
Gonçalves Ferreira (1963) - (1960)	73,3	27,2 (37%)	46,1 (63%)
Antunes Serra (1957) (previsão)	100	35 (35%)	65 (65%)

mitirá dispor de elementos para avaliar, simultaneamente, o nível de consumo real dos diversos alimentos correntes e a situação alimentar da população, bem como o grau dos desequilíbrios regionais, económicos e sociais, que existem sempre em qualquer população, mas de que desconhecemos a extensão presente em Portugal.

2 — *A comparação da situação portuguesa com a de outros países mais evoluídos, quanto à finalidade de elaboração e actualização de Tabelas de Necessidades pormenorizadas, mostra que entre nós apenas se deram os primeiros passos para se dispor de uma lista de recomendações, quer de nutrientes, quer de alimentos desejáveis para satisfazerem as necessidades correspondentes aos valores das recomendações.*

A finalidade das *Tabelas de Necessidades*, sob a forma de recomendações quantitativas, tem por toda a parte os mesmos objectivos, que são, fundamentalmente:

- a) dispor de elementos concretos para uma população das necessidades médias de nutrientes e dos alimentos consequentes aconselhados, com suficiente margem de segurança para evitar desequilíbrios ou deficiências;
- b) comparar estes valores com os das disponibilidades alimentares na população e com os dos consumos reais, tanto quanto for possível, para tirar as conclusões adequadas que sirvam para

organizar as campanhas de educação alimentar convenientes e tomar outras medidas de política alimentar geral, como a previsão dos alimentos necessários e a forma de assegurar a sua disponibilidade para consumo;

- c) orientar o estabelecimento de dietas especiais, da alimentação por sonda em doentes e, de maneira geral, da alimentação colectiva.

Pelos dados do Quadro 7, podemos avaliar as diferenças entre as recomendações apresentadas pelos organismos responsáveis de vários países para as suas populações, exemplificadas no homem adulto.

QUADRO 7

Necessidades do homem adulto

PAIS	IDADE	CALORIAS	PROTEINAS (g/dia)
Portugal (1978)	20-49	2700	85
EUA (1980)	23-50	2700	56
Inglaterra (1969)	35-65	2900	73
Checoslováquia (1980)	35-50	2800	100
França (1969)	20-50	3000	90

E pelos dados do Quadro 8, as recomendações pormenorizadas, em França, para 1981.

QUADRO 8

Valores de proteínas aconselhados em França (CNERNA — 1981)

IDADE (Anos)	SEXO	ACTIVIDADE FISICA	PROTEINAS (g/dia)	VARIAÇÃO ACEITÁVEL	
1-3	—	—	20-40		
4-6	—	—	55	50- 60	
7-9	—	—	66	59- 73	
10-12	{	Masculino	78	70- 86	
		Feminino	71	64- 78	
13-15	{	Masculino	87	70-104	
		Feminino	75	60- 90	
16-19	{	Masculino	92	74-110	
		Feminino	69	55- 83	
ADULTO	Masculino	{	Reduzida	63	50- 76
			Média	81	65- 97
			Elevada	90	72-108
			Muito elevada	105	84-126
ADULTO	Feminino	{	Reduzida	54	43- 65
			Média	60	48- 72
			Elevada	66	53- 79
LACTENTE — Suplemento de			10-20		
GRÁVIDA — Suplemento de			10		

As razões destas diferenças residem nas concepções que têm presidido à elaboração dos dados, que são predominantemente de ordem científica, dizendo respeito às necessidades nutricionais fisiológicas calculadas experimentalmente em indivíduos, mas também relacionadas com as motivações e os hábitos alimentares que os grupos populacionais vão adquirindo, desde que estes não sejam prejudiciais à saúde, de acordo com os conhecimentos de que se dispõe.

Em trabalho recente da FAO/OMS (1979), indica-se que as recomendações de 1973 de quantidades de proteínas de segurança para a população são provavelmente inferiores às necessidades reais, e que ainda não se dispõe de métodos seguros para avaliar as necessidades humanas de proteínas alimentares com o rigor que se desejaria.

A lista das necessidades elaborada para a nossa população, em 1978, está presente-mente a ser revista por um grupo de trabalho do Conselho de Alimentação e Nutrição (CAN).

Julga-se que não serão introduzidas alterações importantes nos valores até agora recomendados pelo CEN, embora seja de admitir ligeira baixa das proteínas totais, uma vez que a qualidade das proteínas da alimentação portuguesa está a melhorar, tendo aumentado o seu coeficiente de utilização. O número de nutrientes considerados aumentará de 11 para 30.

3. — *A quantidade de proteínas* requeridas diariamente pelo organismo humano com saúde varia naturalmente com a idade, período de crescimento, sexo, tipo de trabalho, condições de estabilidade do organismo, aumento da formação de células e tecidos para a reparação, etc., e só no indivíduo adulto saudável e servindo de padrão, as necessidades proteicas são presentemente conhecidas com razoável aproximação. Mas o mesmo não se pode dizer com suficiente segurança para a mulher e ainda menos para a criança e para as grandes populações, muito diversificadas nos seus grupos específicos.

Ao longo de cerca de um século de estudos e investigações, o conhecimento das necessidades proteicas humanas tem vindo a ser aperfeiçoado e assim continuará a acontecer certamente no futuro.

— Em 1881, há precisamente um século, Voit calculou que o nível de ingestão de

proteínas no homem deveria ser de cerca de 145 g por dia, e que o consumo das pessoas aparentemente com saúde era em média de 120 g.

— Em 1904, Chittenden indicou como nível suficiente para manter a saúde do adulto 40 g por dia e, em 1909, concluiu que 40-45 g por dia satisfaziam as necessidades das pessoas normais.

— Em 1920, Sherman calculou 44 g por dia, portanto igualmente um valor da ordem de 4 dezenas de gramas;

Nenhum destes investigadores fez referência à qualidade ou valor biológico das proteínas a ingerir — noção que na época era difícil de definir quantitativa-mente, mas Chittenden, em 1909, indica-a que se tratava de proteínas mistas da dieta corrente.

— Em 1936, a Liga das Nações pela sua Comissão de Alimentação aumentou as recomendações para 1 g por quilo de peso — 70 g por dia para o adulto de 70 kg de peso — e especificou que as proteínas devem ser de origem animal e vegetal, em proporção que assegure uma razoável qualidade, que na altura continuava a ser difícil de avaliar em termos numéricos que pudessem servir de referência.

— Esta quantidade, de 1 g/kg/dia, foi aceite até que, em 1955, os peritos da FAO/OMS, recomendaram apenas 0,5 g/kg/dia, ou seja metade, mas com a indicação de que as proteínas precisavam de ser de boa qualidade, considerando-se proteínas de referência as do leite e do ovo, com um coeficiente de utilização de mais de 95%. Correspondiam-lhe para o homem de 70 kg de peso corporal, 35 g de proteínas, e para a mulher de 65 kg, 32,5 g.

— Em 1974, os peritos da FAO/OMS elevaram este valor para 0,57, o que dá para uma utilização de 70% para a mistura de proteínas alimentares de boa qualidade cerca de 0,81 g/kg/dia, ou sejam 56 g/dia para o homem de 70 kg (53 g/dia para o homem de 65 kg).

Em diversos países, comissões científicas e sociedades ou grupos nacionais de estudo da nutrição humana têm calculado e ajustado, ultimamente, com intervalos de poucos anos, os padrões de necessidades de proteínas para as respectivas populações, havendo referências muito recentes a padrões de necessidades com valores recomendados completamente diferentes de outros — o que corresponde a critérios de avaliação de necessidades não uniformes e a mudanças dos tipos dominantes de alimentos de consumo.

Em Portugal, as necessidades de proteínas foram avaliadas, bem como o consumo, pelos trabalhos de Maia Loureiro (1947), Rocha Faria (1950) e Antunes Serra (1957), e sob forma mais desenvolvida, por nós, em 1960-1962, conforme o Simpósio de 1963. Não conhecemos desde então, no País, trabalhos teóricos ou experimentais sobre proteínas alimentares, com o objectivo de avaliar as necessidades concretas da população portuguesa, até à elaboração da «Tabela de Necessidades de Nutrientes» do CEN, aprovada oficialmente em 1978, na sequência de trabalhos anteriores parcelares em que intervimos, incluindo o estudo da Direcção-Geral da Coordenação Comercial (1975), o relatório do Plano 1977-1980 (Diagnóstico de Situação e Estratégias de Política Alimentar) e o relatório do Plano 1981-1984, que segue de perto o anterior.

As bases em que os nutricionistas têm procurado fazer assentar as regras de cálculo da quantidade de proteínas necessárias para restaurar a perda correspondente à degradação contínua dos tecidos, assentam no conhecimento do tamanho corporal e mais particularmente na actividade metabólica das células dos tecidos do corpo, ou seja a massa celular corporal.

O metabolismo celular não é, porém, fácil de medir directamente, mas está estreitamente relacionado com o metabolismo basal de cada organismo, o qual pode ser medido com rigor suficiente, e é de cerca de 1600 calorias no homem médio de 65 kg. A partir do conhecimento do metabolismo basal nas suas relações com a degradação de azoto ao nível das células, as necessidades de proteínas podem ser estabelecidas de forma prática e normativa para os estudos correspondentes, em termos de mg de azoto eliminado por caloria basal.

Para isso, os investigadores têm procurado avaliar os valores das diferentes formas por que o organismo elimina o azoto degradado das proteínas que ingere.

— A perda obrigatória pela urina devida à destruição normal dos tecidos pelos processos metabólicos é de 2,0 mg por caloria basal.

— A perda obrigatória pelas fezes tem sido avaliada em 0,57 mg de azoto por caloria basal, segundo os investigadores ingleses, e em 0,9 mg, segundo os peritos da FAO/OMS, enquanto nos EUA (NRC) é calculada em 0,4 mg. A perda pelas fezes compreende:

- a) uma fracção proveniente das proteínas dos alimentos que não são absorvidas, a qual depende da natureza dos alimentos, da quantidade e qualidade da fibra, etc., e da massa das batérias intestinais eliminadas;
- b) a parte correspondente à excreção fecal de azoto endógeno, proveniente dos enzimas digestivos, tecidos intestinais, etc., avaliada em 1,2 mg por caloria basal, ou sejam 30,4 mg/kg/dia no homem adulto médio.

— As perdas pela pele e suor são avaliadas entre 0,08 mg por caloria basal, na Inglaterra, 0,21 mg, ou seja cerca de três vezes mais, pelos peritos da FAO/OMS, e 0,8 mg, nos EUA, isto é, quatro vezes mais do que o valor da FAO/OMS.

De acordo com o conjunto de dados indicados pelos investigadores ingleses, as perdas totais seriam de 2,65 mg de azoto por caloria basal, o que dá em média para o homem de 65 kg e com metabolismo basal diário de 1600 calorias, 4,25 g de azoto, ou seja o equivalente de 26,5 g de proteínas por dia, no mínimo. Adicionando 25% para cobrir as variações individuais, teríamos 31,5 g de proteínas, com utilização de 100%, indispensáveis, por dia, para cobrirem as necessidades correspondentes ao funcionamento equilibrado do organismo do homem médio.

Se admitirmos que a qualidade das proteínas consumidas tem a graduação de 70%, e não de 100%, como parece ser o caso da alimentação corrente na Inglaterra, a média de proteínas requeridas seria de 45 g por dia. Por cálculo semelhante, a média para a mulher seria de 38 g, a que se acrescentariam mais 6 g durante a gravidez e 17 g durante a lactação.

Estas quantidades representariam o mínimo necessário para assegurar o equilíbrio proteico orgânico e corresponderiam a cerca de 10% da ingestão calórica total. Para os peritos da FAO/OMS, que estabeleceram um coeficiente de variação individual de 15%, o mínimo de segurança corresponderia a 0,57 g de *proteínas de referência* por quilograma de peso corporal por dia para o homem adulto e a 0,52 para a mulher de 55 kg. Os padrões americanos baseados no pressuposto de que as proteínas alimentares correntes têm coeficiente de utilização da ordem de 70%, no conjunto da alimentação americana, recomendam 0,8 g, por quilograma de peso corporal e por dia, ou sejam 56 g para o homem e 46 g para a mulher, com pesos médios, respectivamente, de 70 a 57,5 kg. Estes valores são os que aparecem referidos no Quadro 7, para os EUA.

Nas crianças é necessária uma quantidade de proteínas proporcionalmente maior para o crescimento, que tem sido calculada por dados pouco precisos sobre a composição do corpo durante o crescimento, obtidos por análise química dos corpos em autópsia, e calculada a partir do conteúdo total de proteínas do corpo pela determinação do potássio 40 em pessoas normais.

Nas grávidas continua a haver divergências quanto ao valor das necessidades, baseando-se os peritos da FAO/OMS nas quantidades teóricas depositadas no feto, placenta e tecidos maternos, e no ajustamento destes valores teóricos de forma semelhante à do incremento do azoto nos tecidos durante o crescimento, o que leva ao valor de 9 g de proteínas de ovo ou leite que devem ser adicionadas à dieta como nível de segurança na mulher grávida.

O Food Nutrition Board, nos EUA, baseado em dados epidemiológicos e de balanço do azoto, recomenda quantidade da ordem de 30 g de proteínas alimentares correntes a adicionar, uma vez que nas grávidas a retenção de azoto seria dupla da quantidade teórica armazenada.

Na lactante, para a produção de leite, poderia considerar-se já com uma larga margem de segurança a quantidade adicional de 16-20 g por dia, para cobrir a produção média de leite, que é de 850 ml, contendo 10 g de proteínas (1,3%), com uma conversão de proteínas alimentares da ordem de 70%.

Enquanto os nutricionistas continuam divididos quanto às necessidades de proteínas — quantidade e qualidade das misturas de protei-

nas da dieta — para as populações inteiras, há acordo geral sobre as necessidades mínimas e de segurança para o homem adulto.

*De acordo com a revisão recente (1977) de Scrimshaw, do Instituto de Tecnologia de Massachusetts, e investigações no Japão (Inoue), em adultos, as necessidades de proteínas são da ordem de 8% das calorias totais, quando estas forem fornecidas por leite e ovos.*

*Na alimentação com proteínas mistas de boa qualidade, um ajustamento para a utilização menos completa das proteínas consumidas (média de 70-80%) o valor deverá ser de 9-10% das calorias totais.*

*Nas populações que consomem predominantemente proteínas vegetais (mais de 50-60%) em que a utilização é baixa (média de 65%) o valor mais favorável pela segurança que oferece deverá ser de 11-12% das calorias totais.*

*E nas populações em que as raízes e os tubérculos predominam na alimentação e são os principais fornecedores de proteínas, não atingindo a utilização em média 60%, o valor das calorias das proteínas deverá elevar-se a 13-14% do total diário de calorias.*

Ainda que as quantidades correspondentes de proteínas sejam indicadas apenas para as necessidades normais e não haja referência a necessidades específicas, os níveis referidos podem considerar-se suficientemente altos para promoverem boa recuperação em casos de infecções agudas, traumatismos e stress pouco demorados.

As crianças, porém, são mais susceptíveis do que os adultos aos efeitos destes factores que perturbam o metabolismo proteico, dificultando a utilização do azoto, e dados de Whitehead, para necessidades de proteínas adicionais e de energia em crianças, depois de infecção ou malnutrição por outras razões, são esclarecedores.

*Na dieta normal de uma criança de meses com o peso de 7 kg, por exemplo, pressupondo para as proteínas da dieta um valor de NPU de 75 e um aumento de peso por dia de 10 g, uma relação de 6,9(7)% de calorias proteicas é suficiente, mas para ganhar 30, 50 e 70 g por dia, a relação sobe para 9,3, 9,7 e 11,0%, respectivamente, como se vê no quadro seguinte:*

*Proteínas e calorias necessárias para assegurar o crescimento na criança de 7 kg.*

<i>Proteínas retidas desejáveis, g/dia</i>	10	30	50	70
<i>Proteínas requeridas, g/kg/dia</i>	1,96	2,86	3,23	3,96
<i>Calorias da dieta, kg/dia</i>	113	123	133	144
<i>Calorias das proteínas %</i>	7,0	9,3	9,7	11,0

Como se acentuou anteriormente, o nível das proteínas alimentares deverá sempre ter em conta os desperdícios altos de azoto pelas fezes numa alimentação bem equilibrada, dado que quantidades altas de fibra, incluindo linhina, parece serem indispensáveis na alimentação humana para a regulação funcional motriz do intestino, da flora e da absorção de diversos nutrientes. Este ponto não tem sido considerado pelos nutricionistas em todo o seu significado, embora o conhecimento da utilização das proteínas (NPU), em termos de percentagem, seja importante.

No padrão de necessidades criado para a nossa população, os 80 g de proteínas corresponderiam em proteínas de ovo ou leite, conforme o grau de utilização, a:

Grau de utilização %	Correspondência de 80 g de proteínas da dieta em proteínas de ovo ou leite
70	56
60	48
50	40
40	32

Admitimos que o coeficiente de utilização das proteínas da actual alimentação média portuguesa seja da ordem de 70%, e que para grupos importantes da população rural não ultrapasse 60%, mas não se dispõe de dados concretos experimentais.

4 — *A análise comparativa da situação portuguesa, em 1961-1962 e no presente, a 20 anos de distância, mostra que houve mudança significativa nas disponibilidades de proteínas de origem animal, com aumento da ordem de 42,6%, ao passarem de 27,2 g/pessoa/dia, para 38,7 g/pessoa/dia, segundo os dados estatísticos do INE.*

Também o valor total das proteínas disponíveis aumentou sensivelmente, de 73,3 g/pessoa/dia, para 83,7 g/pessoa/dia, o que corresponde a um aumento de cerca de 14,2%.

No estudo correspondente aos anos do início da década de 60, publicado no «Simpó-

sio sobre Higiene da Alimentação e Nutrição», Instituto Superior de Higiene, 1963, foi indicado que o valor mínimo razoável calculado de necessidade de proteínas animais era de 36,6 g por dia e habitante, e que a deficiência existente (disponibilidade de 27,2 g e a necessidade de 36,6 g) era da ordem de 9,6 g/dia/habitante, correspondentes a cerca de 29 000 toneladas por ano para a população do Continente.

*Admitindo que esta diferença pudesse vir a ser satisfeita apenas à custa do aumento de consumo de peixe, o cálculo, a partir de um teor médio de proteínas no peixe em bruto da ordem de 10,7%, correspondente à parte edível de 55% com um teor médio de 18,8 g% de proteínas, mostra que seriam precisas mais 286 700 toneladas de peixe bruto por ano, isto é uma quantidade que só por si era apenas ligeiramente inferior à quantidade disponível na época — 354 000 toneladas (195 200 toneladas de peixe limpo para consumo). A quantidade de peixe necessária elevar-se-ia nesta hipótese a 640 000 toneladas anuais (352 900 toneladas de peixe limpo).*

*Tendo em conta que a quantidade de peixe disponível foi em 1980 da ordem de 250 000 toneladas, apenas, e que a quantidade de proteínas animais disponíveis ultrapassou os 36,6 g considerados então desejáveis, conclui-se que o aumento das proteínas animais verificado de 1960 para 1980 não foi conseguido à custa do aumento de peixe, como então se admitia que pudesse acontecer. Pelo contrário, houve grande diminuição na quantidade de peixe disponível.*

*Se fosse feito raciocínio semelhante para a carne, em vez do peixe, admitindo o teor de proteínas de 11,2% na carcaça com 56% de parte comestível (20 g% de proteína), concluíam-se que aquela diferença equivaleria a 250 000 toneladas. Como a quantidade disponível era de 161 731 toneladas, o total que seria necessário elevar-*

*-se-ia a 411 730 toneladas. Sabendo-se que este total no fim da década de 70 atingiu cerca de 435 000 toneladas, conclui-se que o aumento de proteínas animais foi em grande parte conseguido à custa do aumento de disponibilidade de carne, em parte importada.*

*Cálculo idêntico para o leite mostraria que o consumo de leite e queijo (1 kg de queijo correspondendo a 8 litros de leite) teria de ser aumentado dos 635 milhões de litros consumidos em 1960 para 1 254 milhões de litros necessários.*

*Como o total de leite disponível no fim da década de 70 foi da ordem de 800 milhões de litros, conclui-se que o leite foi um dos contribuintes importantes para o aumento das proteínas animais conseguido neste período de 20 anos, tendo ajudado a compensar a deficiência resultante da da queda no consumo de peixe.*

No Simpósio de 1963 foi acentuado que, tendo em atenção o grau de facilidade imediata de obtenção dos alimentos considerados nas hipóteses anteriores, não parecia haver dúvida de que o peixe estava em primeiro lugar e ele poderia satisfazer a maior parte das deficiências de proteínas animais apontadas.

Os novos métodos de produção e crescimento intensivo de animais para consumo modificaram, porém, radicalmente, os conceitos de há anos atrás, e hoje é possível aumentar de forma rápida a criação e o crescimento de várias espécies animais de pequeno porte (aves) e também de médio (ovinos, porcinos) e até de grande porte, sobretudo das mais apreciadas pela população, que podem contribuir de forma decisiva para um melhor aprovisionamento de proteínas.

Igualmente a produção de leite pode ser aumentada em período curto de tempo de maneira muito acentuada, por métodos racionais agro-pecuários, em várias regiões do País, e, até, combinada com o aumento da produção de carne (sobretudo de vitela).

Com um valor de proteínas alimentares totais da ordem de 84 g/dia/habitante e de proteínas animais de 39 g/dia/habitante, a situação actual da alimentação da população portuguesa, em termos de disponibilidade de alimentos correntes, excede já as recomendações das tabelas de necessidades e apresenta características completamente diferentes das existentes há 20 anos atrás.

Resta, porém, e isso é fundamental, que os alimentos que fornecem as proteínas animais sejam os mais adequados pela qualidade e pelo preço que têm no consumo. E aqui todos os conhecimentos de que se dispõe actualmente indicam que isso não acontece, havendo consumo médio muito baixo de leite e de peixe — que é urgente fazer duplicar — excessivo de carne, sobretudo de bovino, que é a mais cara e, talvez, a menos recomendável, devendo, entre nós, dar-se preferência a carne de aves e mesmo de porco, esta já com baixa quantidade de gordura.

Por outro lado, a educação alimentar da nossa população é ainda quase incipiente e praticamente pouco melhorou em relação ao período de 20 anos atrás, e dela deverão depender muitas das resoluções essenciais sobre a política alimentar nacional, na prática. Os ensinamentos destes 20 anos, na evolução dos factos que dizem respeito às mudanças alimentares ocorridas, aconselha que se encontre rapidamente uma orientação para a política alimentar nacional e de educação da população, e que se proceda ao delineamento desta de forma concreta e bem clara, como é possível fazê-lo com os dados de que se dispõe.

Com o aprovisionamento desejável de proteínas totais e animais em quantidade e qualidade satisfatórias, estão relacionados problemas muito importantes de investigação no campo da produção, transporte, comércio, conservação e consumo de alimentos vegetais e animais no País. Os dados de que se dispõe, face às indicações da ciência da nutrição e dos hábitos alimentares não prejudiciais à saúde aconselham que os actuais alimentos utilizados entre nós e especificados na «Tabela de Necessidades de Alimentos» o continuem a ser, como fundamentais, com ligeiras correcções de quantidade e proporções, especialmente no que respeita ao consumo já excessivo de gorduras e açúcar.

##### *5 — Qualidade e quantidade das proteínas, em função do valor biológico.*

O interesse pelas proteínas em nutrição, que vinha da descoberta no século XIX das suas características químicas e fisiológicas fundamentais e do estudo do papel do azoto na vida, começou a tornar-se um campo científico novo, a partir de 1913, com os trabalhos de McCollum sobre as propriedades nutricionais das proteínas e dos ácidos aminados, que foram

sendo progressivamente identificados como as pequenas unidades básicas constituintes de cada uma das proteínas.

O termo «valor biológico» das proteínas vem desta época, assim como os de «alimentos protectores» e «dietas óptimas» para o homem nas diversas fases da vida.

*Em 1915, McCollum tentou classificar o valor biológico das proteínas, para além do método do balanço do azoto, em termos da sua acção no organismo:*

- a) *na crescimento e aumento de peso dos animais de experiência e dos próprios seres humanos;*
- b) *na fertilidade e conseqüente capacidade de reprodução;*
- c) *no sucesso da sobrevivência dos jovens animais;*
- d) *no alongamento da duração da vida (longevidade);*
- e) *na preservação das características da juventude e retardamento da velhice;*
- f) *na estabilidade do sistema nervoso.*

As ideias iniciais de Liebig e Boussaingault, a seguir a 1850, de que o valor nutritivo das proteínas podia ser avaliado apenas pelo seu conteúdo em azoto, só veio a ser modificado à medida que se reconheceu que alguns dos ácidos aminados que constituíam as proteínas tinham um papel próprio e assim influenciavam esse valor. No século XIX foram identificados 12 dos 20 ácidos aminados que entram na composição das proteínas correntes, e no começo do século XX começou a reconhecer-se que certos ácidos aminados eram indispensáveis ao homem, quer para o crescimento, quer para a manutenção da vida.

Algumas proteínas foram, então, reconhecidas como mais favoráveis do que outras na alimentação, porque continham os ácidos aminados em quantidades ajustadas ao organismo, enquanto que outras tinham determinados ácidos aminados em desequilíbrio — proporção insuficiente, no geral — como a lisina no trigo, a cistina na caseína, o triptofano no milho, etc.

Outros ácidos aminados foram sendo descobertos, culminando com o treonina, em 1935, que foi o último ácido aminado a ser identificado.

O valor nutricional das proteínas depende de três factores:

- a) *Valor biológico*, que está relacionado com a quantidade e a proporção dos ácidos aminados de que é composta a proteína, e que se avalia experimentalmente pela relação: *azoto retido/azoto absorvido*, tanto em animais como no homem, implicando, portanto, o conhecimento da quantidade de proteínas ingeridas e do azoto eliminado pelas fezes e urina, diariamente;
- b) *Quantidade*, visto que nenhuma proteína poderá produzir efeito nutritivo completo se não for consumida em quantidade adequada;
- c) *Digestibilidade*, na dependência da forma em que as proteínas se encontram nos alimentos e da extensão em que estes podem ser atacados pelos enzimas digestivos e absorvidos os constituintes libertados ao nível da parede intestinal. Este conjunto de factores será referido adiante sob a designação inovadora de *biodisponibilidade*.

O valor biológico das proteínas é correntemente avaliado por um ou mais dos quatro métodos seguintes:

- 1 — *Balanço simples de azoto*, que é a soma dos ganhos e perdas de azoto dos vários compartimentos do organismo num dado período e se avalia pela diferença entre a quantidade de azoto ingerido e a quantidade de azoto eliminado, já referido. Para maior rigor, o azoto eliminado pelas fezes deverá tomar em consideração o chamado azoto endógeno, também já referido, bem como o da pele;
- 2 — *NPU (Net Protein Utilisation)* ou medida da utilização verdadeira das proteínas pelo organismo, que é dada pela relação entre o azoto retido e o azoto ingerido num determinado período de tempo, avaliada em ensaios directos no rato por exame da constituição da carcaça. A sua expressão pode ser feita sob formas mais complicadas do que a simples relação indicada, mas sem grande vantagem. A utilização que se exprime sob a forma de percentagem é da ordem de 100% para o leite, por exemplo, e baixa para todos os outros alimentos, até 50%, no milho, e 40% em raízes com proteínas de baixa qualidade;

3 — *PER* (Protein Efficiency Ratio), estabelecido por Osborn e Mendel, modificado recentemente (1967) por Bender e Doehl, e que consiste no ganho de peso em função das proteínas consumidas (animais de experiência).

4 — *Padrão de Ácidos Aminados*, em que a composição da proteína alimentar é comparada com um padrão de ácidos aminados, de que se utiliza uma de duas variantes: a estabelecida pela FAO (1960) e a de instituições americanas (1966), compreendendo a primeira 8 ácidos aminados essenciais e a segunda 9, incluindo a histidina que é essencial apenas para a criança. Os valores de cada ácido aminado, e dos restantes conjuntos de dois, que se completam, são expressos em miligramas por grama de proteína.

	FAO/OMS	NAS/NCR
Fenilalanina e tirosina	60	73
Histidina		17
Isoleucina	40	42
Leucina	70	70
Lisina	55	51
Metionina e cistina	35	26
Treonina	40	35
Triptofano	10	11
Valina	50	48

Um padrão alternativo, apenas com 3 ácidos aminados essenciais, foi estabelecido por nós, em 1960, partindo do princípio de que os três ácidos aminados importantes para o cálculo da graduação das proteínas são a lisina, a metionina e o triptofano, visto serem eles em conjunto ou isoladamente que condicionam a deficiência da quase totalidade das proteínas vegetais e das proteínas animais desequilibradas.

A partir da quantidade e proporção em que estes três ácidos aminados se encontram presentes em cada proteína, relativamente aos do leite humano que nos serve de padrão, e que corresponde à graduação de 100, determina-se a graduação respectiva pela fórmula:

$$\text{Graduação} = \frac{\text{lisina}}{0,220} + \frac{\text{metionina}}{0,075} + \frac{\text{triptofano}}{0,058}$$

em que cada um dos três ácidos é expresso em gramas por 100 gramas de proteína.

Comparando os resultados obtidos segundo os critérios da FAO/OMS e desta fórmula, para as diversas proteínas com valores determinados experimentalmente no rato por crescimento e NPU e equilíbrio azotado no homem adulto, citados pelos peritos da FAO/OMS, reconhece-se que há diferenças acentuadas mesmo em produtos animais, nos resultados obtidos por qualquer dos métodos, sendo estas diferenças maiores para o peixe, cereais e batata.

Algumas diferenças dos valores da graduação calculados pelo padrão da FAO/OMS e pela fórmula do autor devem-se ao facto da composição de ácidos aminados das proteínas consideradas não ser idêntica. Os nossos cálculos referem-se aos valores determinados no nosso laboratório e para alimentos portugueses e, de maneira geral, são mais concordantes com os dados experimentais do que os da FAO/OMS.

As diversas proteínas alimentares podem ser escalonadas pelas valores da graduação em 5 grupos, com a seguinte distribuição:

1 — Para o critério do padrão adoptado pela FAO/OMS

*Graduação superior* — 100: Leite humano, clara de ovo e ovo completo

*Graduação alta* — 95-100: Nenhuma

*Graduação média* — 75-85: Leite de vaca, carne, peixe, arroz, centeio, soja

*Graduação baixa* — 57-70: Batata, ervilha

*Graduação muito baixa* — menos de 50: Milho, trigo, feijão

2 — Para a fórmula do autor

*Graduação superior* — 100: Leite humano (padrão) e ovo completo

*Graduação alta* — 85-100: Leite de vaca (cabra e ovelha), clara de ovo, carne e peixe, mariscos, batata

*Graduação média* — 75-85: Leguminosas secas (feijão, soja)

*Graduação baixa* — 50-70: Cereais (arroz, centeio, trigo), couve verde

*Graduação muito baixa* — menos de 50: Milho.

A aplicação da fórmula do autor ao cálculo da graduação do padrão de ácidos aminados da FAO/OMS dá um valor de cerca de 100, entrando com o valor conjunto da metionina e cistina, e da ordem de 60, se o valor for apenas o da metionina, o que mostra a grande despro-

No organismo humano a mais corrente forma ou tentativa de medir a biodisponibilidade em percentagem corresponde a estabelecer uma relação entre o valor do azoto fecal corrigido para o azoto endógeno fecal e o valor do azoto da dieta multiplicado por 100:

$$\text{Biodisponibilidade} = \frac{\text{N ingerido} - (\text{N fecal} - \text{N metabólico fecal})}{\text{N ingerido}} \times 100$$

porção relativamente às proteínas do leite do «Padrão» da FAO/OMS.

A mais importante determinante do valor biológico ou nutricional das proteínas tem sido a sua composição em ácidos aminados, em particular de ácidos aminados essenciais, comparada com as necessidades desses ácidos aminados dos animais que as consomem.

Mas a qualidade das proteínas não é apenas função dos padrões de quantidade e proporcionalidade dos ácidos aminados — também chamados «scores» ou graduações — baseados na análise química da composição em ácidos aminados dos produtos alimentares, pelo que não podem ser completamente exactas as conclusões ou previsões que baseiam a qualidade das proteínas nas avaliações referidas.

Julga-se que as divergências encontradas entre a previsão da qualidade das proteínas baseada no conteúdo em ácidos aminados, relativamente às necessidades humanas destes ácidos aminados, e a qualidade das proteínas baseada nos efeitos específicos de crescimento, etc., em outros organismos (rato, etc.), sejam devidas a variações na utilização dos ácidos aminados que compõem as diferentes proteínas. Isto quer dizer que os ácidos essenciais e não essenciais requeridos pelo homem podem estar nas proteínas em quantidade ideal, mas a sua eficiência não ser completa por sofrerem efeitos imprevistos. Daquí nasceu o novo conceito de biodisponibilidade das proteínas alimentares.

Tem-se designado por *biodisponibilidade das proteínas alimentares* o grau em que os ácidos aminados ou pequenos péptidos duma proteína consumida por um organismo vivo são absorvidos na parede intestinal e passam para a circulação. Corresponde a características que incluem a digestibilidade das proteínas, a cronologia desta disponibilidade (*timing*) e os mecanismos de absorção. Não inclui a eficiência da utilização dos ácidos aminados depois de absorvidos no intestino e entrados na circulação, o que envolve numerosos factores bioquímicos e fisiológicos fazendo parte dos metabolismos específicos.

Vários outros métodos *in vivo* tem sido ensaiados para avaliar directamente a biodisponibilidade ou os seus efeitos, relativamente à absorção dos ácidos aminados:

- medição no sangue das mudanças do padrão de ácidos aminados a intervalos certos depois do consumo das proteínas em estudo. Têm sido apontados diversos inconvenientes a este método, porque o sangue venoso não traduz de forma sensível as mudanças imediatas dos níveis de absorção dos ácidos aminados, além da dificuldade de quantificar as mudanças dos padrões de ácidos aminados circulantes no sangue;
- estudos com rádiomarcadores que oferecem grandes esperanças na avaliação quantitativa e duração das fases de digestibilidade e absorção em que assenta a biodisponibilidade;
- ensaios *in vitro* de digestibilidade de proteínas, conduzidos sobretudo em relação ao efeito da pepsina e da pancreatina.

A biodisponibilidade, que parece ser fundamentalmente função da digestibilidade das proteínas e, seguidamente, das condições de absorção intestinal, está a ser indicada como segundo nível, depois do padrão de ácidos aminados, na avaliação do valor biológico das proteínas, a considerar obrigatoriamente. Mas enquanto o padrão de ácidos aminados é hoje razoavelmente conhecido para cada proteína isolada e, sobretudo, na prática, para cada alimento — ou seja para o bloco de proteínas constituintes dos diversos alimentos ao serem consumidos — e as suas variações são pequenas, a biodisponibilidade depende a cada momento do estado de funcionamento do intestino nas fases de digestão e de absorção, que além de

serem normalmente características de cada indivíduo sofrem variações frequentes na sua eficiência.

É conhecido de há muito que o problema da quantidade e qualidade das proteínas tem relações estreitas com o valor da energia da dieta, sabendo-se que só com valores de energia suficientes para assegurarem o regular funcionamento dos organismos, as proteínas têm a eficiência que delas se espera.

O factor energia é, por isso, considerado como o primeiro a ser tomado em conta para cada idade e condição de vida de relação ou trabalho, seguindo-se-lhe paralelamente o da qualidade-quantidade de proteínas desejáveis na dieta respectiva. O estudo efectuado em alimentos portugueses para uma definição do valor biológico das principais proteínas (blocos) que contém foi apresentado já no Simpósio de 1963, e, porque não tem sido aproveitado, é agora lembrado nos quadros seguintes, que estabelecem para cada alimento fundamental da nossa alimentação a comparação dos valores de 10 ácidos aminados do leite humano (padrão) e dos diversos alimentos considerados, indicando-se as diferenças expressas em percentagem. Como é sabido, o ácido aminado mais em falta é designado ácido aminado limitante.

QUADRO 9

Ácidos aminados por 100g de proteína do leite

	LEITE		DIFERENÇA (%)
	HUMANO	VACA	
Arginina	4,7	3,9	-17,1
Fenilalanina	5,0	5,4	+ 8,0
Histidina	2,8	3,0	+ 7,1
Isoleucina	6,1	6,5	+ 6,5
Leucina	9,0	10,1	+12,2
Lisina	7,4	7,9	+ 6,7
Metionina	2,5	2,5	0
Treonina	5,0	4,7	- 6,0
Triptofano	1,9	1,55	-18,5
Valina	7,1	7,1	0

Os 10 ácidos aminados representam 52,7% das proteínas no leite de vaca e 51,5% no de mulher. Segundo dados da FAO, o ácido aminado limitante seria a metionina (metionina mais cistina), encontrando-se no leite de mulher um valor mais baixo de metionina — o que não se verifica nas nossas determinações — e um valor mais elevado de cistina, com um total de cerca de 4,3%, enquanto no leite de vaca o valor total seria de 3,3 g%. Na literatura há referência, porém, a valores de 4,3 g% no leite de vaca.

QUADRO 10

Carne, Peixe, Ovo, Marisco, em confronto com leite humano

	Carne	Difer. (%)	Peixe	Difer. (%)	Ovo	Difer. (%)	Marisco*	Difer. (%)
Arginina	7,1	+51,0	5,1	+ 8,5	7,2	+53,2	5,6	+19,1
Fenilalanina	4,1	-18,0	3,4	-32,0	6,0	+20,0	4,4	-12,0
Histidina	2,8	0	2,9	+ 3,6	2,3	-17,9	1,8	-35,7
Isoleucina	6,2	+ 1,6	4,5	-26,3	6,0	- 1,6	4,5	-26,2
Leucina	7,5	-16,7	6,9	-23,3	7,2	-20,0	9,0	0
Lisina	7,8	+ 5,4	8,4	+13,5	7,2	- 2,7	11,2	+51,3
Metionina	3,8	+52,0	2,8	+12,0	3,0	+20,0	2,2	-12,0
Treonina	4,5	-10,0	4,7	- 6,0	4,7	- 6,0	4,5	-10,0
Triptofano	1,2	-36,8	1,2	-36,8	1,6	-15,8	1,2	-36,8
Valina	5,6	-21,2	5,1	-28,2	7,5	+ 5,6	4,5	-36,6

\* Berbigão

Os 10 ácidos aminados representam 50,6% das proteínas na carne de vaca, 45,0% na sardinha, 52% no ovo e 48,9% no berbigão. São de acentuar duas características nestes alimentos: a riqueza em ácidos aminados com enxofre da carne e do ovo e de lisina no peixe e mariscos.

QUADRO 11

Cereais, em confronto com leite humano

	Arroz	Difer. (%)	Centeio	Difer. (%)	Milho	Difer. (%)	Trigo	Difer. (%)
Arginina	8,7	+85,1	5,4	+14,9	4,7	0	4,5	-4,3
Fenilalanina	4,6	-8,0	3,0	-40,0	4,8	-4,0	4,0	-20,0
Histidina	2,3	-18,0	2,2	-21,4	2,2	-21,4	2,0	-28,6
Isoleucina	5,1	-16,3	4,0	-34,4	6,4	+4,9	3,9	-36,1
Leucina	7,7	-14,4	6,2	-31,1	15,0	+66,6	6,5	-27,8
Lisina	2,8	-62,1	3,3	-55,4	2,3	-68,9	2,5	-66,8
Metionina	1,4	-44,0	1,1	-56,0	1,4	-44,0	1,1	-56,0
Treonina	3,6	-28,0	3,9	-22,0	3,9	-22,0	3,0	-40,0
Triptofano	1,3	-31,6	1,3	-31,6	0,5	-73,7	1,4	-26,3
Valina	6,3	-11,3	5,0	-29,6	5,3	-25,4	4,5	-36,6

Os 10 ácidos aminados representam 43,8% das proteínas no arroz, 35,3 no centeio, 46,5 no milho e 33,4 no trigo.

A lisina é o ácido aminado limitante, mas todos os cereais são pobres em triptofano e metionina.

QUADRO 12

Legumes secos, em confronto com leite humano

	Feijão	Difer. (%)	Soja	Difer. (%)
Fenilalanina	8,7	+85,1	8,6	+82,9
Arginina	5,4	+8,0	6,6	+32,0
Histidina	4,2	+50,0	3,2	+14,2
Isoleucina	13,4	+119,0	10,0	+63,8
Leucina	6,9	-23,4	6,1	-32,3
Lisina	5,8	-21,7	8,5	+14,8
Metionina	2,3	-8,0	1,9	-24,0
Treonina	6,7	-34,0	7,0	+44,0
Triptofano	1,2	-36,9	1,2	-36,9
Valina	6,2	-12,7	6,0	-15,5

Os 10 ácidos aminados representam 60,8% das proteínas totais no feijão e 59,1% na soja. O ácido aminado limitante é o triptofano, mas a soja é pobre em leucina e metionina, enquanto o feijão é pobre em treonina, leucina e lisina.

QUADRO 13

Batata e couve, em confronto com o leite humano

	Batata	Difer. (%)	Couve	Difer. (%)
Fenilalanina	6,0	+27,6	5,1	+8,0
Arginina	4,8	-4,0	4,1	-18,0
Histidina	1,8	-35,7	1,6	-42,9
Isoleucina	4,8	-21,4	3,5	-42,7
Leucina	6,0	-33,3	6,0	-33,3
Lisina	6,6	-11,8	3,0	-59,5
Metionina	2,5	0	1,5	-40,0
Treonina	4,8	-4,0	3,5	-30,0
Triptofano	1,6	-15,8	1,1	-42,1
Valina	5,3	-25,4	4,0	-43,7

Os 10 ácidos aminados representam 44,2% das proteínas totais na batata e 33,8% na couve verde. Os ácidos aminados limitantes são a isoleucina (e leucina) na batata e a lisina na couve, tendo estes valores baixos de todos os outros ácidos aminados, excepto de arginina.

Os ácidos mais limitantes aparecem, assim, para os diversos alimentos:

Leite de vaca: *triptofano* e arginina  
Carne: *triptofano* e valina  
Peixe: *triptofano*, fenilalanina e valina  
Ovo: *leucina*, histidina e triptofano  
Mariscos: *triptofano*, valina e histidina  
Arroz: *lisina*, metionina e triptofano  
Centeio: *metionina*, lisina e fenilalanina  
Milho: *triptofano*, lisina e metionina  
Trigo: *lisina*, metionina e treonina  
Feijão: *triptofano*, treonina e leucina  
Soja: *triptofano*, leucina e metionina  
Couve: *lisina*, valina e isoleucina  
Batata: *isoleucina*, leucina e valina

Os dados de que dispomos em Portugal, relativos a um grande número de alimentos, sobre a composição normal, valor biológico das proteínas e disponibilidades existentes:

- a) energia, proteínas e ácidos aminados essenciais (Tabela da Composição dos Alimentos Portugueses);
- b) graduação das proteínas em função da sua composição em ácidos aminados essenciais (quadros 9 a 13 desta exposição);
- c) disponibilidades de proteínas para a população (cálculo anual do INE, balanças alimentares-;

precisam de ser urgentemente completados por avaliação concreta das quantidades de alimentos que são consumidos na realidade pelas pessoas, em geral, e pelos grupos sociais diferenciados, para se conhecer a proporção dos desperdícios habituais e encaminhar a educação alimentar da população de forma adequada e mais generalizada e eficiente do que acontece no presente.

6 — A *investigação* a desenvolver com objectivos concretos em termos de política alimentar, de nutrição e de saúde geral da população procurará alargar e fazer aplicar os conhecimentos de que se dispõe no presente.

No fim do ano corrente devem ter sido recolhidos os elementos do primeiro Inquérito Alimentar Nacional, iniciado em Maio de 1980, sob a orientação do CEN, referente ao consumo individual e familiar de alimentos, numa

amostra representativa da população correspondente a 2‰ desta, separada por idades, sexo, actividades, condição social e distribuição urbana e rural.

Julga-se que mais de 80% dos inquiridos colaboraram de forma suficiente, o que representa uma percentagem excepcional neste tipo de inquéritos. No último grande inquérito nacional efectuado no mundo, o do Canadá, em 1972, a participação dos indivíduos seleccionados não ultrapassou 47,5%.

De um ensaio preliminar de apuramento, verificou-se que nos 4 distritos ao norte do Douro o consumo médio de proteínas foi de 81,8 g/pessoa/dia, sendo 36,6 g de proteínas animais, equivalentes a 45,1%, e 44,5 g de proteínas vegetais, equivalentes a 54,9% do total.

Encontraram-se grandes diferenças no consumo individual de proteínas totais, como era de esperar, com um mínimo de 34 g/pessoa/dia e um máximo de 187 g, nos adultos, mas o número de pessoas que consumiram menos de metade do valor de 80 g, recomendado para Portugal e população em conjunto, foi diminuto, não ultrapassando 5% dos inquiridos.

Esta quantidade de 40 g/pessoa/dia é considerada por muitos nutricionistas um valor mínimo de segurança proteica para a população em geral, como foi referido. O consumo de proteínas animais apresentou ainda maior variação relativa, com valores extremamente baixos da ordem de 4 g/pessoa/dia e valores muito altos, atingindo mais de 100 g/pessoa/dia.

Estes primeiros resultados do inquérito confirmam as referências feitas anteriormente a disponibilidades e abrem o caminho para estudos mais pormenorizados.

Com o objectivo de conhecimento mais concreto da situação proteica nacional e do delineamento da política alimentar nacional que deverá assegurar um consumo suficiente e equilibrado de proteínas pela população, há que orientar e desenvolver a investigação em vários sectores de trabalho.

Estes sectores dizem respeito prioritariamente aos seguintes pontos:

- a) cálculo mais preciso das nossas necessidades de nutrientes e de alimentos recomendados para a população e grupos diferenciados, o qual está em andamento por parte do CEN;

- b) avaliação das disponibilidades dos alimentos de consumo indispensável e da forma de os obter: produção interna no caminho da auto-suficiência e, complementarmente, importação;
- c) estudo da composição dos alimentos em cada nutriente essencial, das alterações sofridas pelos alimentos até ao consumo e na preparação culinária, e avaliação dos desperdícios, em andamento por parte do CEN;
- d) estudo do custo dos alimentos em função do seu valor nutricional e em particular do custo relativo das proteínas de alto valor biológico a recomendar;
- e) ensino da alimentação desde a infância, em todas as escolas, incluindo as superiores, e organização das campanhas de educação alimentar, coordenadamente, para toda a população, em começo de estudo por parte do CEN;
- f) estudo das relações da alimentação individual, familiar e colectiva com a saúde geral da população e o seu nível de eficácia no trabalho, em começo de andamento com o inquérito alimentar nacional, promovido pelo CEN.

A investigação em termos directos de proteínas dirá respeito:

- a) às *proteínas totais* desejáveis em quantidade e qualidade e fontes de fornecimento. Com o conhecimento de que se dispõe quanto às necessidades essenciais dos seres humanos em azoto total e diferenciado e às dificuldades de estabelecer níveis precisos de consumo na população inteira, aconselha-se manter em estudo permanente o ajustamento periódico do padrão de proteínas recomendadas para os diversos grupos da nossa população com necessidades específicas. Esta tarefa indispensável deve caber aos serviços de investigação ligados aos problemas da nutrição e da saúde, tanto nas instituições da saúde como universitárias, e aos organismos a quem compete o aperfeiçoamento da produção e comércio dos alimentos que hão-de fornecer as proteínas recomendadas;

b) às *proteínas animais*, particularmente nos aspectos do estudo do seu papel de fornecedores privilegiados de certos ácidos aminados essenciais, cujo equilíbrio no organismo parece exigir novos conhecimentos, tanto no que se refere à quantidade em que devem ser ingeridos como às proporções em que devem encontrar-se no metabolismo alguns destes ácidos aminados em relação a outros. Todo este problema está em começo de estudo e afigura-se de importância fundamental para a saúde, uma vez que tais desequilíbrios influenciam o desencadeamento de estados patológicos de extrema gravidade. Não basta, portanto, resolver os problemas referidos na alínea anterior, relativos a valores de proteínas totais, há que avançar no conhecimento das acções de vários ácidos aminados, como a lisina, metionina, leucina e arginina, em função das quantidades e proporções em que são ingeridos.

c) às *proteínas vegetais*, que aparecem-nos como a fonte desejável de azoto não diferenciado, mas a sua composição desequilibrada em alguns ácidos aminados para a nutrição humana obriga a que se estabeleçam misturas de alimentos compensadoras destes desequilíbrios, enquanto a investigação não descobrir a forma de melhorar a composição das proteínas dos alimentos vegetais mais utilizados e mais úteis pela composição noutros nutrientes. Este é um campo de investigação em desenvolvimento e que com as novas tecnologias da genética aplicada à formação de ácidos aminados e novas proteínas poderá fazer progressos rápidos;

d) à *produção de alimentos não habituais*, novos ou de síntese, ricos em proteínas, bem conhecida pelas tentativas pouco frutuosas que até há pouco foram sendo feitas com o objectivo de conseguir proteínas mais abundantes e mais baratas, por aproveitamento directo de produtos de pouco valor alimentar directo, de subprodutos ou mesmo de desperdícios. A síntese de ácidos aminados, para utilizar na alimentação, está limitada a quantidades de pequeno significado prático, embora para alguns, como

a metionina, constitui já valiosa contribuição sobretudo destinada à indústria farmacêutica. As tentativas que estão a ser feitas para aperfeiçoar a utilização de microrganismos, eucarióticos e procarióticos, na síntese biológica de ácidos aminados, por métodos de engenharia genética, constitui uma revolução que abre perspectivas do maior alcance no futuro imediato. E não só para a produção de ácidos aminados, como de moléculas inteiras de proteínas específicas. Também a produção de alimentos correntes, mas em quantidades de dezenas ou centenas de vezes maiores, por culturas ajustadas e de maior rendimento, sobretudo para alimentação de animais que o homem depois utiliza na sua alimentação, teve no exemplo da soja e do milho êxito enorme e está a começar de ser experimentada com algumas leguminosas, entre nós. A investigação aplicada precisa de ser decisivamente incentivada;

- e) o *enriquecimento* de alimentos com proteínas ou ácidos aminados é outro campo de investigação. Embora para a situação em que se encontra Portugal no campo das disponibilidades alimentares a aplicação normal de medidas de enriquecimento de alimentos de consumo corrente não seja de prever de imediato, o seu estudo deve, porém, estar feito.

7 — *A criação do Conselho de Alimentação e Nutrição (CAN)*, pelo Decreto-Lei n.º 265/80, de 7 de Agosto, deu ao País uma estrutura colegial com capacidade para formular e concretizar a política de alimentação e nutrição ajustada às necessidades e recursos da população portuguesa.

Para isso, o CAN deverá indicar as bases alimentares e nutricionais em que devem assentar os planos de produção agrícola e das pescas e de importação dos bens alimentares indispensáveis à população.

Também lhe compete apoiar a actividade dos organismos ou serviços públicos executivos, quanto a estudos, inquéritos e outras acções relacionadas com a política de alimentação e nutrição, nomeadamente promover a elaboração do código alimentar português.

O CAN é apoiado directamente pelo CEN e pelo IQA, devendo constituir com eles um sistema integrado de orientação da investigação alimentar e nutricional e de definição prática da política de qualidade alimentar e de educação da população.

O CAN deve, para isso, promover a investigação e os estudos práticos que ajudem a conhecer e resolver os nossos problemas alimentares, solicitando às entidades com capacidade para o fazer nos seus campos de actividade ou com capacidade para aperfeiçoar e desenvolver métodos de trabalho inovadores, por encomenda, mediante acordo, os estudos necessários.

Esta política foi já iniciada em relação ao CEN, com o pedido de dados para a reformulação da «Tabela de Necessidades de Nutrientes» e da «Tabela de Necessidades de Alimentos», na base dos elementos estabelecidos para a *Dieta Nacional*. As instituições de estudo, e investigação, bem como de planeamento, dos Ministérios da Agricultura, Comércio e Pescas, da Indústria e da Educação, este particularmente pelas Universidades, e ainda a Comissão Nacional da FAO, virão a ser solicitadas pelo CAN, dentro da linha de coordenação e desenvolvimento da investigação alimentar que está a ser prosseguida, a colaborarem activamente em cada um dos seus sectores de acção.

A política alimentar portuguesa irá, certamente, considerar altamente prioritária a investigação no domínio das proteínas, não só quanto ao estabelecimento das necessidades recomendadas para grupos de idades, sexo, condições de trabalho, gravidez e lactação, como ao estudo da composição dos nossos alimentos destinados ao consumo e à qualidade das proteínas respectivas, como ainda à selecção das melhores fontes de proteínas alimentares, tendo em conta:

- a) a composição em ácidos aminados dos blocos proteicos de cada um dos alimentos e das suas combinações alimentares na dieta, e o equilíbrio desejável dos ácidos aminados essenciais nas diversas fases da vida, levando à selecção de determinados alimentos mais adequados, conforme a idade e o tipo de vida;
- b) a biodisponibilidade das proteínas dos alimentos recomendados para consumo habitual;

- c) o preço de custo das proteínas que devem ser consumidas, relativamente às características especificadas nas alíneas a) e b);
- d) a facilidade de dispor das proteínas recomendadas, sob a forma de alimentos habituais, ou convencionais, aconselhados, e de produtos similares ou de substituição provenientes de outras fontes, por métodos biológicos que vierem a ser utilizáveis. Neste último caso, apenas a título complementar da alimentação normal e, talvez por razão de economia.

A utilização de proteínas não convencionais na alimentação de animais destinados à produção de leite e de carne para o consumo humano, de forma a conseguir-se a quantidade e o preço mais equilibrado destes alimentos de grande consumo, é certamente um objectivo altamente prioritário para se confirmar a melhoria da alimentação do povo português no sentido do seu equilíbrio e racionalidade.

Os métodos e os meios para atingir tal objectivo em condições de continuidade regular que vão ser analisados, no referente a novas proteínas, com profundidade e eficiência neste Simpósio, podem constituir uma importante perspectiva no delineamento da política alimentar nacional que o CAN deverá orientar.

#### BIBLIOGRAFIA

- BENDER, A. E. — Nutrition and Dietetic Foods. «Dietetic Foods», 2.ª Edição, 1973, p. 170-171.
- BOUR, H. — Influence de l'Environnement pour la Détermination des Apports Nutritionnels Conseillés. «Cah. Nut. Diét.» 13(4) 1978, p. 281-285.
- CAMPBELL, J. A. — Approaches in Revising Dietary Standards. «J. Am. Diet. Ass.» 64(2) 1974, p. 175-178.
- CARVALHO, Agostinho de et al. — Alimentação e Condições de Vida de Famílias de Trabalhadores Rurais do Baixo Alentejo. Lisboa, Instituto Gulbenkian de Ciências, Centro de Estudos de Economia Agrária, 1973.
- CARVALHO, A.; JANZ, G. J.; BANDEIRA, C. J. S. — Alimentação e Condições de Saúde de Famílias Agricultoras, da Sub-Região Vitícola de Torres. «Estudos». Instituto Gulbenkian de Ciência, Centro de Estudos de Economia Agrária, 1977.
- CARVALHO, A.; JANZ, G. J.; GONÇALVES, G. G. — Composição em Ácidos Aminados Essenciais da Alimentação de Trabalhadores Alentejanos e de Agricultores da Região do Oeste. «Anais Inst. Med. Tropical» 4(1/4) Jan.-Dez. 1976, p. 21-25.
- DUPIN, H.; MOREAU, J. G. — Les Apports Conseillés en Protéines: des Positions Différentes des Deux Côtes de l'Atlantique. «Cah. Nut. Diét.» 16(3)1981, p. 139-145.
- DWYER, J. — Nutritional Requirements of Adolescence. In: Marabou Symposium — Nutrition in Adolescence. «Nut. Rev.» 39(2) Fev. 1981, p. 56-72.
- ENERGY AND PROTEIN REQUIREMENTS FOR ANABOLISM — «J. Am. Diet. Ass.» 76(5) Maio, 1980, p. 445-446.
- ENERGY AND PROTEIN REQUIREMENTS — «Food Nut. Notes and Rev.» 34(1) Jan. — Mar. 1977, p. 44-47.
- FAO/WHO — Protein and Energy Requirements: a Joint FAO/WHO Memorandum. «Bull. Worl. Health Org.» 57(1), 1979, p. 65-79.
- FAO/WHO — Handbook on Human Nutritional Requirements. 1974. «Nut. Rev.» 33(5), Maio 1975.
- FERNANDES, A. H. R. — Alergia às Proteínas do Leite de Vaca. «Médico» 91(1445) 10 Maio 1979, p. 280-286.
- GONÇALVES FERREIRA, F. A. — Proteínas dos Alimentos Portugueses e Necessidades de Ácidos Aminados Essenciais. Simpósio sobre Higiene da Alimentação e Nutrição — Instituto Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge, Lisboa, 1973.
- GONÇALVES FERREIRA, F. A.; GRAÇA, M. E. S. — Tabela da Composição dos Alimentos Portugueses. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 1977.
- GONÇALVES FERREIRA, F. A. — Tabelas de Necessidades Alimentares. «Revista do Centro de Estudos de Nutrição». Lisboa, 4 (3), 1981, p. 50-82.
- HEGSTED, D. M. — Dietary Standards. «J. Am. Diet. Ass.» 66(1), Jan. 1975, p. 13-21.
- HJDA, S.; OSANCOVA, K.; KAJABA, I. — Recommended Allowances of Energy and Nutrients for the CSSR, 1976 — Prague, Institut Hygieny a Epidemiologie.
- INGESTÕES DIÁRIAS RECOMENDADAS DE ENERGIA E NUTRIENTES PARA O REINO UNIDO — 1969 In: Benjamin Burton — «Nutrição Humana». Editora McGraw — Hill de Brasil, 1979, p. 176-177.
- JANZ, G. J.; BRITO, G. B.; CARVALHO, A. — Ensaio de Estudo Médico-Social de Comunidades Rurais. IV. As Povoações de Fonte da Bica — Pé da Serra e Vales da Senhora da Luz, do Concelho de Rio Maior. «Anais ENSP e Med. Tropical» 6(1/4) Jan.-Dez. 1972, p. 115-142.
- JANZ, G. J.; JANZ, J. G.; CARVALHEIRA, P. — Factores de Risco Cardiovasculares na Análise de Inquéritos Alimentares Efectuados em Portugal, 1980 (Separata do Livro de Homenagem ao Prof. Arnaldo Sampayo).
- MACHETE, M.ª F.; ELIAS, M. J. — Aminoácidos do Leite e Derivados Proteicos. «Arquivos» — Instituto Nacional de Saúde, Dr. Ricardo Jorge. Vol. 5, 1981, p. 177-183.
- MITCHELL, H. S.; HARPER, H. E.; CALLOWAY, D. D. et al. — Recommended Dietary Allowances. «J. Am. Diet. Ass.» 64(2), Fev. 1974, p. 149-150; 151-156; 157-162; 163-167.
- MOLITOR, G. T. T. — The Food System In the 1980s. «J. Nut. Educ.» 12(2), Supplement. 1, 1980, p. 103-111.
- OLIVEIRA, J. SANTOS — Proteínas Vegetais. «Ciências do Ambiente», Universidade Nova de Lisboa, 1976.
- OMS — Besoins Energétiques et Besoins en Protéines (Rapport d'un Comité Spécial Mixte FAO/OMS — «Ser. Rapp. Techn.» n.º 522, 1973.
- PEREIRA, A. — Proteínas do Trigo. I. Contribuição para o Estudo da Proteína e Glúten Segundo a Variedade e a Região. «Agron. Lusitana». Lisboa, 6(4) 1944, p. 367-396.

- PHILLIPS, R. D. — Linear and Nonlinear Models for Measuring Protein Nutritional Quality, «J. Nut.» 111(6), Jun. 1981, 1078-1066.
- RECOMMENDED, DAILY DIETARY ALLOWANCES; REVISED 1980, «J. Am. Diet. Ass.» 75(6), Dez. 1979, p. 623-265.
- REEDS, P. J.; LINDSAY, D. B.; EGAN, A. A. — Symposium on Nitrogen Metabolism. «Proc. Nut. Soc.» 39(1), Fev. 1980, p. 43-89.
- SCRIMSHAW, N. S. — W. O. Atwater Memorial Lecture — Through a Glass Darkly: Discerning the Practical Implications of Human Dietary Protein — Energy Interrelationships. «Nut. Rev.» 35(12), Dez. 1977, p. 321-337.
- SERVILLE, J. — Note sur les Standards Proposés par l'INSERM. «Cah. Nut. Diét.» 13(4) 1978, p. 287-296.
- SIMPÓSIO SOBRE HIGIENE DA ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO. Instit. Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge, 1963.
- SYMPOSIUM ON PROTEIN METABOLISM IN MAN — «Proc. Nut. Soc.» 40(3) Set 1981, p. 315-368.
- SYMPOSIUM ON «SOME ASPECTS OF DIET AND HEALTH — «Proc. Nut. Soc.» 35(1), Maio 1976, p. 1-14.
- THE ELMER, V. McCOLLUM CENTENARY COMMEMORATIVE SYMPOSIUM: Protein Quality Evaluations. «J. Agr. Food Chem.» 29(3), Maio-Jun. 1981, p. 427-447.

Composto e impresso  
nas Oficinas Gráficas  
da Rádio Renascença, Lda.  
Rua dos Duques de Bragança, 6  
Telef. 32 05 88 • 1200 LISBOA



