Arquivos do Instituto Nacional de Saúde

Volume IV

LISBOA 1980

Arquivos do Instituto Nacional de Saúde

Arquivos do Instituto Nacional de Saúde

Volume IV

LISBOA 1980

NOTA INTRODUTÓRIA

F. A. Gonçalves Ferreira

Depois de uma interrupção de 5 anos, entre 1974 e 1979, são de novo publicados os *Arquivos do Instituto Nacional de Saúde,* correspondendo este 4.º Volume ao esquema inicial, com quatro secções, definido no Volume I, em 1972.

As razões da interrupção e da ausência de trabalhos de alguns dos sectores mais bem apetrechados e dotados de pessoal do Instituto devem-se em grande parte às vicissitudes por que este passou nos anos críticos recentes da vida do País, e cuja história virá a ser feita noutro local e momento, para esclarecimento de factos e responsabilidades.

O presente volume não insere um relatório de actividades do Instituto, na continuação do publicado em 1973, Volume II, esperando-se que seja possível fazê-lo no próximo volume, com a necessária objectividade.

Agradece-se aos autores de cada um dos trabalhos, em especial da 2.ª Secção, as diligências feitas para o seu aprontamento em tempo útil.

1.ª SECÇÃO

1 — O papel do Instituto Nacional de Saúde no desenvolvimento dos serviços de saúde portugueses

F. A. Gonçalves Ferreira

2 — A orientação dos problemas da alimentação-nutrição em Portugal

F. A. Gonçalves Ferreira

O PAPEL DO INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE NO DESENVOLVIMENTO DOS SERVIÇOS DE SAÚDE PORTUGUESES

F. A. Gonçalves Ferreira *

Introdução

Em 2 e 3 de Novembro de 1973, efectuou-se nas novas instalações com que acabava de ser dotado o Instituto Nacional de Saúde de Dr. Ricardo Jorge (INSA) uma reunião de estudo, para, assinalando o acontecimento, tentar definir o papel dos Institutos Nacionais de Saúde (INS), ou as instituições com idênticas atribuições, na análise da evolução dos Serviços de Saúde (SS) de cada país, e pôr em evidência a responsabilidade que lhes poderia ser atribuída:

a) na orientação da estrutura, orgânica e funcionamento dos SS, de acordo com a política de saúde estabelecida, o tipo de sistema de saúde posto em actividade para a executar e as condições de saúde da população em mudança;

b) na avaliação global dos resultados da actuação dos SS e utilização dos respectivos dados em informação e documentação;

c) na sistematização das medidas correctoras ou de promoção consideradas necessárias para ir adequando os SS às exigências crescentes de cobertura da saúde da população.

A situação dos SS portugueses apresentava-se, então, logo após o início da «Reforma de Saúde de 1971», numa fase de crise de crescimento e de insuficiente estímulo orientador.

Tendo a «Reforma de Saúde de 1971» definido, pela primeira vez, uma política de saúde nacional, na base da estruturação de SS modernos, o seu objectivo começou ainda no decurso de 1972 a ser restringido por medidas de limitação de acções. Ficou, assim, enfraquecida à nascença a capacidade de desenvolvimento das suas tarefas fundamentais, que tinham por objectivo imediato a prestação generalizada de cuidados primários de saúde a toda a população, com prioridade para os sectores materno-infantil, escolar e de doentes, acompanhamento de enfermagem domiciliária e triagem de doentes para os serviços de internamento.

Uma rede hierarquizada de Centros de Saúde (CS), localizados nas sedes dos concelhos, e de Postos de Saúde (PS) subsidiários, servindo freguesias ou grupos de freguesias, devia reunir de forma progressiva, mas rápida, todas as actividades de saúde conexas, incluindo a dos Serviços Médico-Sociais (SMS) da Previdência, e orientar a intervenção da clínica privada, considerada factor complementar fundamental, dispensando-lhe os meios técnicos

* Director do Instituto Nacional de Saúde.

disponíveis para a coordenação eficiente do seu exercício.

Por outro lado, a reorganização simultânea que a «Reforma de 1971» conseguiu para o INSA, como órgão central de estudo e investigação em saúde, com novas instalações, importantes meios de trabalho e funções bem definidas, aconselhava que se considerasse esta oportunidades de Portugal dispor de uma instituição com relevância suficiente para empreender o estudo da adaptação progressiva dos SS portugueses, de forma a poder dar indicações às entidades responsáveis, a tal respeito, com regularidade, e se tentasse aproveitá-la de imediato, em ligação com o Gabinete de Estudos e Planeamento, então criado.

Assim vieram a ter lugar nos dias 2 e 3 de Novembro, no INSA, as «jornadas» em que tomaram parte destacadas personalidades de saúde pública, nacionais e estrangeiras, com experiência nos assuntos de administração e investigação, mas que não tiveram a colaboração da OMS, por serem, então, conflituosas as relações entre este organismo e o Governo Português.

O relatório das jornadas constituiu, sob a forma de Vol. III dos «Arquivos» do INSA (1974), publicação individualizada, reunindo todas as exposições, comentários e conclusões, simultaneamente, em português e inglês.

A evolução dos acontecimentos de 1973 a 1978 mostra a importância deste intervalo de cinco anos de incertezas e indeterminações, na crise continuada dos SS portugueses e da consequente deterioração destes. A presente nota procura fazer a análise da questão nos cinco pontos seguintes.

1 — A posição do problema nas «jornadas» de 1973

1.1 — Sob o título «Institutos Nacionais de Saúde — As suas atribuições na investigação em saúde», foram apresentadas nas «jornadas» de 2 e 3 de Novembro de 1973, para discussão, dois grupos de tópicos, que, depois de estudados, levaram a uma série de conclusões, com vista a precisar as responsabilidades que devem incumbir aos INS, e no caso particular português ao INSA, na análise dos sistemas de saúde e das modernas condições de saúde das populações, na adaptação progressiva da orgânica dos SS à satisfação das necessidades evolutivas de cuidados de saúde e na recolha e aproveitamento da informação.

1.2 — O primeiro grupo de tópicos compreendia os seguintes cinco pontos concretos:

1.2.1 — A política da saúde, ao definir a extensão dos direitos e a capacidade de intervenção junto das populações, tem como objectivo a organização de sistemas de saúde que melhorem a qualidade da vida, pelo ajustamento das possibilidades de cuidados às necessidades existentes, sentidas ou não pelos indivíduos.

Quem deverá e poderá fazer este estudo?

1.2.2 — Os tipos de sistemas de saúde, nacionais ou para grupos da população, em actividade no presente, têm características e defeitos ou insuficiências que podem ser melhorados dentro de perspectivas novas de estruturação dos serviços de saúde.

Quem deverá e poderá fazer este estudo?

1.2.3 — A experiência das modalidades de sistemas de saúde actualmente existentes — nacionais, da previdência e para grupos restritos da população — permite já uma avaliação comparativa da sua acção na prestação de cuidados de saúde globais às comodidades.

Quem deverá e poderá fazer este estudo?

1.2.4 — A posição dos cuidados primários de saúde e dos serviços hospitalares nos sistemas de saúde. O papel de uma rede generalizada de centros de saúde da comunidade na nova estruturação destes serviços, como meio de prestação de cuidados primários generalizados e económicos à população.

Quem deverá e poderá fazer este estudo?

1.2.5 — A crescente preocupação dos governos, com a evolução dos serviços de saúde, corresponde a uma evidente falta de capacidade de planear e organizar. Para planear e organizar há que estudar os problemas de forma continuada.

Quem deverá e poderá fazer este estudo?

1.3 — O segundo grupo de tópicos envolvia quatro pontos:

1.3.1 — Factores que condicionam as novas condições de saúde. Seu conhecimento continuado e tradução dos resultados em termos de:

— níveis de saúde e de doença das comunidades;

— organização de serviços adequados para toda a população;

— avaliação de resultados e informação regular da população, na base da educação para a saúde.

Quem deverá e poderá fazer este estudo?

1.3.2 — Acompanhamento epidemiológico da mudança dos padrões de morbilidade na sociedade em evolução dos nossos dias.

Quem deverá e poderá fazer este estudo?

1.3.3 — Estudo do papel representado pelas condições de habitação, urbanismo, poluição, trabalho e nutrição nas mudanças da morbilidade das comunidades.

Quem deverá e poderá fazer este estudo?

1.3.4 — Características dos aspectos demográficos relacionados com os condicionalismos que afectam o crescimento das populações.

Quem deverá e poderá fazer este estudo?

1.4 — Como conclusão imediata estabeleceu-se que:

1.4.1 — Os Institutos Nacionais de Saúde fossem considerados os organismos mais adequados para efectuarem os estudos que servirão para ajudar a informar os responsáveis pela política da saúde e a própria população.

1.4.2 — Esta tarefa, que envolve muito trabalho de coordenação, será conduzida em ligação com as direcções dos próprios serviços de saúde, as Universidades e outras entidades oficiais ou privadas com capacidade para a investigação neste sector fundamental da vida social.

1.5 — As conclusões gerais decorrentes da distribuição dos sistemas de saúde por quatro grupos (liberal, ou de medicina livre, da previdência, ou de seguro-doença, nacional do tipo inglês e nacional do tipo socialista) e da análise dos principais factores condicionantes da saúde das populações e da organização de cuidados de saúde adequados foram concretizadas, pelo então investigador do INSA, Dr. Pedro Morais Barbosa, nos cinco pontos seguintes, que resumem as atribuições e responsabilidades do INSA, a considerar neste campo:

1.5.1 — Analisadas as modalidades, existentes ou já praticadas, de sistemas de saúde, concluiu-se que só os sistemas unitários de cobertura total da população se mostram aptos a satisfazerem as necessidades actuais de saúde. Foi, a este propósito, avaliada a nossa experiência dos Serviços Médico-Sociais da Previdência Social, que não satisfazem os objectivos do referido modelo «sistema unitário de cobertura total» e devem ser integrados no SS geral. Precisam de ser investigadas soluções capazes e aplicá-las, provavelmente na base de um sistema de saúde de tipo nacional.

1.5.2 — Foi definido o tipo de cuidados de saúde que importa promover para efectivar a política de saúde já adoptada, para além dos cuidados médicos correntes, o que implica a organização estruturada e funcional dos serviços numa cadeia em que se vão completando as intervenções de cuidados de base e vigilância até à hospitalização e aos meios de recuperação. De acordo com o sistema de saúde aplicado, é essencial estabelecer medidas imediatas e criteriosas de ajustamento, para o que as entidades orientadoras e de execução directa de actividades precisam de ser informadas em tempo oportuno e correctamente.

1.5.3 — O estudo das modernas condições de saúde, e das mudanças de «modelo» das doenças mais importantes, na sua evolução, tendo em conta a análise permanente de toda a diversidade de factores que as condicionam, implica duas perspectivas: epidemiológica e ecológica. A perspectiva epidemiológica foi considerada em face de um resumo crítico da situação portuguesa nos aspectos das doenças evitáveis dominantes e das doenças genéticas e crónico-degenerativas, quanto às exigências da informação de base e do respectivo tratamento científico e das ligações com as intervenções administrativas a efectuar no âmbito do planeamento em fase posterior. A perspectiva ecológica foi considerada para cada um dos factores de base do ambiente, condicionadores da saúde, nomeadamente, a alimentação, habitação, urbanismo, poluição, trabalho, apreciando-se dados estatísticos e indicadores sanitários, segundo visão crítica metodologicamente orientada para o seu esclarecimento, por meio de inquéritos, investigação e proposta de soluções. Foram ainda analisadas as implicações populacionais (demográficas, excesso de população, planeamento familiar) na satisfação das necessidades de saúde e particularmente no quadro geral de preocupações das entidades responsáveis pela prestação de cuidados de saúde adequados, sobretudo de cuidados primários.

1.5.4 — Ainda a propósito das modernas condições de saúde, foram postas em evidência as consequências que a alteração de factores condicionantes da saúde dos indivíduos, famílias e comunidades exige que sejam atendidas no ensino da medicina e actualização profissional dos médicos, bem como na formação dos outros profissionais de saúde. Aventaram-se esperanças na experiência que a «Universidade Nova de Lisboa» poderá proporcionar, ao propor a criação de um novo tipo de ensino mé-

dico entre nós, com os objectivos enunciados, e, quanto ao ensino especializado para a saúde pública, acentuou-se o papel que deve caber a um organismo como o INSA, por si, ou por escola a ele estreitamente ligada para esse efeito. Mencionou-se, também, a vantagem de encarar a utilização dos hospitais centrais e distritais, para além dos especificamente escolares, e ainda de centros de saúde, como apoio ao ensino de medicina e à formação de profissionais de saúde, e de melhorar a cooperação com outras instituições de ensino, em especial as Faculdades de Medicina.

1.5.5 — Foram unânimes os pontos de vista sobre a necessidade de organizar, com carácter permanente e utilizando a devida metodologia, estudos — quer para a colheita de dados de base, quer para o tratamento científico destes dados e pesquisa de soluções — sobre as várias ordens de problemas inventariados e equacionados, que permitam conhecer a situação e encaminhá-la. Tais estudos deverão ser participados, desde a base dos SS, mas programados e conduzidos pelo INSA, a que também estariam afectas as actividades de investigação experimental de laboratório. Estudado o tema em confronto com modelos já adoptados noutros países, para o que se aproveitou a experiência comunicada pelos participantes estrangeiros nas «jornadas», entendeu-se que o INSA, tal como definido na lei vigente, pode desempenhar as funções desejadas, desde que, dotado de meios suficientemente reforçados conforme a evolução das solicitações de intervenção e se lhe facultem adequadas relações directas com as entidades que terão de participar na colheita dos elementos necessários, em cada um dos níveis de actividade.

2 — A evolução de 1973 a 1978

2.1 — Na linha das deliberações indicadas, o INSA começou a organizar o seu Centro de Estudos de Administração de Saúde Pública, criado pela «Reforma de 1971», para actuar como núcleo de recolha e análise de dados, em ligação com os restantes serviços de estudo, a Escola Nacionl de Saúde Pública, que era então o serviço de ensino especializado de saúde pública, e, eventualmente, outras entidades nacionais e estrangeiras.

O primeiro objectivo considerado foi o de tentar definir um esquema de ensino médico, que levasse à preparação do tipo de médico necessário ao País, tendo em conta a experiência e preocupações de outros países, em especial as consideradas pelos trabalhos da OMS e da CEE, e as exigências dos nossos SS, à medida que progredisse a sua adaptação à nova estrutura coordenada, em organização, da rede de Centros de Saúde e da rede hospitalar.

Com as perturbações provocadas pela indisciplina do pós-25 de Abril, a actividade do Centro terminou ainda em 1974. O autor desta nota tinha, entretanto, promovido a recolha de muitos elementos pelos competentes serviços de documentação do INSA, que puderam ser divulgados no período de 1973-1975, particularmente no que se referia ao ensino médico e à avaliação dos sistemas organizados que procuram realizar a cobertura de saúde das populações. Nos dois números seguintes, são resumidas as ideias básicas sobre o esquema do ensino médico (2.2) e as opções que oferecem os modelos de cuidados de saúde (2.3) em actividade.

2.2 — O ensino da medicina centrado nas ciências fundamentais e na colectividade.

Uma vez definidos os dois pontos de partida do plano de estudos do curso de Medicina:

— o tipo de médico que é preciso preparar (finalidade do plano);

— previsão do número de médicos que devem ser licenciados anualmente (objecto do plano);

— tarefas estas que virão a incumbir a órgãos centrais de estudo e investigação da tecnologia da saúde, e de que o INSA poderá ser o promotor, outros dois pontos são de considerar no delineamento do esquema:

— o da modalidade do ensino — integrado ou coordenado — que será mais conveniente, ou aplicável com mais êxito, dadas as condições e os meios a utilizar;

— o do plano de estudos, no que se refere a duração do curso, fases que deve compreender, distribuição das matérias e das actividades aplicadas a cada fase e organização de horários.

É destes dois pontos que nos iremos ocupar.

2.2.1 — Modalidade do ensino.

Quando se procura que os factores condicionantes dos estudos de saúde ou de doença no homem sejam dados a conhecer ao estudante de Medicina e por ele venham a ser considerados como base da sua formação, nos aspectos da ecologia humana, da patologia e da terapêutica, apresentados em sequência racio-

nal das suas interligações, parte-se do princípio de que se dispõe da capacidade suficiente de elaboração e de execução dos programas ao longo do curso, e, especialmente, na sua fase inicial, que será decisiva para o êxito do ensino.

Esta capacidade pode atingir o grau suficiente de unificação a partir de um núcleo de conhecimentos que se alarga progressivamente de forma equilibrada, pela apresentação de novos factos mais complicados, sem duplicações, repetições ou omissões, e permitirá a organização do ensino integrado; ou é insuficiente para atingir esta finalidade, mas admite a coordenação das actividades docentes e discentes até um grau já aceitável de eficiência.

Com o ensino integrado tem-se em vista, conforme publicação recente da O. M. S. (*):

— a apresentação simultânea das matérias referentes ao mesmo assunto, que se encontram dispersas por disciplinas de estudo diferentes, permitindo a assimilação e a integração mais fácil dos dados a conhecer;

— a apresentação dos factos, centrados numa linha de princípios coerente, na extensão em que for definida no plano, uma vez que não pode ser ministrada a totalidade dos conhecimentos disponíveis na nossa época;

— a redução ao mínimo das repetições inúteis e das omissões graves;

— o reforço e a melhoria das relações entre os membros dos diversos departamentos ou disciplinas, facilitando o conhecimento dos problemas e o seu confronto.

Julga-se que não haverá dúvida quanto às vantagens de estabelecer o ensino integrado ao longo de todo o curso, mas se tal não for possível de forma suficiente, pela carência de pessoal docente, ou por carência de orgânica apropriada de serviços, estabelecer-se-ia o regime, de integraçãa para os anos de preparação básica e para aqueles dos sectores da fase seguinte, como é o ensino da saúde pública, em que a natureza dos meios disponíveis o torne aplicável, dando aos restantes a coordenação de actividades que for possível.

Compreende-se que o ensino integrado apresente o maior interesse nos primeiros anos do curso, visto ser neles que são ministrados os ensinamentos de carácter geral que procuram informar os estudantes do que é a vida, em termos biológicos, e dos seus mecanismos a níveis de diferenciação; da sua expressão física, química e funcional no homem, assente como em todos os seres vivos nas três funções básicas de relação com o meio ambiente, nutrição e reprodução; e levar os mesmos alunos a utilizarem a sua capacidade de reflexão e integração de conceitos, no sentido de compreenderem de forma suficientemente clara o comportamento do organismo humano ao longo da vida e poderem aconselhar as medidas apropriadas ou executar as tarefas que ajudem à sua adaptação ou recuperação, em face das acções exteriores influenciadoras desse comportamento.

O ensino nos dois primeiros anos, ou, pelo menos, no primeiro ano, deverá ser, por isso, de preferência, integrado, o que exigirá uma estrutura de serviços de apoio orientada para esse fim, a qual se afigura muito difícil de conseguir, desde que não seja criada inteiramente de novo.

No caso do ensino integrado, toda a planificação do curso exigirá que esteja assegurada uma direcção única de docência e dos serviços de apoio intervenientes, embora com o apoio de organismos comissionais nos diversos níveis de integração.

Para o uso do ensino integrado apenas ao nível do primeiro ano, o problema poderá ter solução conveniente, se os sectores envolvidos das diversas disciplinas ou departamentos forem colocados, para efeito de ensino, sob orientação única. Muito mais difícil será conseguir esta possibilidade no segundo ano, dada a diversidade de assuntos que são já abrangidos pelo ensino.

Não podendo ser integrado, deverá o ensino ser fortemente coordenado dentro da sua característica de «departamental» ou «disciplinar», mantendo entre as diferentes matérias afins dos departamentos ou disciplinas uma ligação de afinidades e de tempo perfeitamente definida e ajustada ao desenrolar cronológico da ministração dos grupos de conhecimentos seleccionados — para que estes sejam encadeados nos diversos níveis da sua explanação.

A coordenação, embora também difícil para se conseguir um bom grau de eficiência de resultados práticos, implicará a existência de uma comissão responsável que estude os planos, os programas e a sua execução no tempo, e acompanhe a marcha do ensino, dia-a-dia, corrigindo as distorsões, inevitáveis, que hão-de surgir.

Em qualquer caso, a comissão ou comissões responsáveis pela orientação do ensino não se confundirão com a comissão ou conse-

---

* Cahiers de Santé Publique, n.º 47, 1973

lho de curso, que incluirá delegados dos docentes e dos estudantes e tratará dos problemas de funcionamento e acerto de dificuldades ao nível de cada curso, embora entre estas entidades haja ligações estreitas de carácter informativo e resolutivo.

Sem procurar desenvolver este assunto, deixa-se apenas a ideia de que os conselhos de curso, constituídos pelos docentes e alunos directamente interessados, são da maior importância para a marcha regular e o aperfeiçomento do ensino.

2.2.2 — Plano geral de estudos.

O curso normal de Medicina teria a duração máxima de cinco/seis anos, sendo dois/três anos de formação básica e três de formação médica para o conhecimento da saúde e da doença.

O ano escolar teria trinta semanas úteis, agrupadas ou não por trimestres ou semestres (a separação do ano escolar em trimestres ou semestres parece não apresentar qualquer vantagem na ministração do ensino de tipo global como deve ser o do curso médico), havendo trinta e quatro horas de trabalho por semana, o que prefaz um total de 1020 horas, por ano. Deste total, 900 horas são destinadas a ensino e 120, a sessões de curso, com a distribuição semanal e diária seguinte:

— em cada semana, 30 horas (cinco dias úteis) seriam destinadas a aulas e trabalhos de grupo, e 4 (manhã de sábado) a sessões de curso preparadas, para apreciação geral, crítica e avaliação ou exposições de conjunto;

— o dia lectivo de trabalho seria de 6 horas, dividido em dois períodos: manhã, das 8,30 às 12,30; e tarde, das 14,30 às 16,30, com excepção de sábado, em que haveria apenas o período da manhã. Em cada período da manhã ou da tarde, haveria o ou os intervalos julgados convenientes com a duração de cerca de 15 minutos;

— as aulas teriam, normalmente, a duração de 2 horas, ou, quando fosse julgado conveniente, como é o caso de muitos trabalhos práticos e de actividades externas, seriam feitos arranjos de 3 ou 4 horas seguidas;

— o ensino seria predominantemente demonstrativo e concitando a intervenção pessoal ou de grupo, por parte dos alunos, pelo que as aulas magistrais de exposição teórica, que não devem exceder 45 minutos, serão em número limitado e normalmente seguidas de trabalho de demonstração;

— as sessões de sábado, sob a forma de seminários, mesas-redondas, etc., teriam a duração de 4 horas e os assuntos a tratar, directamente relacionados com os objectivos do curso e os interesses dos alunos no melhor conhecimento dos problemas gerais humanos e da colectividade (económicos, culturais, políticos), seriam organizados pelos conselhos de curso.

No total de 1120 horas do ano lectivo, está compreendido o tempo destinado a provas de apreciação do rendimento e preparação dos alunos, efectuadas ao longo do ano escolar, podendo duas semanas mais, o que elevaria a duração do curso para 32 semanas úteis, ser destinadas a provas de exame final, se este for julgado necessário. O exame final que abrangerá a totalidade do programa, seria sempre voluntário e efectuado no período de 2 semanas que fosse estabelecido pelo conselho de curso, antes do início das férias grandes e depois de terminadas as 30 semanas do curso, sem necessidade de continuidade precisa com o final destas.

Neste conceito de ensino, todos os conhecimentos adquiridos devem tornar-se permanentes, interligar-se e fazer parte da formação do estudante, constituindo um todo de estratos sucessivos indissociáveis.

2.2.2.1 — Fase de preparação básica.

Admitindo que o curso fica constituído pelas duas fases consideradas — de preparação básica e de ensino da saúde e da doença — vejamos como as matérias se poderão escalonar e que designações convêm para efeito de mais facilmente se identificar o seu agrupamento.

A fase de ensino básico, com a duração de dois/três anos, procura corresponder ao objectivo de ministrar os conhecimentos biológicos, bioquímicos, anátomo-fisiológicos e farmacológicos relacionados com os factores condicionantes da saúde, e descrever as influências gerais que podem modificar os equilíbrios químicos, funcionais e estruturais. Com esta informação, os alunos devem ficar aptos a compreender e explicar as características do comportamento do organismo humano nas diversas fases da vida, e as razões das suas modificações, em termos de alteração ou mudança dos mecanismos normais do seu funcionamento, por processos patológicos gerais, resultantes da acção de factores genéticos e ecológicos.

2.2.2.2 — Fase de preparação médica para a saúde e a doença.

Terminada a fase básica, que deve ter ministrado os conhecimentos necessários para a entrada dos alunos na fase seguinte, de aprendizagem de assuntos directamente relacionados com a saúde dos indivíduos e das comunidades, a segunda parte do curso assenta no estudo dos aspectos práticos da saúde e da doença.

Compreenderá, fundamentalmente, dois grupos de assuntos interligados:

— os estudos baseados em doentes para aprendizagem dos meios de observação e conhecimento dos principais síndromas — médicos, cirúrgicos e psicopatológicos — que constituem a entidade doença e permitem o seu diagnóstico e a identificação das suas diversas manifestações;

— o conhecimento e as intervenções relativas à organização de serviços de saúde e seu funcionamento para apoio, vigilância e atendimento dos indivíduos, como elementos das famílias e comunidades a que pertencem.

O primeiro grupo de estudos inclui a observação individual (exame clínico), os exames laboratoriais, o diagnóstico radiológico, a terapêutica e a prevenção das sequelas da doença, tanto nos aspectos médico-sociais como médico-legais.

O segundo grupo carresponde a uma preparação de vigilância e acompanhamento dos indivíduos — com saúde e doentes — e de organização de actividades adequadas na comunidade, por equipas de saúde encarregadas das tarefas de cuidados gerais, de triagem e de educação. Corresponde ao sector de trabalho designado por Saúde Pública.

2.2.2.3 — O sector da Saúde Pública, representado por alguns dos assuntos essenciais do domínio da cobertura médico-sanitária, é introduzido no ensino médico, como base de conhecimentos e de experiência para a sua aplicação corrente, tendo em vista a preparação dos futuros médicos nos sectores de actividade directamente em contacto com a população, proporcionando-lhes, simultaneamente:

a) O conhecimento das condições de saúde e de doença existentes nas comunidades, das diferenças apresentadas pelo padrão da doença nos diversos sectores sociais e profissionais da população dessas comunidades e da tendência que a morbilidade apresenta para se modificar, em termos de nosologia e, particularmente, de psicologia social, pela preocupação crescente dos indivíduos com a sua saúde ou com grupos particulares de doenças, e consequente recurso aos médicos e aos serviços organizados de saúde;

b) O conhecimento dos sistemas de saúde e da organização das diversas modalidades de serviços de saúde em cada sistema, aos níveis local, regional e central de planeamento e de execução das grandes tarefas médicas e paramédicas;

c) A aprendizagem prática das intervenções que envolvem a aplicação dos cuidados de saúde completos necessários à população (promoção da saúde, prevenção da doença, tratamento e reabilitação dos doentes), a efectuar pelas equipas de saúde na cobertura médico-sanitária de cada comunidade e pelo escalão hospitalar com os serviços de tratamento de doentes que precisem de cuidados de urgência, intensivos e intermédios, ou apenas de cuidados de urgência e intensivos, conforme as atribuições conferidas aos hospitais.

Ao enquadramento orgânico desta parte do ensino, acresce, na prática, a necessidade de conduzir por meios didácticos adequados os estudos de saúde integrados que procuram dar o conhecimento real da situação e das tendências evolutivas do sistema ecológico: homem-ambiente físico e biológico, e das condições sociais que caracterizam a estrutura das comunidades, com a finalidade de assegurar a melhoria da saúde e a luta oportuna contra a doença.

Estas intervenções processam-se coordenadamente, junto:

a) Do indivíduo, aplicando as medidas de promoção regular e continuada de saúde e de prevenção da doença que as técnicas biomédicas permitem, a avaliação do nível de saúde nas fases mais críticas da vida dos indivíduos e as medidas de vigilância que facilitem o diagnóstico precoce e a terapêutica oportuna, quando o indivíduo adoece, ou julga sentir-se doente, encaminhando-o para os serviços de atendimento adequados;

b) Da família, pela actividade directa dos serviços de cobertura médico-sanitária (preventivos, curativos, de reabilitação), especialmente de cuidados gerais, materno-infantis, escolares (saúde escolar), do trabalho, de saúde mental e aos idosos, com os respectivos apoios de educação sanitária (educação para a saúde) e de acção social;

c) Da comunidade, com a organização e aperfeiçoamento das medidas sanitárias de carácter preventivo e de promoção de saúde e dos serviços de cuidados médicos e sociais

adequados às necessidades consideradas prioritárias dos diversos sectores da população que constituem a comunidade, nos domínios da salubridade do ambiente, da vigilância da saúde, da luta contra a doença e do estudo dos problemas locais que tenham influência na saúde e na doença.

Para satisfazer estes objectivos, o ensino de saúde pública deverá compreender um certo número de disciplinas, numa tentativa de identificação dos assuntos principais, distribuídos pelos três anos da segunda fase do curso, com as designações e campos de trabalhos seguintes.

Ecologia e Salubridade do Ambiente, compreendendo:

— ecologia humana e sistemas ecológicos fundamentais para a vida e a saúde do homem; factores ambientais; alimentação, habitação, urbanismo;

— patologia geográfica;

— higiene do meio ambiente, urbanismo e luta contra a poluição.

Epidemiologia e Bioestatística, englobando:

— o método epidemiológico e o apoio estatístico de que precisa;

— os esquemas epidemiológicos relativos às doenças infecciosas e parasitárias dominantes;

— os esquemas epidemiológicos relativos às doenças não infecciosas dominantes, à nutrição e aos acidentes;

— modelos epidemiológicos de transição no panorama das doenças actuais.

Administração de Saúde Pública, que se ocuparia de:

— evolução histórica da medicina e da organização de cuidados médicos;

— política de saúde e cuidados de saúde;

— organização de serviços de saúde e esquemas de cuidados médicos;

— o esquema português de serviços de saúde;

— quadro de morbilidade e principais grupos de entidades nosológicas;

— actuação dos serviços de cobertura médico-sanitária e ligações com a rede hospitalar;

— interligação dos cuidados individuais, materno-infantis, escolares, do trabalho e da saúde mental;

— serviços de saúde e serviços de previdência;

— previdência e segurança nacional.

Demografia e População, que se ocuparia de:

— fertilidade, natalidade e mortalidade;

— migração rural-urbana, regional e inter-países;

— tendência evolutiva da população; população activa e sectores da economia;

— política da população em política da saúde.

Sociologia e Economia em Saúde, compreendendo:

— as fases do desenvolvimento e a capacidade de organizar serviços de saúde;

— relações entre níveis de saúde e condições económicas e sociais;

— nível de vida e utilização dos serviços de saúde pela população;

— custo dos serviços de saúde.

2.3 — Neste período, com a divulgação das características dos principais modelos de sistemas de cuidados de saúde, orientada para uma avaliação mais concreta da potencialidade da estrutura dos nossos SS, foi trazido pela primeira vez ao conhecimento dos responsáveis, em Portugal, o esquema do novo sistema completo de cuidados de saúde, não estatal, Kayser-Permanente, e feita a análise comparativa dos custos.

Dentro desta linha de documentação, desenvolveram-se trabalhos, que, especificando princípios, definições, bases técnicas e formas de funcionamento, abriam caminho para o enquadramento da nossa posição de país com SS em mau estado de funcionamento numa perspectiva ou perspectivas delineáveis de mudança.

No que diz respeito a sistemas, estabeleceu-se que, como a própria palavra indica, um sistema de saúde implica a existência de partes integradas e interdependentes, organizadas e montadas para atingir determinados objectivos, isto é, uma estrutura dotada de meios de acção coordenados, aos quais se atribuem funções e finalidades bem definidas.

Na concepção de um sistema de saúde está implícito que os tipos de cuidados de saúde a prestar pelas seus diversos órgãos, que são os instrumentos da sua própria actividade, pressupõem a existência de uma estrutura na qual a população beneficiária e os recursos a utilizar estarão agrupados em subsistemas, ou

escalões funcionais, que facilitam aos utentes, com oportunidade de tempo e de acesso, a utilização de todos os tipos de serviços de saúde desejáveis ou necessários. Ao mesmo tempo que são asseguradas relações funcionais com outras entidades e serviços que tenham responsabilidades no campo da saúde, relações que são, em muitos casos, bilaterais.

Um sistema de cuidados de saúde, quer seja financiado pela comunidade nacional, pela via do orçamento do Estado (tipo serviço nacional), por quotas em regime de seguro (tipo seguro de saúde) ou por sistema de avença (tipo pré-pagamento), para satisfazer e para desempenhar cabalmente o papel que lhe cabe, na época que vivemos, tem de se orientar no sentido de:

— organizar os seus serviços de forma a poder conceder prioridade aos cuidados de vigilância e prevenção, que evitem a doença e salvem vidas começando por impedir que haja doentes evitáveis, e mantendo devidamente actualizados e operacionais os cuidados curativos e de recuperação, no sentido de reduzir o sofrimento e a incapacidade;

— reunir nos seus programas todos os serviços, mesmo os considerados de maior especialização, como os mentais e os dentários;

— substituir a prática individual da medicina, a acção do médico isolado, pela actividade de grupos e equipas apoiadas em meios técnicos eficazes e adequados, e organizar o seu pessoal em equipas de saúde, na base da medicina de clínica geral apoiada na medicina especializada;

— assentar toda a orgânica dos serviços em dois escalões interligados e funcionais:

a) o sector da cobertura médico-sanitária da população, que presta os cuidados de base, ou primários, directamente sob a forma de cuidados preventivos e curativos, que podem ser efectuados ao nível local dos serviços, tanto para os indivíduos como para as comunidades, e promove o encaminhamento racional (triagem) dos doentes que necessitam de ser atendidos no escalão dos cuidados hospitalares;

b) o sector de internamento, ou hospitalar, para tratamento e diagnóstico especializado dos casos que não podem ser resolvidos no escalão anterior;

— desenvolver o próprio sistema sob a forma de rede de serviços, baseados nos centros de saúde e postos dependentes, para os cuidados primários, e nos hospitais distritais e hospitais centrais, para os cuidados mais altamente especializados;

— assegurar a melhoria da qualidade dos cuidados prestados, o seu controlo público, a supervisão profissional e a programação da educação sanitária intensiva como parte do funcionamento dos próprios serviços;

— considerar-se, de facto e por definição, orientado para servir toda a população e manter actualizada e eficiente a qualidade dos cuidados que presta.

As alternativas de modelos e orgânicas de sistemas de saúde dependem do desenvolvimento político e social das populações, porque o estádio desse desenvolvimento condiciona irremediavelmente as preocupações com o planeamento de objectivos e as decisões sobre a organização, financiamento, distribuição e opção dos cuidados de saúde a assegurar.

Ao descrever cada um dos sistemas — sistema inglês ou de Serviço Nacional de Saúde, sistema dos países socialistas ou de medicina socializada, sistema de Previdência ou de medicina parcialmente organizada, sistema americano ou de medicina liberal, sistema Kayser-Permanente — entrou-se no campa da avaliação do interesse prático e do mérito social da grande mudança que corresponde à passagem de cuidados médicos pagos directamente pelos utentes para cuidados médicos gratuitos.

A análise dos sistemas de saúde referidos mostra que se eles são, em princípio, diferentes, e as mudanças que se estão a operar nos menos organizados, mais liberais e mais dependentes dos interesses particulares directos do que dos interesses da população, indicam que o caminho da estatização ou do controlo para-estatal parece ser inevitável e que irá, mesmo, ser rápido. A orientação da política da saúde, relativamente à escolha e aplicação do sistema a instituir, e o grau de organização e modo de distribuição dos serviços de prestação de cuidados de saúde na população assentam numa fase funcional — gratuitamente ou não — dos cuidados. Será possível, sem estudo aprofundado do problema, instituir cuidados gratuitos de bom nível técnico?

A finalidade de conseguir cuidados médicos e, mais longe, de cuidados de saúde para toda a população e não apenas para os que os precisam imediatamente, corresponde a um

canceito admirável, que, até agora, não teve solução adequada, mas apenas parcial e só em alguns países evoluídos de grandes recursos sócio-económicos. A passagem do regime de pagamento de consultas e outros actos médicos, apenas acessível a uma minoria da população, para o de gratuitamente generalizado, levanta problemas de ordem funcional que ainda não foram remediados, convenientemente, em parte nenhuma do Mundo.

A este respeito, tem-se chamado a atenção para uma antiga ideia, de que as soluções ensaiadas até agora para prestar cuidados de saúde a toda a gente, abolindo o pagamento das consultas e demais serviços médicos, substituindo-o por qualquer das modalidades de avença ou seguro (comercial, benévolo, previdência, estatal), são promessas enganadoras, que criam cada dia mais dificuldades. O expediente simples de tornar todos os cuidados médicos gratuitos para a população dum país, quando eles eram até agora extremamente custosos e de recursos escassos, dada a sua complexidade técnica crescente, sem encontrar um mecanismo regulador da utilização, viola as leis básicas da economia (ciência do aproveitamento e distribuição racional dos recursos escassos disponíveis), e tem como resultado que muitas pessoas não necessitadas ou pouco necessitadas de cuidados imediatos, que são a grande maioria na comunidade, vão competir com as mais necessitadas na utilização dos escassos recursos existentes, em particular no que se refere a consultas médicas.

O aumento da procura (consumo) de serviços aumentará bruscamente, enquanto que o aumento dos recursos será proporcionalmente muito menor, donde agravamento brusco e progressivo das dificuldades em obter os cuidados médicos na extensão em que são realmente desejados. E isto resulta de dois factos muito evidentes: *a*) ao desaparecer o pagamento dos serviços de cuidados médicos, as pessoas deixam de pensar no dinheiro que gastariam ao ir ao médico, dinheiro que só se resolveriam a gastar depois de se sentirem muito doentes, e pensam que têm novos direitos a usufruir e que devem utilizá-los em toda a plenitude individual e não colectiva; *b*) a utilização dos cuidados médicos, tal como é indispensável e provável na nossa época, não é apenas a situação claramente binária da pessoa estar doente ou não doente, visto que a saúde é um espectro que se estende, para todas as pessoas, desde a condição de saudáveis (não ter doença, mas vigiar a saúde), à de preocupadas com a saúde, à de início de doença mas ainda sem sintomas evidentes e à de verdadeiramente doentes. Ora os cuidados médicos são tão importantes (necessários) para a promoção e vigilância da saúde, com o objectivo de evitar a tempo a doença, como para tratamento da doença e recuperação das sequelas desta.

Na situação de medicina de mercado, o sistema de cuidados de saúde é um sistema de cuidados médicos para doentes, com o médico no ponto de entrada e completamente envolvido no processo de tratamento da doença. O mecanismo do pagamento regula o afluxo ao sistema e o fluxo dos utentes dentro do sistema, mantendo fora a grande maioria das pessoas da população que só a ele recorrem quando seriamente doentes e com as limitações de acesso criadas pelo custo deste e as possibilidades de ser atendido no momento desejado, mas este mecanismo é inaceitável na nossa sociedade civilizada.

Acentue-se que esta separação dos doentes — que constituem um grupo da população com procura certa de cuidados (consumo), sempre em aumento — de todas as outras pessoas com diversos níveis de saúde — que representam um potencial de procura incerta de cuidados, que será muito grande logo no início do funcionamento do sistema livre e aumentará pelo tempo adiante — permite-nos prever que a instituição de cuidados médicos gratuitos, sem um mecanismo regulador eficaz e tecnicamente correcto, produziria efeitos desastrosos, porque: *a*) aumentando muito mais a procura do que há possibilidade de aumentar os recursos, estes tornar-se-ão cada vez mais escassos para fazer face às necessidades; *b*) grande número de pessoas com necessidades menos urgentes de cuidados irão competir com as de maiores necessidades e fazendo barreira à entrada destes; *c*) os médicos perderão muito do seu tempo com as pessoas sem doença definida e utilizarão com elas as técnicas dos cuidados na doença, procurando sintomas ou perturbações onde não existem ou que não são reveláveis por estes meios de diagnóstico, o que além de ser desperdício é frustração e desconsolo profissional; *d*) o impacto do aumento da procura incerta de cuidados pelo grupo não doente cria aumento das despesas e inflação dos preços.

A solução não está na mudança da clínica privada individual, comercial, para a clínica de grupo ou para a organização comunitária de serviços gratuitos, simplesmente, sem a introdução de medidas correctoras, comprovadas pela experiência, mas implica, numa estrutura

aberta a toda a população e destinada a promover e a vigiar a saúde e a lutar contra a doença: *a*) a instituição de um método novo de entrada com capacidade para separar o grupo de procura incerta de cuidados nos seus componentes básicos — pessoas com saúde, com preocupações de saúde, no início da doença e com doença declarada — e as encaminhe, sem necessidade da intervenção directa e permanente do médico, para os serviços convenientes de atendimento; *b*) serviço organizado para atender cada grupo de utentes de acordo com as suas necessidades e no momento adequado, de forma a que sejam devidamente atendidos, examinados e aconselhados.

Em que consiste, pois, a solução? Numa estrutura de serviços em que o acesso aos cuidados é regulado por mecanismo controlador, baseado em equipas de saúde e meios laboratoriais, apoiados em computador, que faz a separação, sem a intervenção de médicos ou com uma intervenção muito limitada destes, das pessoas a atender e as encaminha para serviços adequados, de acordo com os cuidados de que necessitam, separando, assim, à entrada dos serviços as pessoas que devem ir imediatamente ao médico e as que só o devem fazer depois de colhidos elementos comprovativos da sua saúde.

2.4 — A brusca deterioração que a partir de 1974 caracterizou o funcionamento dos nossos serviços de saúde — resultante a todos os níveis da intromissão da política agitadora de destruição e não de insuficiências técnicas ou financeiras — conduziu a que as despesas passassem em poucos anos de menos de 5 milhões de contos para mais de 30 milhões, sem que o País tivesse beneficiado fosse do que fosse em termos de saúde da população. Muito pelo contrário, as pessoas têm-se mostrado cada dia que passa mais doentes, consumindo mais medicamentos, faltando mais ao trabalho, por alegados motivos de falta de saúde, e mostrando-se mais descontentes.

Nenhum estudo sério foi feito para interpretar as causas destas mudanças e, sobretudo, nenhum dos responsáveis se preocupou em promover a sua realização. Assistiu-se, assim, à publicação incoerente de legislação sectorial para satisfazer pressões de grupos, que desarticulou ainda mais o que ainda não estava integrado nos serviços gerais de saúde e criou situações verdadeiramente antinacionais. Foi o caso da extinção do sector da enfermagem auxiliar, que é indispensável num País com as nossas necessidades; da arregimentação do internato médico que transformou os hospitais em «depósitos» de médicos inúteis e dispendiosos, sem semelhança sequer com os militares que têm os «depósitos» de pessoal com fins bem especificados; da instituição do serviço médico transitório à periferia, quando o que se precisava era de fixar condignamente esses médicos junto das populações, dentro da estrutura dos serviços de saúde para tal organizada; do decreto que, para parcelarmente aumentar os vencimentos dos chamados técnicos auxiliares de laboratório e similares sem querer saber dos restantes sectores da respectiva carreira profissional, fez parar toda a formação de novos elementos desde 31 de Dezembro de 1977 e interrompê-la pelo menos até ao fim de 1981, o que é uma completa monstruosidade num País que tantas necessidades tem deste pessoal; das tentativas feitas para organizar o chamado «Serviço Nacional de Saúde», como se este simples rótulo fosse a panaceia que resolveria os nossos males na *saúde*, sem que tenha havido a preocupação de melhorar o que temos, desde já, preparando as condições de funcionamento dos serviços, visto que estes estão praticamente criados e organizados, com vista a poderem receber o novo pessoal e a satisfazerem o aumento de solicitações previstas.

3 — A hipótese de um Serviço Nacional de Saúde (SNS) em Portugal

Depois do Decreto-Lei n.º 230/74, de 15 de Maio, estabelecer que competia ao governo o «Lançamento das bases para a criação de um serviço nacional de saúde ao qual tenham acesso todos os cidadãos», e da Constituição da República (1976) estatuir no seu artigo 64.º que os serviços de saúde serão organizados segundo o modelo de serviço nacional de saúde, isto é, com as características de universalidade, igualdade, gratuitidade e planeamento, da responsabilidade do Estado, surgiu com o III Governo Constitucional, em Fevereiro de 1978, a deliberação de elaborar um projecto de «Bases do Serviço Nacional de Saúde», o qual submetido à discussão de toda a população, em Abril, veio a ser publicado com carácter definitivo em Julho seguinte.

As «Bases» podem ser resumidas nas respostas às 5 perguntas seguintes:

1 — Quais são os fundamentos do serviço nacional de saúde proposto?

a) considera-se que ao Estado compete não só definir a política de saúde e zelar pela sua execução, como mobilizar os recursos técnicos, humanos e financeiros necessários e empenhar a população no interesse pelos serviços de saúde, que são pertença de todos, e na melhoria do seu funcionamento;

b) os serviços de saúde são orientados para a unidade de acção, pelo que as suas actividades são coordenadas e realizadas por equipas de trabalho, actuando junto da população considerada como um todo de indivíduos, famílias e comunidades;

c) o cálculo das necessidades de saúde e das potencialidades de meios para as satisfazer resulta do planeamento e avaliação da situação, efectuados por integração dos elementos recolhidos a todos os níveis do serviço e continuadamente no tempo;

d) o funcionamento do serviço é assegurado, em primeiro lugar, pela rede estatal dos chamados serviços de saúde, depois pela rede de serviços privados que desejarem cooperar em regime de convénio, incluindo os casos individuais, e ainda pelas actividades particulares não convencionadas com as quais sejam estabelecidas relações de trabalho e de responsabilidades em saúde;

e) dentro da sua capacidade, o serviço é aberto a todos — utentes e profissionais — e promove as operações necessárias de informação e atendimento da população e de formação e aperfeiçoamento continuado dos profissionais;

f) garante a todos os seus profissionais o regime de função pública e, aos profissionais dos serviços convencionados, o regime que vier a ser estabelecido nas respectivas convenções, as quais obedecerão a normas oficialmente aprovadas;

g) a remuneração dos profissionais é feita por responsabilidade de actividades e não por actos fraccionados.

2 — Quem dirige e é responsável pelo funcionamento do Serviço Nacional de Saúde?

a) a organização e o funcionamento do SNS obedecem a normas técnicas, sendo o Ministério dos Assuntos Sociais — pelo Ministro e Secretário de Estado da Saúde — os responsáveis junto dos órgãos superiores do Estado, tanto pela definição da política de saúde a seguir, como da sua coordenação e avaliação em termos de resultados, competindo aos órgãos técnicos indicados a seguir o estudo, planeamento e a tomada de decisões para que o SNS funcione;

b) o órgão central de direcção e comando operacional é a Administração Central de Saúde (ACS), dirigida por um conselho directivo de cinco membros — que são os directores dos departamentos, abaixo indicados e que escolhem entre si o presidente — e constituída por cinco departamentos: de Cuidados Primários, de Cuidados Diferenciados, de Assuntos Farmacêuticos, de Recursos Humanos e de Gestão Financeira, completados pelos gabinetes de Instalações e Equipamentos, Informática, Jurídico e de Produtos Biológicos de Substituição;

c) ao nível regional, o órgão directamente dependente da ACS é a Administração Distrital de Saúde (ADS), que comanda ao nível do distrito (provisoriamente até que seja estabelecida em definitivo e área a que corresponderá a região) toda a acção do SNS, e é dirigida por um conselho directivo constituído por três membros, apoiado por órgãos com representação dos utentes e dos profissionais;

d) ao nível local ficam os serviços prestadores dos cuidados de saúde, constituídos por centros de saúde e hospitais, directamente dependentes da administração distrital;

e) são órgãos de apoio da ACS o Conselho Nacional de Saúde (CNS), que é o órgão consultivo do MAS, ao qual compete estudar e dar parecer sobre os grandes problemas da política de saúde nacional, enquadrando-se no âmbito mais vasto da política da população, da alimentação e nutrição, do habitat, da poluição e saneamento do meio, da formação profissional, da educação para a saúde, da saúde ocupacional e do medicamento. O CNS é dirigido por um director de formação técnica e tem na sua composição representantes das actividades de saúde e dos utentes; o Departamento de Ensino e Investigação (promoção, coordenação e realização das actividades de ensino e investigação); o Departamento de Estudos e Planeamento (estudos, planeamento, avaliação e informação); e a Inspecção dos Serviços de Saúde (inspecção informativa e administrativa, acção disciplinar);

f) todas as acções de saúde, para além *das* indicadas, ficam sob tutela da ACS.

3 — Quem executa e com que meios humanos e técnicos?

a) as actividades de prestação de cuidados são realizadas pelas redes de centros de saúde, laboratórios de saúde pública e hospitais, que constituem os serviços estatais, e pelas entidades não estatais que vierem a ser convencionadas;

b) os serviços de saúde estatais dispõem do seu pessoal organizado em carreiras e dos meios técnicos que a ACS entenda adequados, dentro da capacidade financeira que o Orçamento Geral do Estado permita e as necessidades de trabalho impõem;

c) tanto para o pessoal como para os serviços convencionados, as tarefas a executar e os meios a utilizar serão definidos nas convenções, mas devem obedecer a normas que garantam o nível e a qualidade desejados, semelhantes aos exigidos para os serviços estatais;

d) os índices de prestação de cuidados à população serão planeados tendo em atenção relações como: médico de cuidados primários/ /habitantes, laboratório/habitantes, camas hospitalares / habitantes, especialistas / habitantes, serviços de saúde pública/habitantes e meios de transporte/habitantes, relações estas condicionadas às características comunitárias.

4 — Quem paga e com que dinheiro?

a) no SNS todos os fundos provêm do Orçamento Geral do Estado e a sua administração é feita pela ACS, sob a orientação técnica do seu Departamento de Gestão Financeira;

b) ao nível da região, é a ADS que efectua a distribuição das verbas a gastar pela rede de centros de saúde, hospitais e escolas de ensino, sob normas emanadas da ACS e com carácter nacional;

c) a mesma ADS efectua os pagamentos que digam respeito a regimes de convénio.

O projecto do SNS leva a concluir que o funcionamento deste fica subordinado apenas a orientação técnica, com exclusão de interferências políticas partidárias, uma vez que compete a ACS dirigi-lo e superintender na execução das suas actividades, e a ACS é um órgão que se governa a si próprio. Também os restantes órgãos de apoio ou dependentes da ACS têm direcções técnicas ou técnico-científicas.

A estrutura que o projecto estabelece para o SNS reúne as características de extrema simplicidade e possibilidade de eficiência, porque consiste apenas em dois órgãos dotados do poder necessário — um central e outro regional — dependendo do órgão regional toda a execução, isto é, a prestação dos cuidados:

ACS — AD — serviços de execução.

5 — Quem estuda em termos técnico-científicos a actuação do Serviço Nacional de Saúde?

a) o estudo e os pareceres relativos aos grandes problemas da política de saúde e a forma como estão a ser resolvidos nos campos sectorais da demografia, alimentação e nutrição, habitat, poluição e saneamento do meio, formação profissional, educação para a saúde, saúde ocupacional e medicamento incumbem, centralmente, ao CNS, órgão criado para promover estas actividades e dotado da capacidade de meios desejáveis para o fazer;

b) a investigação do estado de saúde da população e das perspectivas de evolução e correcção, bem como a análise do «sistema» em termos organizativos e de funcionalidade, incumbem ao DEI, pelo Instituto Nacional de Saúde, em colaboração permanente com os diversos níveis de intervenção do SNS, o CNS e o DEP.

Mas também, aqui, não foi o INSA incumbido de quaisquer trabalhos de apoio, nem apresentou por sua iniciativa colaboração digna de registo.

Entretanto, a Secção Regional do Sul da Ordem dos Médicos e o Partido do Centro Democrático Social (CDS) elaboraram, como réplica, cada um a sua própria alternativa de sistema de saúde genérico para a população portuguesa, baseadas estas duas propostas no esquema clássico da convenção entre os representantes dos utentes e os médicos e outras entidades particulares ou não e na cobertura financeira por contribuição do tipo seguro-doença, completada por financiamento do Estado. Teria sido oportuno que o INSA fizesse, então, a análise técnica de todo o problema, avaliando os méritos e carências dos diversos projectos em confronto, nos termos que interessariam ao País. Tal não aconteceu, mas uma tentativa nesse sentido foi feita sobre a hora (Julho de 1978), pelo autor desta nota, em condições semelhantes às referidas em 2.1.

Como poderá o INSA voltar a ter papel concreto na análise dos problemas nacionais de saúde e que responsabilidades lhe advêm, na época presente, da orientação estabelecida nas «jornadas» de 1973?

4 — As incertezas da hipótese do Serviço Nacional de Saúde

Assentes as premissas do que será um SNS a organizar e qual a sua dependência do Estado — por definição o SNS deve ser da responsabilidade total, administrativa e financeira, do Estado, sem participação independente de entidades particulares — tudo terá que ser conduzido, desde a partida, como uma *tarefa nacional*, envolvendo todos os interessados: a população que precisa dos cuidados de saúde; os médicos e outros prestadores destes cuidados, individualmente ou fazendo parte de serviços organizados; e a comunidade, ou seja o País, em que se reflectem os efeitos da eficiência ou não do SNS, no sentido da convergência de intervenções e resultados.

A este respeito, conhecidas as experiências de outros países, considera-se fundamental que se proceda ao inventário dos factores que constituem as grandes incertezas da hipótese de um SNS adequado para Portugal, de que se enumeram os cinco seguintes:

1 — Sabendo-se como a população precisa e está desejosa duma cobertura de saúde eficiente, para a qual são oferecidas soluções diferentes sem terem em conta o que já existe, como se vai proceder para que seja informada correctamente daquilo que lhe oferecem, e possa reflectir e resolver cooperando activamente na reorganização dos serviços que são seus? A actual estrutura dos serviços de saúde não permite as mudanças desejadas para se conseguir essa eficiência?

2 — Sabendo-se que os médicos são o elemento humano essencial no funcionamento de qualquer sistema de cuidados de saúde, porque sem eles não há capacidade técnica nem possibilidade de organizar equipas de saúde, e estando os médicos portugueses, na generalidade, mal preparados para avaliarem os méritos das hipóteses que se põem ao tentar estruturar os serviços de saúde desejáveis e, infelizmente, demasiado preocupados com interesses financeiros imediatos, não há que considerar as dificuldades que resultam da sua cooperação limitada? Sem a participação activa e verdadeiramente aberta dos médicos um SNS será sempre medíocre e altamente dispendioso, qualquer que seja o modelo de prestação de cuidados implantado.

3 — Sabendo-se como a nossa capacidade administrativa é pequena e qual o estado presente de desorganização em que se encontra, perante a quase indiferença geral da população, de que são exemplo completo os nossos próprios serviços de saúde, a começar pelos Serviços de Acção Médico-Social e a terminar nos Hospitais Centrais, não será utópico estar a pensar na organização de estruturas coordenadas que se arriscam a serem iguais ou pouco melhores do que as actuais?

Não seria mais realista e prático aproveitar o que há, que corresponde já a uma estrutura de facto evoluída e que apenas falta desenvolver e pôr a funcionar dentro de planos estabelecidos, fazendo com que a rede de cuidados primários e a rede hospitalar trabalhem com a eficiência que devem ter, dentro dos princípios da boa administração geral e da gestão correcta (saber, interesse, seriedade), impondo a sua coordenação desde a extrema periferia até aos grandes centros?

4 — Sabendo-se que a iniciativa privada trabalha melhor e com muito maior rentabilidade do que os serviços públicos, não será de considerar a hipótese de facilitar um confronto muito mais extenso, de tipo emolução, entre algumas estruturas de saúde, como os hospitais, postas em igualdade de condições à partida e com idênticos objectivos a atingir, sob vigilância e condicionamento da aplicação dos recursos finaiceiros e salvaguarda dos princípios, e tirar num período de tempo de alguns anos as conclusões que a experiência sugerir, aproveitando-a?

Durante o ano de 1977, por exemplo, foram tratados em Lisboa por hospitalização privada, no sector da cirurgia, 24 235 doentes da Previdência, que custaram aos respectivos serviços 89 911 319$00, ou seja uma média de 4000$00 por doente. Se os mesmos doentes tivessem sido tratados nos hospitais estatais, o seu custo teria sido de 261 495 000$00, com o preço médio de 13 800$00, isto é, cerca de 3,5 vezes mais.

Ora o atendimento em clínicas particulares, além de feito em condições mais agradáveis para o doente e em ambiente mais huma-

no, teve ainda como consenquências favoráveis:

— menores tempos de espera;
— menores tempos de internamento;
— menores tempos de baixa e mais fácil recuperação para o trabalho.

5 — Sabendo-se que o custo dos serviços de saúde sobe de forma assustadora de ano para ano e havendo certamente razões concretas para que isso esteja a acontecer, não será aconselhável antes de aceitar o facto como inevitável procurar no estudo dessas razões uma orientação segura para enfrentar o problema?

Calcula-se que, não se modificando a actual atitude de deixar correr as despesas dos nossos serviços de saúde à vontade, elas vão elevar-se no ano corrente (1978) a cerca de 29 milhões de contos e, em 1979, a mais de 36 milhões. Haverá justificação para tal?

O estudo em termos realistas dos factores indicados e a avaliação dos conhecimentos, experiência e meios (humanos, técnicos e financeiros) de que se dispõe para tentar a organização de um SNS moderno e eficiente, não burocratizado, de custo razoável e com suficiente probabilidade de êxito, é indispensável que preceda e sirva de base aos diplomas legislativos que cada governante gosta de elaborar.

5 — A organização do Centro de Estudos de Administração de Saúde Pública do INSA

Existindo na orgânica do INSA um Centro de Estudos de Administração de Saúde Pública (CEASP), como se disse em 2.1, cuja actividade foi interrompida em 1974, ele deve ser posto de novo a funcionar como núcleo de estudo dos problemas enunciados.

À semelhança do que aconteceu com outro centro de estudos do INSA — o Centro de Estudos de Nutrição, já com suficiente experiência, visto que foi posto a funcionar na segunda metade de 1976 — o orientação das suas actividades basear-se-á, para a colheita e análise de dados:

a) nas relações internas com os grandes departamentos de trabalho do INSA (doenças transmissíveis, alimentação-nutrição, administração de saúde, epidemiologia e estatística, documentação);

b) nas relações externas com os organismos representativos da saúde e afins e com organismos internacionais coadjuvantes;

e para a diferenciação interna das tarefas, em sectores de estudo especificados:

a) formação de pessoal, com prioridade para os médicos e técnicos de saúde pública;

b) estruturação dos serviços de saúde, tendo em conta os modelos de sistemas de saúde, incluindo o SNS, e as suas características funcionais e adaptabilidade às populações em diversos graus de desenvolvimento;

c) avaliação das condições existentes e das suas tendências evolutivas, com reflexo nos níveis de saúde da população e nas relações da economia com a saúde.

O CEASP disporia, para isso, de um núcleo pequeno de investigadores e documentalistas a trabalharem em tempo completo e de regulamento técnico-administrativo adequado, dentro da estrutura geral do INSA, recorrendo para tarefas especiais ao apoio de outras entidades. O seu objectivo imediato seria o de se actualizar, num sentido de análise construtiva, face aos problemas de fundo dos SS portugueses.

Esta nota foi escrita, em 1978, para o livro de homenagem ao Prof. Arnaldo Sampaio por motivo da sua jubilação e ainda não publicado, não se tendo modificado desde então a situação dos SS portugueses. Foi, entretanto, publicada uma lei que cria o Serviço Nacional de Saúde em Portugal, a que se faz referência na Secção 3. deste volume.

TRABALHOS A QUE SE REFERE ESTA NOTA:

Arquivos do Instituto Nacional de Saúde, Volume III, 1974.

F. A. Gonçalves Ferreira. O dilema da Saúde e da doença na sociedade actual. O Médico, Lisboa, 1973.

— Política de Saúde e Serviço Nacional de Saúde em Portugal, Lisboa, 1975.

— Serviço Nacional de Saúde. O Médico, LXXXVIII, 131-145, 1978.

A ORIENTAÇÃO DOS PROBLEMAS DA ALIMENTAÇÃO-NUTRIÇÃO EM PORTUGAL

Embora o INSA sempre se tenha preocupado com os problemas alimentares da nossa população, destacando-se dos trabalhos efectuados a «Tabela da Composição dos Alimentos Portugueses», já várias vezes reeditada, só com a entrada em funcionamento do Centro de Estudos de Nutrição (CEN) se iniciou o estudo regular das nossas necessidades alimentares e das medidas que hão-de assegurar a sua normal satisfação.

O CEN publica uma revista (Revista do CEN), para divulgação dos seus trabalhos.

As atribuições e responsabilidades no campo dos estudos de alimentação e de nutrição conferidas ao CEN constam do seu «Regulamento», que é publicado integralmente na secção 4 deste volume.

Como órgão de estudo do INSA, o CEN trabalhará em ligação cada vez mais estreita com os restantes serviços de estudo e investigação deste, em particular com o Laboratório de Higiene dos Alimentos e Nutrição, bem como com a Escola Nacional de Saúde Pública, pela cadeira de Nutrição, em obediência ao estabelecido no seu «Regulamento».

A nota seguinte dá uma indicação da orientação seguida nas actividades desenvolvidas e resume o essencial dos resultados já obtidos.

Criado pelo Decreto n.º 35/72, de 31 de Janeiro (Regulamento Geral do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, — por sua vez criado pelo Decreto-Lei n.º 413/71, de 27 de Setembro), e definido nas suas atribuições e responsabilidades pela Portaria n.º 432/76, de 20 de Julho, o CEN procurou actuar desde que lhe foram facultados os escassos meios técnicos e financeiros de que tem disposto, a partir de fins de 1976, da forma mais útil para o País, em três sentidos:

— Estudar as necessidades alimentares nacionais para toda a população, por idade, sexo e condições de trabalho, expressas nos principais nutrientes, em número de 12, e traduzir estas necessidades em quantidade dos alimentos indispensáveis para as satisfazr e mais indicados para o consumo normal da população;

— elaborar os pareceres ou documentos básicos, necessários às autoridades governamentais para poderem orientar a produção de alimentos indispensáveis, o seu comércio e consumo, dentro de um esquema que conduza à definição da política alimentar nacional que o País precisa;

— preparar estudos específicos em relação com problemas que se consideram essenciais e prioritários na situação em que nos encontramos:

a) *balanço da situação alimentar dentro e fora do País e análise das tendências evolutivas e das perspectivas de solução para as condições desfavoráveis existentes;*

b) *preparação de um inquérito alimentar nacional, cobrindo toda a população, e alargamento dos trabalhos de laboratório sobre a*

composição dos alimentos portugueses, para que se possa dispor de elementos informativos essenciais;

c) *organização de um Serviço de Documentação e Informação, compreendendo um «banco de dados» de alimentação-nutrição, apoiado em meios de informática.*

Ao completarem-se três anos sobre a entrada em funcionamento do CEN e dois anos sobre o começo da publicação da sua revista — «Revista do Centro de Estudos de Nutrição» — pareceu de interesse que os responsáveis fizessem a apreciação do trabalho já realizado em termos de avaliação e síntese, pondo em evidência os objectivos e as possíveis tarefas a realizar nos caminhos assim abertos entre nós.

I — Problemas básicos nacionais analisados

1 — Política alimentar e de nutrição em Portugal *

Embora a Constituição não contenha nenhuma referência à alimentação ou à política alimentar do País, nem tenha havido por parte dos sucessivos governos portugueses qualquer preocupação com este assunto, ao contrário do que está a acontecer no mundo civilizado, o CEN considera que é urgente estabelecer, entre nós, medidas coordenadas de produção dos alimentos necessários e dos seus consumos e de informação e educação alimentar a nível nacional, enquadrando-as no conjunto de intervenções que poderão e deverão constituir uma política de alimentação e nutrição da responsabilidade governamental, claramente delineada e estruturada.

O fim da política alimentar é pôr à disposição da população os alimentos de diversos tipos de que esta necessita e assegurar o seu consumo regular pelos indivíduos, procurando instituir ou manter hábitos correctos de alimentação racional ao longo da vida, de forma que a saúde, a capacidade de trabalho e o bem-estar sejam promovidos no mais alto nível, de acordo com os conhecimentos científicos à medida que vão sendo adquiridos e tornados utilizáveis.

Neste sentido, o CEN estudou:

a) *As necessidades alimentares nacionais,* fazendo o cálculo das necessidades de calorias e nutrientes, publicado sob a forma de «Tabela de Necessidades em Calorias e Nutrientes por Grupos de Idades e Sexos», com indicação do «Padrão Médio» recomendável para toda a população.

Em tabelas complementares foram calculadas as quantidades médias de alimentos de cada um dos 5 grupos fundamentais, capazes de subministrarem os nutrientes que correspondem às necessidades fisiológicas indicadas. Exprimiram-se em gramas, por dia e habitante, e em toneladas, por ano e população do Continente.

Fez-se referência ao facto de que na comparação com os padrões internacionais de necessidades alimentares, em que as revisões recentes têm conduzido a baixas nos valores de calorias e proteínas, será preciso ter em conta, porém, que as nossas necessidades de calorias são ainda ligeiramente mais altas do qu as dos países muito industrializados, pelo maior esforço muscular de grande parte da população activa, e que as necessidades médias quantitativas são também ligeiramente mais elevadas para as proteínas, porque estas são em maior proporção de origem vegetal e, portanto, de menor valor biológico.

b) *As disponibilidades alimentares nacionais,* na base das indicações dadas pelas balanças alimentares do INE ao longo dos últimos anos, são muito elucidativas da melhoria das disponibilidades dos principais alimentos, mas continuamos a não dispor de dados concretos de inquéritos alimentares directos actualizados, a não ser para grupos muito limitados da população.

Da comparação das necessidades (calorias, proteínas, gorduras, hidratos de carbono) e das disponibilidades, em termos estatísticos, conclui-se que a população tem tido quantidade global de alimentos suficiente, sendo mesmo alguns excedentários (gorduras, açúcar), enquanto outros estão ainda longe de satisfazerem as necessidades (leite, ovos, frutos). Embora não se disponha de dados regulares indicativos da quantidade de alimentos importados, que aparecem incluídos nas disponibilidades, e especialmente das percentagens de nutrientes consumidos que lhes correspondem, julga-se que as importações atinjam cerca de 45 %, para as calorias, 25 %, para as proteínas, 38 %, para as gorduras, e 51 %, para os hidratos de carbono.

* Rev. CEN, Vol. II, n.º 1, Março, 1978, p. 3-29.

c) desta forma *as necessidades e disponibilidades em termos de política alimentar* estariam razoavelmente equilibradas sob o ponto de vista quantitativo, mas o consumo exige a importação de quantidades enormes de alimentos, ao mesmo tempo que é preciso fazer correcções importantes. Assim, no que se refere aos diversos grupos de alimentos há necessidade:

GRUPO I (leite e derivados proteicos do leite)

— *de aumentar a produção de leite de forma muito acentuada, dado o baixo consumo de todos os tipos de leite e queijo;*

GRUPO II (carne, peixe e ovos)

— *de aumentar a produção de peixe e ovos, mantendo o actual consumo de carne;*

GRUPO III (gorduras)

— *de manter o consumo de azeite (e de manteiga) e reduzir o de todas as outras gorduras, em especial o da margarina;*

GRUPO IV (cereais e derivados, leguminosas secas e açúcar)

— *de estabilizar ou aumentar ligeiramente o consumo de cereais e leguminosas secas e reduzir acentuadamente o consumo de açúcar;*

GRUPO V (vegetais verdes, batata e fruta)

— *de aumentar o consumo de todos os alimentos do grupo, com incidência particular em algumas variedades de fruta.*

d) *a adaptação da agricultura portuguesa* implica intervenções, simultaneamente, na orientação da produção ao nível interno dos produtos alimentares necessários e na própria evolução dos consumos, adequando-os progressivamente a padrões equilibrados, quer na perspectiva da nutrição, quer na da economia dos recursos.

A adaptação da agricultura portuguesa aparece em todo este contexto do planeamento alimentar e nutricional, como medida central indispensável, envolvendo factores e decisões técnicas e técnico-científicas, demográficas e económico-sociais.

O problema do solo cultivável, da profissionalização da mão-de-obra, do apoio laboratorial, dos investimentos e da gestão (saber, iniciativa, organização) compreende muitos aspectos novos, ainda pouco generalizados entre nós e que são decisivos, como mostra a experiência dos países mais evoluídos, que ultrapassaram já a fase em que nos encontramos. Grosseiramente, pode-se dizer que dispomos, no Continente, de cerca de 2,5 milhões de hectares de solo com alguma aptidão para a produção de produtos alimentares, o que, com produtividade média, permitiria alimentar racionalmente cerca de 6 milhões de habitantes (2-2,5 habitantes por hectare). A população presente (1977) é aproximadamente de 9 milhões de habitantes.

A população que trabalha na agricultura foi calculada na mesma data em 32 % da população activa nacional (1,3 milhões de pessoas). Sabe-se que só é possível conseguir rendimento elevado na produção agrícola quando as explorações agrárias atingem dimensões médias e empregam métodos de cultura que exigem a ocupação de relativamente poucas pessoas — sempre menos de 20 % da população activa, com um óptimo de 10 % ou inferior. Por outro lado, esta população trabalha com reduzido apoio técnico e sem preparação profissional, ou, como acontece em grande parte do País, praticamente isolada e utilizando meios primitivos funcionalmente mal adaptados.

Deve-se, pois, avançar na adaptação da nossa agricultura, sabendo que o aumento regular e estável da produção agrícola implica o desenvolvimento simultâneo doutros sectores da economia, da educação, da saúde e do condicionamento do crescimento da população.

A agricultura portuguesa precisa, pois, de se preparar para produzir, em relação ao presente:

— *Cerca de duas vezes mais leite (1,6 milhões de toneladas, correspondentes a 14 g de proteínas animais/dia/habitante);*

— *a totalidade da carne (400 000 toneladas) de bovino (50 %), ovino e suíno (40 %) e de aves (10 %) e os ovos (1,6 biliões de unidades, o dobro da produção actual) calculados indispensáveis para o consumo desejável da população e equivalente a 18 g de proteínas animais/dia/habitante;*

— *75 000 toneladas de azeite e cerca de metade de outros óleos alimentares, com redução drástica da importação de óleos tropicais;*

— a totalidade dos cereais panificáveis (trigo, 70 %; centeio, 20 %, milho, 10 %), no montante de 1 milhão de toneladas, do arroz (120 000 toneladas), das leguminosas secas (70 000 toneladas) e do açúcar (100 000 toneladas), criando a auto-suficiência progressivamente, mesmo em açúcar:

— A totalidade dos produtos hortícolas (1,3 milhões de toneladas), batata (1 milhão de toneladas) e fruta (1 milhão de toneladas), necessários imediatamente.

O planeamento previsto do aumento da produção agrícola exige uma mudança radical nas tendências existentes ou introduzidas nos últimos anos, da livre partilhação da terra, até ao mais pequeno minifúndio, numas áreas do País, e de colectivização forçada da propriedade agrícola com o estabelecimento de latifúndios, noutras.

Parece indispensável estabelecer, desde já, como orientação, qual deverá ser o tamanho máximo e mínimo desejável das propriedades agrícolas, a mão-de-obra aconselhável e as condições de financiamento para se conseguir o rápido desenvolvimento da eficiência das diversas culturas consideradas prioritárias para o consumo nacional.

A produtividade deve ser estimulada especialmente na produção de produtos vegetais para venda, (cereais, batata, produtos hortícolas e fruta) e na pecuária. Um sensível aumento na produtividade de cereais constitui, geralmente, a base para o contínuo e rápido desenvolvimento da produção agrícola em conjunto.

O governo terá que ser levado a reforçar as medidas de política regional, com o objectivo de promover uma melhor distribuição regional do emprego, criando oportunidades de trabalho fora das propriedades agrícolas, enquanto, ao mesmo tempo, a produção agrícola será mantida ou aumentada, de forma a que os agricultores atinjam níveis de rendimento e de qualidade de vida semelhantes aos dos outros sectores da economia (indústria, transportes, serviços).

e) *a adaptação das pescas.* O largo consumo que a população portuguesa faz de peixe, e que é um factor favorável a considerar no equilíbrio alimentar pela contribuição trazida em proteínas de alto valor biológico e de custo mais acessível do que as proteínas de carne de bovino, coloca o problema da pesca e da distribuição e comercialização do pescado em plano de primeira prioridade de preocupações, no planeamento da política alimentar nacional.

Nos últimos três anos a produção decresceu e tornou-se extremamente irregular, com oscilação de preços de venda e valores altos destes, nunca atingidos anteriormente. Foram sobretudo o bacalhau seco e o peixe congelado que sofreram maior quebra de produção, o que levou a duplicar as importações de peixe para o consumo da população.

Os cálculos dos nossos técnicos de produção de peixe, tendo em conta a adaptação de todo o sector da pesca a partir das iniciativas presentes (construção e reconversão de barcos), são resumidos no quadro seguinte para os anos de 1976 a 1980.

PRODUÇÃO DE PEIXE (EM TONELADAS)

ESPÉCIE	1976	1977	1978	1979	1980
Bacalhau seco	28 214	11 130	10 000	10 000	10 000
Sardinha	79 234	90 375	80 000	90 000	110 000
Pescada (congelada) ...	13 256	15 000	25 000	30 000	15 000
Outros peixes...	143 886	149 364	150 000	160 000	210 000
(Carapau-Chicharro) ...	40 305	53 000	57 000	62 000	90 000
TOTAL	264 590	265 869	265 000	290 000	345 000

NOTA — Os dados já apurados para 1978 mostram que a previsão (265 000 ton.) não foi atingida. O valor real não ultrapassou 217 000 toneladas.

Previa-se, assim, que só em 1980 fosse atingido um nível de produção nitidamente superior ao actual, e que corresponderia a cerca de 105 gramas, por dia e pessoa, admitindo que a actual população de 9 milhões de habitantes no Continente se manteria sem sensível acréscimo. Não é feita referência aos mariscos, dada a sua pequena importância quantitativa.

As medidas da política da pesca, tal como devem ser desenvolvidas pelos organismos responsáveis, sob a orientação directa do governo e no contexto das decisões do planeamento alimentar, podem influenciar decisivamente o nível dos preços de venda.

Integrar a distribuição e o sistema de vendas num dispositivo organizado e racional, com controlo satisfatório de lucro e de preços, resultará num melhor aproveitamento do peixe, para alimentação e outros fins, e no aumento de consumo, e tornará mais fácil para as autoridades o aperfeiçoamento das várias medidas de implementação da qualidade dos produtos, na via da alimentação racional e da melhoria da saúde.

Estas considerações referem-se fundamentalmente aos objectivos tradicionais da pesca marítima, mas as novas perspectivas de aquacultura no mar (criação intensiva de peixe em áreas protegidas, com alimentação inteira ou principalmente proveniente da produção natural da água do mar, ou baseada no fornecimento de alimentos necessários do exterior) e de criação de determinadas espécies de peixe em águas doces ou salobras são de grande importância, de acordo com as experiências de vários países.

O CEN elaborou um parecer sobre a cultura do peixe *tilápia* nas águas interiores do Alentejo e Algarve, prevista para uma produção anual de 45 000 toneladas, equivalentes a 6000 toneladas de proteínas.

A política das pescas, independentemente de medidas imediatas que envolvem a adaptação de meios e conhecimentos disponíveis na prática e em curto período de tempo, com o objectivo de satisfazer as necessidades alimentares calculadas para a população, compreende outras intervenções para um melhor aproveitamento do peixe e de alimentos em que um dos ingredientes é o peixe, e, ainda, o estudo e a investigação das tecnologias a utilizar.

f) A educação e informação em política alimentar. As perspectivas duma política alimentar coordenada para promover o desenvolvimento da alimentação racional e, ao mesmo tempo, aumentar a auto-suficiência pelo acréscimo da produção e a mudança favorável dos consumos precisam de ser incluídas nas actividades de educação e informação, a nível nacional.

Estas actividades devem obedecer a programas coordenados ao nível:

1) das escolas, cujo papel é fundamental por duas razões: permite que os alunos tomem contacto muito cedo, desde crianças em que a receptividade é óptima, com os conhecimentos práticos e teóricos relativos à sua alimentação, aos alimentos que a constituem e à forma como são preparados; e, ao facilitar as actividades directas nos jardins escolares e meio ambiente, contribui para o conhecimento complementar da forma como são cultivados alguns alimentos vegetais, frutos, etc., as suas relações com as estações do ano e as condições que oferecem para serem consumidos. A correcta preparação dos professores é aqui essencial.

Os alunos serão veículo para as suas famílias e respectivas comunidades destes ensinamentos e ideias construtivas. A melhoria da nutrição é um objectivo a prosseguir a longo termo, tanto mais facilitado quanto maior for o interesse da população em geral, na sua consecução, a começar pelas crianças e jovens.

O desenvolvimento de modelos para o estabelecimento dos contactos escolares com a agricultura e com as indústrias alimentares não tem estado entre as preocupações dos nossos programas de ensino e precisa de ser incrementado.

A nutrição deve passar a fazer parte dos programas de ensino de todas as escolas de grau básico e médio, para o que os seus professores precisam de receber a preparação adequada. Cursos sobre nutrição precisam de ser organizados, com continuidade, nas universidades e institutos superiores, e as escolas médicas devem melhorar o ensino da nutrição;

2) dos serviços de saúde, dos serviços agrícolas de extensão rural, dos serviços de medicina do trabalho e dos serviços de apoio social, que estão em contacto com toda a população e devem influenciar especialmente a educação dos adultos, na linha do consumo dos alimentos adequados e da produção de alimentos essenciais, ao seu lacance, por au-

mento dos conhecimentos sobre alimentação-nutrição e encorajamento para que os apliquem;

3) dos órgãos de comunicação social (nacionais, regionais, locais), audiovisuais e escritos, organizando um sistema de informação eficiente, planeada, com unidade de orientação e equilíbrio de actividades.

g) a criação de um Conselho Nacional de Nutrição — órgão interministerial sediado na Saúde — com capacidade para planear à política alimentar e de nutrição nacional e coordenar as actividades de informação.

2 — Inquéritos alimentares e política de nutrição *

Em ligação estreita com o estudo dos factores determinantes da «Política Alimentar e de Nutrição em Portugal», o CEN começou por estabelecer as bases para a análise concreta das características da alimentação portuguesa nos dias presentes, preparatória de medidas de correcção e de acompanhamento da evolução no futuro.

Realizou, para isso, de imediato, um inquérito alimentar em 100 famílias da área de Lisboa e elaborou o programa de um inquérito alimentar e de nutrição de carácter nacional, que virá a fazer pela primeira vez no País o levantamento da situação, avaliando o estado nutricional da população e os valores do consumo de alimentos e sua repartição entre as populações rurais e urbanas de diferentes níveis económicos e culturais.

2.1 — ESTUDO DO PADRÃO DE CONSUMO DE ALIMENTOS EM 100 FAMÍLIAS DA POPULAÇÃO URBANA (Lisboa)

Todos os dados foram colhidos durante o ano de 1977, tendo sido os primeiros resultados, correspondentes a 50 famílias, e a análise crítica em relação ao padrão médio de necessidades, disponibilidades, custos e consumo de alimentos em áreas rurais publicados no Vol. I n.º 1, da Revista do CEN (pág. 5-16) e os resultados e análise de conjunto das 100 famílias, no Vol. II n.º 3, da mesma Revista (pág. 3-24).

O inquérito foi do tipo familiar directo, com pesagem e medição dos alimentos utilizados em período médio de 5 dias seguidos, excluído o fim de semana, e análise da situação de saúde e económico-social dos inquiridos.

2.1.1 — Dos valores numéricos mais importantes colhidos (referentes ao consumo de limentos individualizados e nutrientes, por pessoa) podem ser tiradas as seguintes conclusões:

2.1.2 — O inquérito mostrou que a população urbana não está a consumir de forma satisfatória os alimentos de que dispõe, afastando-se muitas famílias dos três princípios básicos da alimentção racional: *suficiência* (quantidade ajustada às necessidades), *equilí-*

	MÉDIO	MÁXIMO	MÍNIMO
Peso bruto dos alimentos (g)	1902	3555	1113
Peso da parte edível (g)	1657	3162	967
Calorias	2955	5062	1531
Hidratos de carbono (g)	331	720	121
Gorduras (g)...	138	283	56
Proteínas (g)...	98	170	48
Celulose (g)...	7	13	2
Vitamina A (UI)...	5569	21839	1195
Caroteno (μg)	2773	7559	241
Vitamina B_1 (mg)	2,2	5,6	1,3
Vitamina B_2 (mg)	1,8	4,5	0,8
Vitamina PP (mg)	19	34	8
Vitamina C (mg)...	126	337	9
Cálcio (mg)	1017	2235	456
Ferro (mg)	15	31	8

* Rev. CEN, Vol. II, n.º 2, Julho, 1978, p. 3-31.

brio (proporção adequada dos diversos nutrientes) *e custo razoável* (combinação das variedades ou tipos de alimentos de preço correspondentes ao seu valor nutricional), em conjunto ou para cada um dos princípios isoladamente.

2.1.3 — A média de calorias é demasiado alta, para uma população com tipo de trabalho leve, mas uma percentagem pequena de famílias (12 %) mostrou consumir um número demasiado baixo de calorias — inferior a 2200/ /pessoa/dia, que se considera o limite aceitável para assegurar o rendimento médio deste tipo de trabalho leve.

O valor médio das calorias está dentro das disponibilidades alimentares mantidas pelo conjunto da produção interna e da importação do exterior.

2.1.4 — O consumo de hidratos de carbono é baixo (inferior em 25 % ao padrão de necessidades, no total) e esta insuficiência verificou-se em 80 % das famílias, para o que contribui em primeiro lugar o reduzido consumo de pão, que devia ser da ordem de 300 g/ /pessoa/dia, em vez dos 170 g observados. Daqui resulta a ingestão de pequena quantidade de hidratos de carbono do tipo do amido de trigo, centeio ou milho (grandes moléculas).

O consumo de açúcar (49 g/pessoa/dia) excede em muito o valor recomendado pela OMS (20 g) e o que nesta fase transitória de ajustamento regressivo o CEN tem sugerido entre nós (30 g), ou seja um pouco menos de 1 Kg/pessoa/mês.

2.1.5 — O consumo de gorduras é excessivo (superior em 80 % ao padrão de necessidades) e apenas em 3 % das famílias se mostrou inferior ao valor recomendado.

Este consumo excessivo de gorduras, superior às disponibilidades, constitui a característica mais grave do tipo de alimentação observado e corresponde à tendência verificada nas populações urbanas e de bom nível de vida para um consumo alto de gorduras, com influência acentuada da margarina e outras gorduras sólidas, que em todos os países se procura hoje contrariar, por razões fisiológicas e de custo elevado desnecessário.

2.1.6 — O consumo médio de proteínas é já bastante superior ao valor das disponibilidades e mais elevado do que o recomendado pelo padrão de necessidades, observando-se um consumo inferior apenas em 6 % das famílias. As proteínas animais representam mais de 60 % do total, o que além de exagerado sob o ponto de vista fisiológico eleva desnecessariamente o custo da alimentação.

2.1.7 — O consumo de celulose é, em média, inferior ao recomendado, mas cerca de 1/3 das famílias mostraram ter alimentação demasiado pobre em celulose, com valores excessivamente baixos e causando provavelmente perturbações funcionais digestivas.

2.1.8 — No que se refere a vitaminas, o consumo médio é muito satisfatório, mas entre 10 e 20 % das famílias têm falta parcial de vitamina B_2 ou de vitaminas B_1 e PP. A vitamina C só seria diminuta em 2 % das famílias.

2.1.9 — O cálcio é, em média, inferior ao padrão de necessidades e cerca de 1/3 das famílias apresentaram valores baixos ou muito baixos, o que deve constituir motivo de preocupação.

2.1.10 — O ferro é consumido em quantidade média satisfatória, igual à do padrão de necessidades, mas cerca de 1/4 das famílias têm alimentação pobre que seria preciso corrigir, sobretudo para crianças e mulheres.

Estas conclusões foram seguidas por algumas recomendações, indicando que a actual alimentação urbana, do tipo verificado, precisa de ser corrigida em dois sentidos:

a) participação mais equilibrada de cada um dos cinco grupos, na base das seguintes proporções:

7,5 %, para o grupo I;
7,5 % para o grupo II;
20 %, para o grupo III;
45 %, para o grupo IV;
20 %, para o grupo V;

b) utilização mais racional de alguns alimentos, sobretudo dos grupos III, IV e V.

E que, em face dos resultados do inquérito, recomenda-se:

a) diminuir o consumo de alimentos, em geral, procedendo-se ao seu melhor aproveitamento na preparação e no consumo e a uma melhor escolha dentro de cada um dos cinco grupos em que são classificados, tendo em conta as necessidades médias e o seu valor alimentar em função do custo. Ao comprar os alimentos deve pensar-se sempre na relação valor alimentar/custo e fazer a escolha útil;

b) diminuir acentuadamente o consumo de gorduras sólidas e de açúcar e aumentar o consumo de pão e batata. Para as gorduras e

açúcar, consumir, como regra, apenas metade do que é hábito actualmente, e para o pão e batata consumir o dobro.

2.2 — *INQUÉRITO ALIMENTAR NACIONAL*

Os elementos para a realização de um inquérito de tipo nacional foram reunidos sob a forma de «Plano para o estudo da situação alimentar-nutricional da população portuguesa», no Vol. II, n.º 2, da Revista do CEN (pág. 3-31), e distribuídos por três objectivos:

1 — Alimentar. Estudo da quantidade real de alimentos consumidos, avaliação dos nutrientes essenciais que são ingeridos pelas pessoas e análise comparativa dos seus níveis e dos valores correspondentes dos padrões de normalidade (valores recomendados) e registo dos tipos de refeições, horários e hábitos alimentares tradicionais estáveis ou em mudança.

2 — Clínico e antropométrico. Estudo do estado nutricional dos indivíduos, para avaliação do nível de saúde nas suas relações com a nutrição, dos estados específicos de doença e das características de desenvolvimento psico-somático e de vigor físico dos grupos mais vulneráveis da população.

3 — Laboratorial. Estudo bioquímico (sangue e urina) de um conjunto de nutrientes e constituintes metabólicos de interesse para o conhecimento do estado de saúde nutricional dos indivíduos.

Os dados recolhidos, depois de analisados e interpretados no seu significado sócio-económico e cultural, passariam a constituir a base de referência para a definição e aperfeiçoamento da política alimentar nacional, que é urgente estabelecer, e da avaliação das mudanças que ao longo do tempo se deverão promover e prever nos hábitos alimentares e nos consumos familiares ou regionais de certos alimentos, em função dos numerosos factores de influência criados pelo progresso e nível de vida na sociedade moderna, e da orientação que vier a ser dada aos programas nacionais educativos e ao ensino da nutrição nas escolas de todos os níveis.

Para a sua execução que terá início ainda em 1979 e constará de duas fases, correspondentes às épocas do Outono e Primavera, o plano do inquérito compreende:

2.2.1 — *As bases técnicas,* cujas normas orientadoras implicam a selecção prévia da «amostra estatisticamente significativa» da população a inquirir, para o que:

— em primeiro lugar, é indispensável definir os sectores ou grupos da população que há interesse de considerar para estudo, de maneira que à partida se saiba exactamente que população se vai inquirir. Cada sector ou grupo ficará a constituir um *universo,* correspondente a um conjunto de indivíduos com características próprias (grupos de idades, situações fisiológicas, condições sócio-económicas, área geográfica, etc.);

— uma vez perfeitamente identificado o ou os universos, é elaborado o respectivo registo das unidades para amostragem, que consistirá de uma lista de todos os membros desse universo. É a partir desta lista que se selecciona a amostra a inquirir, segundo regras específicas;

— de acordo com o tamanho do universo e as suas características de homogeneidade ou dispersão, os técnicos de estatística determinam qual a proporção de indivíduos a seleccionar (habitualmente da ordem de 1 ou menos, a 4 ‰ para populações numerosas, com valores numéricos decrescentes de mais de 20 milhões até 1 milhão). A totalidade dos indivíduos seleccionados constituirá a amostra;

— a selecção da amostra consiste na tiragem à sorte, a partir da lista referida das unidades necessárias, utilizando uma tabela de números ao acaso; ou pelo método sistemático, que consiste em ordenar os elementos da lista, numerando-os por ordem, e seleccionar, depois, as unidades que se encontram a intervalo igual umas das outras, correspondendo este intervalo à proporção da amostra relativamente ao universo respectivo (1 %, 1 ‰, por exemplo); ou ainda, pelo método de estratificação, quando algumas características não forem uniformemente distribuídas na população, separando esta em estratos e fazendo para cada estrato individualizado do universo a tiragem à sorte por um dos métodos atrás referidos.

Definida a amostra da população a inquirir, precisam de ser estabelecidos (seleccionados) os métodos a utilizar para o *inquérito alimentar,* para o *exame clínico* e para as *provas laboratoriais,* quando todos estes sectores de trabalho forem incluídos no plano do inquérito.

Para os três inquéritos sectoriais foram indicados os elementos a colher e os meios de avaliar o seu significado em termos quantitativos e qualitativos.

2.2.2 — *O esquema prático* de realização, e das actualizações posteriores a efectuar com regularidade como tarefa normal de saúde pública, abrange as actividades de:

a) COORDENAÇÃO

Um grupo de orientação constituído por um núcleo central de 3-4 técnicos, presidido por 1 coordenador nacional, e por 18 directores regionais (distritos), superintenderia em todas as tarefas de execução do inquérito, logo que definidos ao nível governamental a finalidade e os objectivos precisos a atingir e, ao nível técnico de programas, a população a inquirir em resultado da amostragem estabelecida, os métodos específicos de colheita de dados e respectivas operações de campo, os padrões a usar para a interpretação dos dados obtidos e a sistematização do relatório final.

A responsabilidade directa das operações seria da Secretaria de Estado da Saúde, pelo grupo de orientação instalado em instituição que viesse a ser indicada, em estreita colaboração com o Ministério da Agricultura e Pescas e outros departamentos governativos interessados.

As equipas de intervenção deverão ser formadas por médicos, nutricionistas e dietistas, técnicos de laboratório e elementos administrativos, em número a estabelecer pelo grupo orientador.

b) SELECÇÃO DA AMOSTRA DA POPULAÇÃO

A hipótese aqui considerada e a desenvolver com mais pormenor quanto aos valores numéricos parte das seguintes premissas:

1 — Para a actual população portuguesa no Continente, de cerca de 9 milhões de habitantes, bastará inquirir entre 1,5 e 2,0 por 1000, ou sejam cerca de 15 000 pessoas incluindo um número bastante arbitrário de cerca de 500 grávidas.

2 — O inquérito deve assentar em indivíduos (parte básica do inquérito alimentar, todo o inquérito clínico e todas as provas laboratoriais) e só para informação complementar utilizará a família como unidade de observação.

3 — Tendo em conta que a separação da população em urbana e rural pode basear-se no critério de mais de 10 000 habitantes e inferior, concluir-se-ia que, entre nós, ligeiramente mais de 1/4 da população de todas as idades é urbana (26,5 %, em 1970) e, a restante, rural (73,5 %, em 1970), sendo os valores a considerar na selecção da amostra de cerca de 4000 pessoas, para a população urbana, e de 11 000 pessoas, para a população rural, nos quais se compreenderiam, respectivamente, 150 e 350 grávidas.

4 — Tanto para a população urbana como rural, a distribuição dos indivíduos a inquirir seria feita, proporcionalmente ao valor numérico dos respectivos grupos de idade: 0-4, 5-9, 10-19, 20-39, 40-64 e 65+anos, com separação dos sexos a partir dos 10 anos.

5 — A população urbana poderá ser considerada apenas nas sedes dos distritos, em número de 18, com separação de pelo menos dois níveis económicos referidos ao agregado familiar, em termos de salário mínimo.

6 — A população rural será considerada em todos os concelhos, menos os das sedes de distritos, seleccionando-se as localidades em cada concelho, ao acaso, com respeito pela proporção estabelecida, de 1,5 por 1000, e um mínimo de 5-10 pessoas por localidade ou localidades contíguas, se o número insuficiente de habitantes assim o exigir. Não haveria diferenciação de nível económico.

7 — Uma alternativa de selecção para a população rural poderá ser a de considerar dois estratos: as sedes de concelho com menos de 10 000 habitantes e, para a restante população por cada 100 000 habitantes, grupos de cerca de 10 freguesias, totalizando nestas 75 pessoas a inquirir.

c) MÉTODOS ESPECÍFICOS DE COLHEITA DE DADOS

Para o consumo de alimentos, sinais clínicos de malnutrição e determinações laboratoriais foram estabelecidos métodos adequados.

1 — *Inquérito alimentar.* Registo por entrevista dos alimentos consumidos no período de 24 horas que precede a entrevista, directamente do indivíduo, ou, na impossibilidade deste colaborar (criança), por informação da pessoa responsável pela alimentação. Um questionário referente às características sócio-económicas e aos conhecimentos em nutrição da

pessoa entrevistada será preenchido. Para as famílias seleccionadas com vista à avaliação do consumo real quantitativo de alimentos pelos seus membros, será feita a pesagem e medição dos produtos consumidos durante um período de 3-5 dias, segundo a técnica clássica de registo dos alimentos existentes em casa no começo do inquérito, dos alimentos adquiridos durante os dias do inquérito e das reservas que restam no fim do inquérito.

2 — *Inquérito clínico.* A colheita dos elementos referentes aos sinais físicos e dados antropométricos, directamente dos indivíduos seleccionados pelos médicos e respectivas equipas para isso preparadas, corresponde aos items da lista distribuída.

3 — *Inquérito laboratorial.* Os laboratórios designados para efectuarem as análises utilizarão as técnicas previamente acertadas pelo grupo orientador. O número de determinações bioquímicas a realizar, como parâmetros do estudo, compreende as indicadas na lista distribuída.

d) OPERAÇÕES DE CAMPO

A efectuar por elementos de trabalho bem preparados compreendem:

1 — *Visitas domiciliárias prévias,* para contacto dos elementos das equipas com os indivíduos seleccionados. Serão dadas as necessárias explicações e indicações, as pessoas encorajadas a colaborarem e colhidos os elementos que dizem respeito aos dados demográficos, tipos de refeições e forma de aquisição e de preparação dos alimentos.

2 — *Colheita de elementos.* É feita no domicílio e em local previamente combinado — habitualmente a escola ou instituição da comunidade — procurando que em período de tempo relativamente curto sejam realizadas as intervenções necessárias. Estas dizem respeito:

— à avaliação dos alimentos consumidos e das bebidas utilizadas, pelo método do registo durante a entrevista. É também registada a frequência com que os principais alimentos são consumidos, relacionando-a com o período de uma semana;

— ao exame clínico, que inclui um pouco da história médica, o estado presente e o uso de medicamentos, bem como a informação específica sobre tabaco e bebidas alcoólicas. A observação dos sinais clínicos de má nutrição será particularmente minuciosa. Será igualmente colhido o perfil antropométrico do indivíduo, com as medições de peso, altura, espessura de pregas e outras, de acordo com a idade;

— ao exame dentário, que consiste na observação das condições dentárias, gengivas e estruturas de suporte;

— ao exame laboratorial, com a colheita de amostras de sangue e urina, que serão enviadas ao laboratório, depois de devidamente preparadas e acondicionadas. No próprio local devem ser feitas as determinações de hemoglobina e hematócrito, no sangue, e a pesquisa da glicose e albumina na urina, utilizando os métodos expeditos seleccionados. Os produtos devem entrar no laboratório dentro de prazo curto, cuja duração depende do processo de conservação empregado. Assim, quando se faz apenas adição de estabilizantes, o tempo de 24 horas será o limite máximo. Quando os produtos são congelados, o tempo de 72 horas é o limite habitual. Três laboratórios (Norte, Centro e Sul, correspondentes, respectivamente, ao Porto, Coimbra e Lisboa) serão encarregados das determinações.

3 — *Envio dos dados.* O envio dos dados é feito por cada núcleo distrital para o centro de recolha, em Lisboa, onde será feita a análise completa e elaborado o relatório final.

e) CÁLCULO E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

Os dados recolhidos no núcleo central de análise (CEN) são processados por meios técnicos convencionais ou de informática, se disponíveis:

1 — para o cálculo da composição dos alimentos consumidos, incluindo calorias, pela «Tabela da Composição dos Alimentos Portugueses» e comparação dos valores obtidos com as tabelas de necessidades;

2 — para os sinais clínicos, por comparação com tabelas e dados descritivos próprios da bibliografia. O mesmo quanto aos valores antropométricos, quando não houver elementos relativos à nossa população normal;

3 — para as determinações laboratoriais, por comparação com as tabelas de valores normais e resultados específicos dos inquéritos de outros países efectuados recentemente.

Mas um inquérito alimentar nutricional, do tipo do que agora é proposto, para além da recolha pormenorizada e correcta dos elemen-

tos descritivos suficientes para que se faça a avaliação das condições alimentares e do estado de nutrição da população portuguesa e dos seus grupos diferenciados com características próprias de idade, ocupação, ruralidade ou urbanismo e nível de vida, deve ter em conta também *a elaboração*, a partir destes elementos, de dados informativos precisos que sirvam de base para o esclarecimento doutros objectivos complementares, mas essenciais, como sejam:

1 — os factores de ordem económica, na avaliação do custo da alimentação e das relações com o nível de vida dos grupos de famílias ou indivíduos, e na forma de ajustar os consumos desejáveis às disponibilidades económico-financeiras existentes;

2 — os factores de ordem social, para avaliar a qualidade da alimentação habitual (boa, média, medíocre) nos grupos e famílias, e a influência do modo de vida e das tradições;

3 — os factores de ordem educativa, para avaliar a capacidade existente de escolha dos alimentos adequados, de receptividade informativa e de iniciativa própria, e promover o seu aperfeiçoamento a todos os níveis de responsabilidade — desde os governantes às autoridades administrativas locais, e desde os grupos sociais às famílias e indivíduos.

3 — Bebidas alcoólicas e álcool em nutrição *

No âmbito duma política nacional de alimentação e nutrição criteriosamente estabelecida, há que estudar o papel que o álcool desempenha em diferentes regiões do País e em muito vastos da população como substância energética, cujo metabolismo tem características próprias, e como elemento perturbador quer da boa nutrição, quer do funcionamento de diversos órgãos e aparelhos do organismo humano.

O problema das bebidas alcoólicas em alimentação e nutrição e das consequências do abuso do seu consumo, entre nós, além de não ser devidamente conhecido continua a ser relegado para segundo plano nas preocupações de estabelecer no futuro imediato para a população portuguesa uma política nacional de alimentação.

A nota prévia sobre o assunto, publicado no Vol. II, n.º 1, da Revista do CEN (pág. 29--60), poderá servir de ponto de partida para resoluções importantes a tomar imediatamente no País, em especial no domínio da luta contra o alcoolismo.

A tendência para o aumento de consumo de algumas bebidas alcoólicas, a pequena influência que a sociedade procura exercer na orientação e limitação racional do uso destes produtos, em conjunto, e a falta de uma política alimentar nacional que considere a perspectiva do seu futuro papel positivo em nutrição constituem factores de estudo imediato, de interesse prioritário para a população portuguesa.

A nota faz o balanço do estado actual da questão, considerando:

3.1 — A composição dos diversos tipos de bebidas alcoólicas;

3.2 — O álcool em nutrição, nos aspectos do metabolismo, das quantidades normais metabolizáveis e da utilização nutricional do álcool;

3.3 — Os efeitos não fisiológicos e tóxicos do álcool, com referência especial às crianças, grávidas e condutoras (efeitos sobre o sistema nervoso).

3.4 — O alcoolismo e modalidades patológicas;

3.5 — A avaliação do consumo das bebidas alcoólicas e as estatísticas dos vários países;

3.6 — O consumo de bebidas alcoólicas, e do álcool correspondente, em Portugal.

4 — Pão — Alimento indispensável *

O pão é dos problemas mais importantes a considerar no presente no nosso País, como factor de nutrição equilibrada e, simultaneamente, de política alimentar nacional.

A nota publicada no Vol. I, n.º 1, da Revista do CEN, põe em evidência:

4.1 — A forma como se chegou ao pão de hoje, a regulamentação técnico-económica e a falta de atenção para os aspectos nutricionais do pão de consumo.

4.2 — A composição e as características de fabrico, de gosto e conservação.

4.3 — O valor alimentar do pão e as vantagens e inconvenientes comparados do pão branco e do pão integral.

---

* Rev. CEN, Vol. II, n.º 1, Março, 1978, p. 29-60.
* Rev. CEN, Vol. I, n.º 1, Nov. 1977, p. 26-48.

4.4 — O pão e o colesterol sanguíneo, em que aparece como um dos alimentos mais importantes para a regulação do metabolismo do colesterol no homem, sendo o consumo elevado factor de estabilização.

4.5 — Um tipo nacional de pão equilibrado, estudado pelo CEN, em que depois de se terem ensaiado várias fórmulas de fabrico, decidiu-se por aquela em que entram as farinhas de trigo e centeio de 1.ª qualidade com taxa de extracção entre 80 e 82 %, na proporção, respectivamente, de 80 e 20 %.

O pão assim obtido fornece, por 100 g, 270 calorias, e tem como nutrientes fundamentais:

Hidratos de carbono	60,4 g
Proteínas	7,2 g
Celulose	0,7 g
Ferro	0,5 mg

o que é excelente.

A presença de centeio melhora a qualidade das proteínas, por aumentar a proporção do ácido aminado essencial lisina, que é o ácido aminado limitante do trigo, e não modifica de forma aparente a qualidade do glúten do trigo. O teor um pouco mais baixo do centeio em vitaminas B_1 e PP não tem significado nutricional, dado o nível alto destas duas vitaminas na alimentação portuguesa corrente.

A importância do centeio reveste sobretudo aspectos económicos, pela necessidade e vantagem de utilização de maior quantidade de cereais de produção nacional.

O consumo regular de pão que se desejaria, em média, por pessoa e por dia seria para:

	Calorias	Pão
Trabalho ligeiro	2800	250-300 g
Trabalho pesado	4000	500 g

A contribuição do pão em estudo representaria as seguintes percentagens dos nutrientes mais em evidência:

	(2800 cal.)	(4000 cal.)
Calorias...	28,9 %	33,8 %
Hidratos de carb.	32,8 %	31,1 %
Gorduras...	7,8 %	9,1 %
Proteínas	26,6 %	55,6 %
Cálcio	12,0 %	14,0 %
Ferro	10,0 %	11,7 %
Vitamina B_1... ...	12,0 %	14,0 %
Vitamina B_2... ...	14,7 %	17,1 %
Vitamina PP... ...	41,7 %	48,6 %

O presente estudo está a ser conduzido em colaboração com o Centro de Estudos de Alimentação, da Manutenção Militar, na parte de fabrico e de ensaios de aceitação em estabelecimentos militares, e com o Laboratório de Nutrição e Higiene dos Alimentos, do INSA, na parte de composição e valor alimentar. A avaliação do custo teve em conta todas as despesas escrituráveis de fabrico, até à saída do produto para a padaria.

II — Actividades de cooperação e divulgação

1 — Ligação com outras entidades

O CEN, dada a natureza das suas funções, cedo foi solicitado por vários organismos para que representantes seus colaborassem em acções que esses departamentos estavam realizando, ao mesmo tempo que tem promovido a realização de estudos especiais, assim:

— A Comissão Nacional da FAO, ao ter que elaborar o relatório a enviar de dois em dois anos à reunião plenária da FAO, em Roma, necessitou que no capítulo «Situação Alimentar» fossem utilizados dados a partir de estudos feitos pelo CEN, tais como os do «Padrão Nacional de Nutrientes». A elaboração do referido estudo teve também a colaboração de um técnico do CEN que por coincidência é também vogal da Comissão Nacional da FAO.

— O CEN estudou para Portugal tipos de «Dietas Nacionais de Segurança», que secundariamente foram apresentadas à Comissão Nacional da FAO, e por sua vez, as enviou para Roma para o «Comité de Segurança Alimentar Mundial», por achar de todo o interesse propor algo de novo neste aspecto, que até à data ainda não tinha sido estudado pelos organismos internacionais, que programam e orientam estes assuntos, com a amplitude proposta, e até porque as referidas dietas parecem ter interesse numa possível utilização a nível mundial.

— Foi elaborada na Direcção-Geral da Função Pública (CIASC subcomissão de refeitórios) regulamentação (Portarias) sobre a alimentação dos utentes dos refeitórios sociais do Estado. Essa regulamentação implicava a determinação de valores calóricos a utilizar, bem como o teor de proteínas, gorduras e hidratos de carbono que deveriam ser fornecidos, e foi justamente nestes estudos que se

fez sentir a acção de técnicos do CEN. Também foram publicadas normas, embora a título de recomendação, sobre a utilização, conservação e aquisição de alimentos, que vêm como anexo à Portaria n.º 426/78, supervisou-se também a execução de um poster sobre a utilização da «fruta ou doce» nas refeições a distribuir nos refeitórios da função pública.

— O CEN, através dos seus técnicos, tem representação permanente no «Procen» — «Programa Cooperativo de Educação em Nutrição» — no qual intervêm a Comissão Nacional (CN) da FAO, os Ministérios da Agricultura e Pescas, dos Assuntos Sociais e da Educação e Cultura. A intervenção dos técnicos do CEN expressa-se em ensino de alimentação a professores do Ensino Primário e a agentes da Extensão Rural para os quais são organizados cursos específicos da matéria.

— O CEN está também representado junto do grupo de trabalho da Direcção-Geral de Saúde denominado «Grupo de Trabalho para Programação e Vigilância da Alimentação Infantil», tendo participado na elaboração do projecto de decreto-lei sobre alimentação para lactentes e crianças até um ano de idade.

— Ainda dentro do campo do ensino, faz parte do grupo de trabalho interministerial, nomeado pelo Governo com a missão de programar e acompanhar o desenrolar de uma campanha, sob a designação de «Campanha Nacional de Educação Alimentar», cujo relatório foi já submetido à consideração ministerial. Técnicos do CEN participaram em todas as reuniões deste Grupo em causa, em que foram estudados problemas técnicos ou ligados ao Ensino da Alimentação em Portugal. Dentro desta ordem de ideias, foi também supervisada a elaboração do Poster sobre a «Roda dos Alimentos», apreciado o livro «Sobre Alimentação» destinado aos alunos das escolas primárias e elaborado o seu prefácio, e prestada assistência técnica nos «Stands» do grupo em causa nas várias feiras realizadas na FIL.

— O CEN tem trabalhado em colaboração com o Centro de Estudos de Alimentação (CEA) da Direcção de Serviços e Intendência do Exército (DSI) e adstrito à Manutenção Militar (MM) para a realização de estudos ligados a vários alimentos, dentre os quais avulta pela sua importância o fabrico do «Pão Tipo Nacional» sobre o qual se elaborou um relatório já apresentado às respectivas entidades ministeriais. Estão também em curso estudos sobre bolachas para doentes cardiovasculares e diabéticos e outros projectos a ser delineados.

— Iniciou-se recentemente a colaboração entre o CEN e o Instituto da Qualidade Alimentar (IQA), departamento do Ministério de Agricultura e Pescas (MAP), com o estabelecimento de um protocolo em que os problemas da saúde ligados com os alimentos (aspectos de melhoria de qualidade do ponto de vista bromatológico, de tecnologia de fabrico, de embalagem, etc.), deverão ser postos ao IQA para, na parte aplicável, providenciar no sentido de se obterem melhores produtos, que no fundo virão pôr à disposição do consumidor melhores alimentos, capazes de conferirem maior grau de saúde à população. Desta colaboração pensa-se que poderá resultar a organização de um «Conselho Nacional de Nutrição» com funções consultivas e programáticas sob o ponto de vista exclusivamente técnico, capaz de recomendar às Entidades Governativas os caminhos mais convenientes para que o Povo Português possa vir a fazer uma alimentação racional.

— Técnicos do CEN têm também colaborado com a Escola Nacional de Saúde Pública, dando aulas e cursos para administradores hospitalares e outros, realizados em Lisboa e Porto e no curso de Nutricionistas da Faculdade de Medicina do Porto e têm tomado parte em vários Simpósios e Jornadas sobre assuntos ligados à alimentação, realizados no Hospital de S. José, Instituto Superior de Agronomia, Sociedade de Geografia e Sociedade das Ciências Naturais.

2 — Problemas nacionais focados nas revistas do CEN

O CEN pela sua revista tem procurado estudar e chamar a atenção para certos problemas importantes no campo da alimentação, de ordem educativa e informativa que dizem respeito ao nosso país e ao mundo.

a) Além dos trabalhos já referidos, salientam-se, dentre os originais, os seguintes:

— *Refeições congeladas — Vol. I, n.º 1, p. 30-35.*

— *Dietas racionais para a população portuguesa — Início no Vol. I, n.º 1, p. 81-89 e continuação nos volumes seguintes.*

— *Alimentação colectiva — Vol. II, n.º 1, p. 94-98.*
— *Doenças metabólicas — Início no Vol. II, n.º 2, p. 43-50 e volumes seguintes.*
— *Alimentação e Desporto — Início no Vol. II, n.º 3, p. 27-31; Vol. III, n.º 1, p. 62-71 e Vol. III, n.º 2, p. 60-64.*
— *Pratos tradicionais portugueses. Início na revista Vol. 2, n.º 3, p. 102 e continuação nos volumes seguintes.*

REFEIÇÕES CONGELADAS

Este trabalho, efectuado num estabelecimento hospitalar, vem possivelmente incentivar a realização de mais experiências a nível industrial, pois, é de prever que, não só entidades colectivas venham a aumentar a utilização deste tipo de refeições para os seus utentes, como indivíduos e famílias a nível doméstico. Presentemente já grande número de pessoas adquirem nos supermercados alimentos congelados para preparar culinariamente em casa, e mais cómodo seria se já levassem, prontas a comer, as refeições em causa, apenas submetidas a posterior aquecimento.

Este tipo de refeições permitiria, também em certa medida, conseguir que fizessem uma alimentação racional e criassem até novos hábitos alimentares, quando nas mesmas fossem incorporados alimentos úteis, mas pouco usados.

DIETAS RACIONAIS PARA A POPULAÇÃO PORTUGUESA

Baseados no «Padrão Nacional de Nutrientes» procurou-se elaborar para as várias idades uma série de exemplos de ementas racionais, mas não com o fim de constituir um formulário dietético, pois ao fazê-lo teríamos que, para cada grupo etário, elaborar pelo menos 30 ementas diferentes a fim de evitar a monotonia alimentar. No entanto, os exemplos apresentados servem-nos como padrões qualitativos e quantitativos para os alimentos utilizados, e tornam possível, seguindo-os, preparar uma série de pratos, tanto quanto a arte e o gosto culinário dos utentes o permitam.

ALIMENTAÇÃO COLECTIVA

Este artigo põe em evidência a importância da alimentação colectiva, caseira ou em cantinas, refeitórios, etc., e a sua evolução para o futuro.

O sistema de refeições colectivas leva a uma disciplina de horário das mesmas e a uma uniformidade na sua com posição; no caso das cantinas, refeitórios, etc., pode até ter efeitos educativos quando os pratos fornecidos forem estudados bromatologicamente, a priori, de forma a oferecerem uma alimentação dita «Racional».

Recorrendo a técnicas de fabrico e conservação cada vez mais aperfeiçoadas, é de prever que no futuro venha a ser oferecida a um número cada vez maior de pessoas uma *Alimentação adequada*, produzida em grandes centros de fabrico controlados em todos os aspectos ligados à matéria.

DIETÉTICA DAS DOENÇAS METABÓLICAS HEREDITÁRIAS DA CRIANÇA

A importância das doenças metabólicas de origem genética na infância tem-se tornado evidente à medida que vão sendo descobertas as suas causas e especificados os sintomas. Nas últimas décadas foi possível identificar um grande número destas anormalidades, relacionadas sobretudo com o metabolismo dos ácidos aminados, hidratos de carbono, lípidos, purinas e pirimidinas, elementos minerais, defeitos de transporte nos túbulos renais e perturbações do sangue e tecidos hematopoiéticos, que ocorrem nas primeiras semanas ou meses da vida, tornando-a impossível, se abandonadas às evolução natural. O conhecimento que existe no presente de meios de diagnóstico e de regimes dietéticos de acção terapêutica e profiláctica para as mais frequentes e mais graves destas perturbações permite que elas sejam diagnosticadas precocemente e tratadas na fase da vida da criança em que é ainda possível evitar as sequelas graves, de complicações digestivas, debilidade mental e alterações neurológicas irreversíveis.

Este novo capítulo da nutrição e da dietética infantil, que se apoia numa indústria de alimentos dietéticos muito evoluída, tem estado a ser tratado em sucessivos artigos da «Revista do CEN» pela Especialista de Pediatria Médica dos Hospitais Centrais de Lisboa, Dr.ª Maria Gertrudes Gomes da Costa.

ALIMENTAÇÃO E DESPORTO

Dado que na grande maioria dos casos, os atletas portugueses têm poucos conhecimentos sobre a forma como devem alimentar-

-se nas várias fases da sua vida desportiva, pensou-se que seria de interesse, pelo menos para os desportos mais proeminentes, dar uma série de ideias de como se devem alimentar os seus praticantes. É evidente que a «Alimentação e Desporto» é hoje uma especialidade dentro do campo da alimentação racional, e como exemplo citaremos o «Regime Dissociado» para os futebolistas. Assim, os artigos publicados têm somente o valor de cchamar a atenção para o problema e dar uma linha geral de orientação, deixando, aos interessados ou aos responsáveis pela sua vida atlética, o cuidado de adquirirem livros ou revistas sobre o assunto, onde poderão então em profundide aperceber-se do interesse primordial da alimentação no campo desportivo.

Para terminar, poderemos dizer que praticar desporto sem seguir as regras alimentares correctas para o tipo do que se executa, leva os atletas a não passarem da mediocridade, arriscando-se ainda a contrairem doenças de maior ou menor gravidade ou a «durarem» como desportistas muito pouco.

PRATOS TRADICIONAIS PORTUGUESES

É frequente dizer-se que este ou aquele prato tradicional sob o ponto de vista alimentar é pobre ou é rico. Justamente para se poder estimar o valor nutricional de alguns pratos tradicionais, que caracterizam a nossa culinária, é que houve preocupação de fazer os cálculos bromatológicos das receitas utilizadas no seu fabrico e dar assim a conhecer o seu real valor nutritivo.

Essas receitas têm sido extraídas de livros de *Cozinha Regional Portuguesa*. Para já sugerimos aos autores de livros desta índole que seria de muito interesse fazer seguir cada receita do seu valor nutricional, isto é, o seu teor em calorias, proteínas, gorduras e hidratos de carbono para cada dose individual.

ALIMENTAÇÃO POR VIAS NÃO NATURAIS

Nos artigos já publicados e que irão continuar nos próximos números, procurou-se e procurar-se-á dar notas práticas sobre os produtos a utilizar neste tipo de alimentação, e as respectivas quantidades diárias, bem como umas breves noções sobre os problemas da utilização dos seus componentes pelo organismo humano sendo, portanto, apenas notas essencialmente práticas, sem especulação de ordem bioquímica, ou de outra natureza.

b) Citaremos, pela sua importância, as seguintes revisões de conjunto:

— *Celulose em nutrição — Vol. I, n.º 1, p. 17-29.*
— *Cárie dentária e flúor — Vol. I, n.º 1, p. 57-60.*
— *Fome — Vol. II, n.º 1, p. 61-92.*
— *Programa de alimentação nos E. U. A. — Vol. II, n.º 2, p. 33-42.*
— *Importância do colesterol em nutrição — Vol. II, n.º 3, p. 33-54.*
— *Ferro em nutrição — Vol. III, n.º 2, p. 64-84.*

CELULOSE EM NUTRIÇÃO

São descritas a constituição química e as propriedades fisiológicas das substâncias que constituem o que em nutrição se chama «celulose» ou «fibra», indicadas as perturbações patológicas atribuídas à sua carência na alimentação e referido o seu teor nos alimentos.

CÁRIE DENTÁRIA E FLÚOR

Nota de actualização em 9 pontos sobre a actuação do flúor na formação e resistência dos dentes à cárie e meios de profilaxia desta, incluindo a perspectiva de vacinas antimicrobianas.

FOME

Considerações sobre o problema da fome no mundo, com definições e indicação de dados demográficos, produção de alimentos, consequências patológicas da fome, áreas geográficas mais atingidas no presente e perspectivas nestas áreas e em Portugal.

PROGRAMAS DE ALIMENTAÇÃO NOS E. U. A.

Análise dos 5 programas alimentares mais importantes em uso nos E. U. A. para a população menos favorecida, com indicação do número de participantes e dos custos (1975), conforme o quadro seguinte, sendo apontados ensinamentos a tirar para a situação portuguesa.

PROGRAMAS DE ALIMENTAÇÃO, PARTICIPANTES E GASTOS, NOS E. U. A.

Programas	Número de Participantes (1975)	Gastos ano fiscal 1975 (em dólares)	
1. Programa nacional de almoços nas escolas			
2. Programa de pequenos almoços nas escolas	25 milhões	3,8	biliões
3. Programa de selos de alimentação	2 milhões		
4. Programa de distribuição de alimentação ...	20 milhões	4,4	biliões
5. Programa destinado às mulheres lactantes e	80 mil	37,5	milhões
crianças	600 mil	250	milhões
TOTAL		8,4875	biliões

COLESTEROL

Neste trabalho foram resumidos alguns conhecimentos e hipóteses que permitem avaliar a importância do colesterol em nutrição, o seu metabolismo e efeitos fisiopatológicos, pondo em relevo o papel hipocolesterolémico das lipoproteínas de alta densidade.

FERRO EM NUTRIÇÃO

Estudo de actualização sobre a complexidade e a importância do papel do ferro em nutrição, seu metabolismo e efeitos fisiopatológicos, com análise dos problemas da absorção, transporte, utilização, diagnóstico dos estados de anemia, distribuição nos alimentos correntes e enriquecimento.

c) Por último, citaremos dentre os trabalhos publicados as seguintes traduções:

— *Objectivos alimentares na dieta nacional Vol. I, n.º 1, p. 61-63.*

— *Atenção ao sal na alimentação — Vol. I, n.º 1, p. 63-73.*

— *Comestibilidade dos alimentos irradiados — Vol. II, n.º 1, p. 105-132.*

— *Sal na hipertensão — Vol. II, n.º 1, p. 133-136.*

— *Preservar os alimentos de germes nocivos — Vol. II, n.º 2, p. 79-86.*

— *Conhecimentos actuais sobre gorduras alimentares — Vol. III, n.º 1, p. 75-82.*

— *Acção favorável dos oligoelementos da água sobre a saúde — Vol. III, n.º 1, p. 83-91.*

OBJECTIVOS ALIMENTARES NA DIETA RACIONAL

Refere-se ao programa em 6 pontos elaborado por uma comissão especial do Senado Americano, com vista ao estabelecimento da Alimentação racional do povo dos E. U. A. e que constitui as bases duma política alimentar nacional.

ATENÇÃO AO SAL NA ALIMENTAÇÃO

É um trabalho de actualização sobre os conhecimentos a respeito do papel do excesso de sal na alimentação da Bélgica e dos países civilizados, seus malefícios e fontes principais. Ao assunto refere-se outra nota, publicada no Vol. II, n.º 1, p. 133-136, com o título: «Sal na hipertensão».

COMESTIBILIDADE DOS ALIMENTOS IRRADIADOS

O problema importante da utilização das radiações como método de conservação dos alimentos é descrito pormenorizadamente, nos aspectos técniccos, alimentares e nutricionais.

PRESERVAR OS ALIMENTOS DE GERMES NOCIVOS

São estudados os riscos da contaminação dos alimentos por germes nocivos, desde a produção, manipulação, armazenamento e distribuição, com indicação dos métodos de tratamento.

CONHECIMENTOS ACTUAIS SOBRE GORDURAS ALIMENTARES

A bioquímica dos ácidos gordos dos alimentos e dos seus derivados metabólicos é estudada nos aspectos que se relacionam com

aquisições científicas recentes, que permitem compreender melhor o mecanismo de acção das gorduras, em especial dos ácidos gordos saturados, dos ácidos «trans» e do ácido linoleico.

ACÇÃO FAVORÁVEL DOS OLIGOELEMENTOS DA ÁGUA SOBRE A SAÚDE

Dá indicações quantitativas sobre oligoelementos presentes na água de consumo, o seu papel em nutrição e os intercâmbios entre a água e os alimentos na preparação destes.

d) Legislação sobre alimentação

Em todos os números tem sido compilada a legislação sobre alimentos e assuntos afins, entretanto publicada sob a forma de diplomas oficiais.

e) Outras actividades têm sido desenvolvidas pelo CEN como:

— *elaboração de um opúsculo* denominado «Alimentação Racional e Nutrição», com fins didácticos e que tem sido amplamente distribuído entre professores do ensino primário, agentes da extensão rural, meio militar, alunos do cuso de enfermagem e público em geral;

— *elaboração de três filmes:*

1 — «Alimentação Racional», já amplamente divulgado;

2 — «Proteínas em Nutrição», em começo de divulgação;

3 — «Vitaminas e Minerais em Nutrição», em preparação.

Dos referidos filmes foram extraídos diapositivos para fins didácticos;

— *elaboração de um «Inquérito Nacional* sobre a Alimentação do Povo Português», com o fim de obter dados sobre:

a) consumo de alimentos pela população;

b) hábitos alimentares;

c) situação sócio-económica (ligada à alimentação);

d) antropometria e patologia da nutrição;

e) dados laboratoriais em relação com o estado nutricional dos indivíduos.

III — Documentação e informação

1 — Organização do Serviço de Documentação e Informação

O serviço de documentação do CEN tem como tarefa principal recolher elementos de ordem científica, técnica, social e económica respeitantes ao campo de Alimentação-Nutrição para serem utilizados em estudos do Centro e outros serviços do INSA bem como Instituições afins, Organismos Nacionais e Estrangeiros e a todas as pessoas que o contactem.

Ao fundar-se este serviço de documentação teve-se em vista dois objectivos:

a) reunir os elementos mais importantes que fossem necessários para a realização das suas tarefas consideradas prioritárias de modo a serem satisfeitas solicitações imediatas;

b) cobrir retrospectivamente os cinco anos anteriores à data de começo do seu funcionamento recolhendo, analisando e indexando todos os elementos existentes sobre o vasto campo de Alimentação-Nutrição, aos quais tivesse acesso. Assim se organizaria um conjunto de dados, abrangendo um grande número de publicações onde seriam estudadas as várias facetas, respeitantes ao âmbito de Alimentação-Nutrição, para o período de 1972 até à presente data.

Actualmente, embora não tão completo como era de desejar, o serviço de documentação do CEN reúne já um grande número de dados dos inúmeros trabalhos que têm sido realizados, em muitos países do mundo, neste sector, alguns dos quais constituem contribuições decisivas para o conhecimento da nutrição humana.

2 — Elementos já seleccionados para o «Banco de Dados» de Alimentação e Nutrição

Entende-se por documentação a recolha, verificação e separação de documentos, fazendo com que o seu teor seja acessível e se possa processar, classificar e indexar, preparando-os para serem arquivados, podendo ser consequentemente consultados. Por outro lado, a informação tem como finalidade a disseminação do conhecimento e se o público não dispuser de um meio eficaz que lhe permita o acesso a esses estudos feitos, de nada servirá existirem.

Assim, o serviço de documentação e informação do CEN, após trabalho intensivo, organizou um ficheiro que é o principal instrumento de acesso aos documentos e constitui a pedra angular para qualquer estudioso do mundo da Alimentação-Nutrição.

A catalogação e selecção do material bibliográfico é uma tarefa delicada, contínua e trabalhosa, pois precisa de uma actualização constante.

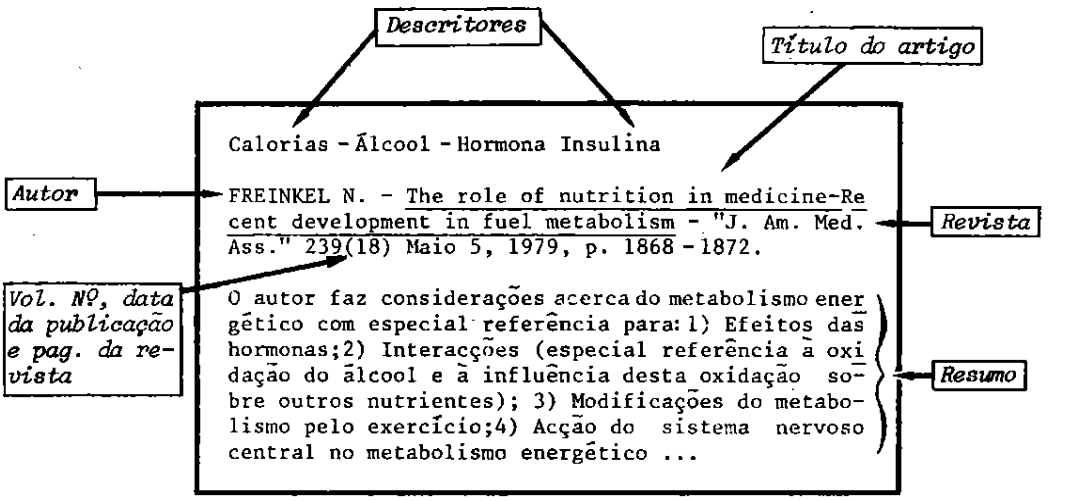
Uma vez organizado o ficheiro, ele deve ser de tal modo eficiente que permita ao leitor identificar rápida e facilmente os elementos de que precisa.

Os nossos catálogos são em forma de ficha, isto é, folhas soltas, movíveis que podem substituir-se com facilidade e nas quais se poderá deixar lugar em branco para a introdução de assuntos importantes que seja necessário acrescentar. A catalogação em fichas é mais prática e responde mais adequadamente às necessidades da consulta, por ser flexível e permitir intercalar novas fichas ou retirar definitivamente as das obras que já não tenham interesse. Isto significa a actualização permanente dos assuntos, havendo sempre possibilidade de estar em dia pela agregação ou alteração de qualquer matéria.

O nosso ficheiro está orientado e disposto por ordem de assuntos, segundo rubricas previamente estabelecidas de acordo com as adaptadas por outras organizações afins, e além disso ordenado alfabeticamente. É um ficheiro especializado, limitando-se ao campo da Alimentação-Nutrição, que aliás é bastante vasto.

As fichas são dispostas por ordem alfabética segundo os descritores (ou palavras chave), isto é, palavras tipo ou características do assunto tratado, tendentes a darem uma ideia clara ao pesquisador.

O ficheiro deste serviço de documentação é um conjunto de dados, tanto quanto possível válidos, colhidos em obras, ou estudos transcritos em revistas e jornais, divulgados em congressos ou colóquios, ou debatidos em mesas redondas, seleccionados em fichas onde vêm indicadas as palavras chave, o autor, o título, o nome e referências da fonte de dados, finalizando com um pequeno resumo que tem por fim integrar o leitor no assunto tratado. Assim, por exemplo:



Ora esta catalogação, também chamada metódica ou sistemática, permite até localizar um artigo do qual se desconhece o autor e título exactos. Com toda esta gama de referências é fácil identificar os elementos escolhidos para qualquer trabalho que o leitor tenha em vista.

Dos assuntos considerados importantes são feitas fotocópias para o nosso ficheiro de arquivo.

Além de todos estes dados, seleccionaram-se também, em colectâneas individuais, todos os elementos a que se teve acesso, sob a forma de fotocópias dos artigos considerados de maior interesse, respeitantes a alimentos e nutrientes fundamentais dos quais destacamos *o leite, pão, carne, peixe, ovos, gorduras, vegetais verdes, frutos, celulose* e ainda sobre a *soja*, dado o incremento do seu consumo

sofrido nos últimos tempos como substituto valioso e mais barato de proteínas da carne, e também do *açúcar*, pelo seu efeito negativo e altamente pernicioso sobre o organismo humano.

Todos estes elementos, que constituem já um «banco de dados» de certo alcance, devem ser de tal maneira dispostos que a sua localização, como foi dito, se faça o mais rapidamente possível.

A fonte principal de colheita dos elementos referidos tem sido a biblioteca do INSA, mas muitos outros elementos têm sido obtidos tanto de bibliotecas nacionais como estrangeiras.

3 — A perspectiva da computarização e o esquema a adoptar

Mais de um milhão de artigos originais de carácter científico são, actualmente, publicados em todo o mundo, por ano, e ainda que restringíssemos o campo de acção a um só domínio, a leitura de todos os artigos relacionados seria absolutamente impossível.

Daí impõe-se uma escolha selectiva, tarefa essa que terá de ser feita por entidades especializadas, lançando mão de todos os recursos que a técnica moderna pode proporcionar e onde o computador tem, sem dúvida, um papel de destaque.

Também no CEN há uma perspectiva de computarização, tendo como ponto de partida a documentação já seleccionada, mas todo este material de informática, antes de ser dado ao computador, terá de ser devidamente digerido.

No trabalho do computador, uma das partes fundamentais é o programa, pois a máquina não poderá ir além do que nela estiver incluído implícita ou explicitamente. Assim, na memória do computador devem figurar todas as combinações possíveis, o mais claras, exactas e completas, pois se houver erros ou lacunas a máquina nada aperfeiçoará, e repetirá tudo conforme lhe foi fornecido.

No caso especial da nutrição, a informação para ser verdadeiramente útil terá de ser preparada, transformada, correlacionada e interpretada de forma adequada. Deste modo deve haver alguém que saiba devidamente traduzir em termos de instrução tudo aquilo que mais tarde possamos pedir ao computador.

Ao analista competirá examinar os dados, apurar aquilo de que dispõe como ponto de partida, definir parâmetros e as variáveis em que se estrutura todo o processo, isto é, equacionará o problema. Por seu lado, o programador traduzi-lo-á para linguagem de computarização.

Deve haver sempre uma lista de sinónimos para o caso do leitor usar um descritor diferente do utilizado pelo cientista e, portanto, gravado na memória do computador. O uso de uma terminologia unificada confere grande validade ao sistema, tornando-o acessível e eliminando a confusão causada por um grande número de palavras que se possam cruzar.

Depois do banco de dados estar devidamente organizado, o computador impor-se-á pela segurança, exactidão e extraordinária rapidez, mas a sua eficiência, como foi dito, dependerá do cérebro que previamente tenha preparado todos os dados científicos.

Presentemente, orientada nesta ideia de computarização, está-se a proceder à elaboração no CEN de um Microthesaurus, obedecendo a um esquema, cujos parâmetros fundamentais são:

— GRUPOS DE ALIMENTOS. Alimentos-Composição (nutrientes, valor nutritivo, etc.)

— COMPONENTES ESTRANHOS

— TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS

— HIGIENE DOS ALIMENTOS E LEGISLAÇÃO

— ALIMENTAÇÃO RACIONAL E DIETÉTICA

— METABOLISMO E FISIOLOGIA

— PATOLOGIA E DOENÇAS

— FACTORES SÓCIO-ECONÓMICOS

— ESTUDOS SOBRE A POPULAÇÃO (inquéritos, custos)

— FONTES DE DADOS

— ENSINO DA NUTRIÇÃO E EDUCAÇÃO ALIMENTAR

A classificação obedece a divisões que poderão ser ajustadas futuramente, englobando subdivisões onde se agruparão assuntos afins.

Como tarefa prioritária do uso do computador, o CEN está a proceder à elaboração do plano de um Inquérito Alimentar a nível nacio-

nal cobrindo toda a nossa população. Os elementos apurados servirão de base a um estudo profundo da situação alimentar nutricional da população portuguesa, o que jamais foi feito, e cujos resultados se virão a reflectir, positivamente, quer no campo da saúde, quer no da economia.

Um inquérito a este nível envolve tal movimento de dados e exige um tão exaustivo trabalho de escolha e selecção, que ultrapassa praticamente todas as possibilidades humanas e só a capacidade de informação de computadores poderá concretizá-lo na extensão necessária.

2.ª SECÇÃO

1 — Susceptibility of *Planorbarius metidjensis* from Portugal and Spain to *Schistosoma bovis* from Salamanca (Spain)
M. L. Sampaio Silva
F. Simon Vicente
I. C. Avelino
V. Ramajo Martin

2 — Susceptibility of *Bulinus truncatus* from Portugal and other origins to a strain of *Schistosoma bovis* of Salamanca (Spain)
F. Simon Vicente
M. L. Sampaio Silva
V. Ramajo Martin
I. C. Avelino

3 — A simplified perfusion technique for the recovery of *Schistosoma bovis* from laboratory animals
M. L. Sampaio Silva
J. França Mota

4 — Maintenance in Laboratory of *Schistosoma bovis* strain from Salamanca (Spain)
M. L. Sampaio Silva
F. Simon Vicente
I. C. Avelino
V. Ramajo Martin

5 — Maintenance of *Schistosoma haematobium* strain in laboratory
M. L. Sampaio Silva
J. Fraga de Azevedo
I. C. Avelino

6 — Intérêt de l'utilisation des antigènes homologues dans le serodiagnostic des bilharzioses par la technique d'immunifluorescence indirecte sur coupes à la congélation
T. Kien Truong
M. Mojon
M. S. Tran
M. L. Sampaio Silva

7 — Comparative study of *Schistosoma haematobium, Schistosoma bovis* and *Schistosoma mansoni* antigens
M. L. Sampaio Silva
A. Capron
A. Wilkins

8 — Human Fascioliasis in Portugal
M. L. Sampaio Silva
A. Capron
M. Capron

9 — Importância da manutenção em laboratório da estirpe de *Schistosoma bovis*
M. L. Sampaio Silva
I. C. Avelino

10 — Inquérito piloto sobre a prevalência das parasitoses intestinais numa população infantil da Freguesia de Vizela (Guimarães)
M. L. Sampaio Silva
I. C. Avelino

11 — Ensaio piloto com dose única de tinidazol no tratamento da Giardíase
F. M. Coutinho Costa
M. L. Sampaio Silva
M. M. Peixoto
M. A. Bastos

12 — Tratamento da Giardíase em pediatria com uma dose de tinidazol
M. L. Sampaio Silva
F. Coutinho Costa
M. M. Peixoto
M. A. Bastos
M. J. Queirós
J. M. Calheiros

13 — Poliomielite I — Prevalência de anticorpos em indivíduos dos 2-25 anos
M. Irene Pires Nunes
J. Soares de Oliveira
F. Galvão de Melo
Laura Ayres

14 — O Vírus da Gripe A (H1 N1) em Portugal
M. Virgínia T. Figueiredo

15 — Vigilância da Gripe em Portugal
M. Virgínia T. Figueiredo

16 — Os Arbovírus em Saúde Pública
Armindo Filipe

17 — Características higiénicas microbiológicas de produtos de pastelaria (Lisboa)
Ricardina Dantas
M. Rosário L. Novais

18 — Alimentos dietéticos diversificados infantis (baby» foods
Eugénia C. C. Amaral

19 — Estudo bacteriológico de águas industrializadas à venda no mercado
A. França e Silva

20 — As grandes populações de dinoflagelados tóxicos na Lagoa de Óbidos
Estela Sousa Silva

21 — Estudo prospectivo de lipídeos sanguíneos em amostras da população Portuguesa
Alfredo Franco
Maria do Carmo Martinho
Maria do Carmo Cavalheiro Martins

Instituto Nacional de Saúde de Dr. Ricardo Jorge
Laboratório de Parasitologia
Porto. Portugal

Centro de Edafologia y Biología Aplicada (C.S.I.C.)
Laboratório de Parasitologia
Salamanca. España

SUSCEPTIBILITY OF PLANORBARIUS METIDJENSIS FROM PORTUGAL AND SPAIN TO SCHISTOSOMA BOVIS FROM SALAMANCA (SPAIN) *

Sampaio Silva, M. L. **
Simon Vicente, F. ***
Avelino, I. C. **
Ramajo Martin, V. ***

Summary

The susceptibility of *Planorbarius metidjensis* from Portugal and Salamanca (Spain) to *Schistosoma bovis* from Salamanca was studied.

The degree of susceptibility measured by positivity rate, number of cercariae, prepatent period and survival rate, showed that *P. metidjensis* from Portugal and Spain are very susceptible to *S. bovis* from Salamanca.

The role of *P. metidjensis* as a host of *Schistosoma haematobium* is questioned, and further studies are shown to be necessary. To know whether the *S. bovis* exists in Portugal, bovines and snail populations, in the border with Salamanca and in Algarve began to be screened.

Introduction

In 1969, Simon, V. F. (10), and in 1972, Ramajo, M. V. (8) found *S. bovis* in domestic ruminants from Salamanca province (Spain) at the Portuguese *P. metidjensis* was also susceptible.

As *P. metidjensis* is the natural host of *S. bovis* in that area, we decided to study if the portuguese *P. metidjensis* was also susceptible to that strain and compare its susceptibility with the Spanish snail populations. This

---

* Paper presented to the V European Malacological Congress Milano, Italy.

** Instituto Nacional de Saúde. Xavier Sampaio, M. L., was a former name of the first author.

*** Centro de Edafologia y Biologia Aplicada.

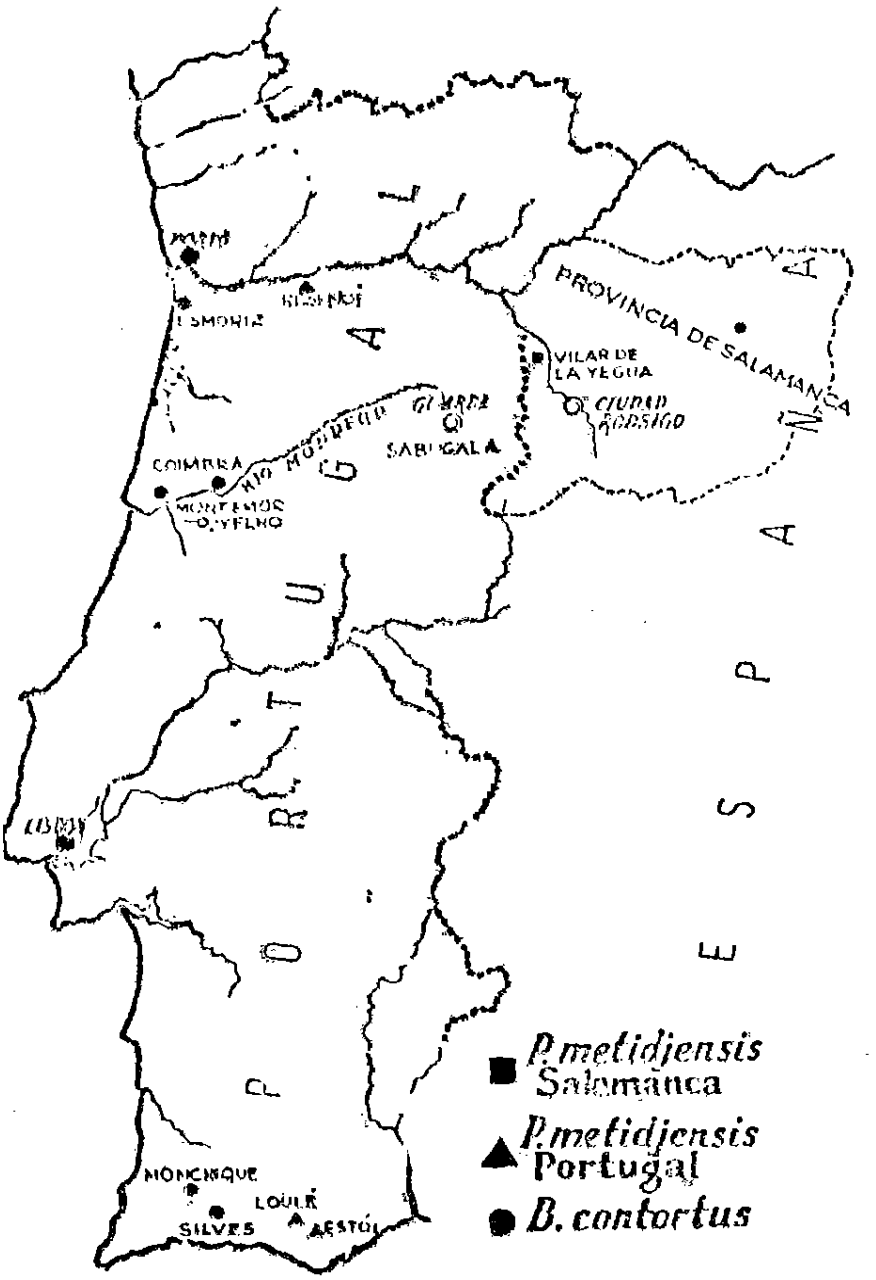


FIG. 1

P. metidjensis from Portugal and Salamanca (Spain), and **B. contortus** from Portugal

study is very important: 1) to know if outbreaks of bovine schistosomiasis may also occur in Portugal; 2) to elucidate whether *P. metidjensis* is or not a host of *S. haematobium* in Portugal; and 3) to maintain the *S. bovis* in laboratory and compare it with the *S. haematobium* strain, which maintenance is difficult as it is well known.

Material and methods

We used two portuguese *P. metidjensis* populations. One from Estoi in Algarve (South of Portugal) and the other from Sabugal, a portuguese village bordering the province of Salamanca (Fig. 1). The first population has been adapted to our laboratory in Porto since 1969, and the Sabugal snails since 1972. All snail populations were reared by the method of *Oscillatoria formosa,* Bory (13). The origins of spanish sinails populations were Villar de la Yegua and Valdespina, two villages in Salamanca (Fig. 1). The *S. bovis* strain was first isolated in 1970 from a calf naturally infected found in Villar de la Yegua.

The miracidia for the first experimental infection in Porto were obtained from eggs of lamb faeces. The lambs were experimentally infected in the laboratory of Salamanca (8). The miracidia used in successive passages after the first one, and in the present experiences, were obtained from experimentally infected hamsters in the laboratory in Porto by the technique described by Xavier Sampaio, M. L. et al. (9).

For the experimental infection three groups (I, II and III) of 25 snails from every origin, one month old, were individually placed in holes of an agglutination perpex blok and each snail was exposed to 5, 10 and 20 respectively. The snails were exposed for 6 hours and then transferred to rearing jars with Oscillatoria and mainteined at 28º C in semi-darkness until cercariae shed. After the 20th day, the snails were put into water at 23º C and individually placed in a glass containing 1 ml. of water and incubated at 37º C for 30 minutes to shed cercariae. The positive snails of the same group were gathered in beakers with 10 ml of water and placed under a 100-watt lamp to complete the emission of cercariae.

Results

The results concerning the snail population exposed to miracidia from hamsters are shown in Table I. In the portuguese snail populations the infection rates were between 52 and 80 %, in the population from *P. metidjensis* of Estoi, and between 12 and 24 % in Population from Sabugal. In the spanish populations were obtained 8-24 % in *P. metidjensis* from Villar de la Yegua, and 32 to 72 % in the populations from Valdespino. Only in the snails from Estoi an increase of the infection rates was observed with increasing number of miracidia.

During the period of 40 days, the lowest mortality was observed in the snails from Estoi (8 to 12 %), and the highest in those from Sabugal 48 to 92 %), and was independent of the number of miracidia used. The spanish populations showed intermediate mortality.

At 28-30º C, the mean prepatent period was between 18 and 37 days in the snails studied, with a minimum ranging from 16 to 33 days. The dayly cercarial production observed during a period of 4 weeks increased from the first to the third week and then declined. One population (Valdespino) showed the maximum on the fourth week. The snails that showed a lower number of cercariae per snail and day were those from Sabugal and Villar de la Yegua.

The degree of susceptibility measured by positivity rates, cercarial production, prepatent period and mortality rates showed that, in spite of some observed differences, the populations studied are very susceptible to *S. bovis.* This is also confirmed by the fact that the *S. bovis* strain from Salamanca could be maintained in Porto until the 10th passage in portuguese and spanish *P. metidjensis* populations and until the 9th passage in hamsters (9).

Discussion

P. metidjensis has been considered to be sole host of. *S. haematobium* in Portugal (Algarve) since 1923 (3), (1), (4). In 1965 Xavier Sampaio, M. L. et al. (12) reported that *P. metidjensis* was resistant to the *S. haematobium* strain from Guinea and they never found this snail naturally infected in the field.

In 1965 and 1969, Azevedo et al. (5), (6) showed that *B. contortus* from Coimbra and Algarve were very susceptible to *S. haematobium* strain from Guinea. This raised the question of Azevedo et al., and also Mandhal Barth (7) in 1969 abaut if *P. metidjensis* is the actual host of *S. haematobium* in Portugal.

P. metidjensis proved in this work to be highly susceptible to *S. bovis,* as well as *Bulinus* sp from different origins (11) is to the

TABLE I

Experimental infection of P. Metidjensis populations with Schistosoma bovis from Salama (Spain)

Snail Population	Group	Prepatent period (days)		Positive		Cercarial production per snail per day (weeks)				% of snails mortality in 40 days	
PORTUGAL		min.	mean	n.°	%	1st	2nd	3rd	4th	exposed	control
Algarve (Estoi)	I	26	32	17	68,0	216	316	38	102	8	0
	II	26	32	13	52,0	125	250	416	64	12	0
	III	15	19	20	80.0	126	128	768	80	12	0
Sabugal	I	23	23	3	12.0	90	60	50	60	48	40
	II	18	18	6	24.0	44	70	—	—	92	40
	III	23	29	5	20.0	25	50	90	40	56	40
SPAIN											
Villar de la Yegua	I	20	20	5	20.0	50	35	90	20	20	0
	II	33	33	6	24.0	87	100	—	—	88	20
	III	20	20	2	8.0	30	80	100	60	48	0
Valdespino	I	26	37	16	64.0	26	35	35	91	8	0
	II	26	36	18	72.0	23	35	42	94	32	0
	III	21	25	8	32.0	30	44	146	335	52	0

Groups of 25 snails. Age: 1 month.
N.° of miracidia per snail: I=5. II=10. III=20.

same strain of schistosome *. *P. metidjensis* has also been show to be the natural host of this strain from Salamanca (8). On the other hand, *P. metidjensis* is resistant to *S. hæmatobium* from Guinea while *B. contortus* is very susceptible to his strain. All these observations raise there other questions: 1) Do *S. bovis* and *S. haematobium* exist in Algarve?) Is it possible that cercariae formely reported in *P. metidjensis* as coming from *S. haematobium* were from *S. bovis,* since they are difficult to distinguish? 3) Are both *P. metidjensis* and *B. contortus* hosts of *S. bovis* in Portugal, but is *B. contortus* alone the host of *S. haematobium?* In Morocco where both species of snails coexist, only *Bulinus truncatus* has been reported as the host of. *S. haematobium* (2). More detailed studies are necessary to settle these matters.

Moreover since the portuguese *P. metidjensis* are highly susceptible to *S. bovis* from Salamanca, it is important to study the bovine populations in the area bordering Salamanca, hand, *P. metidjensis* is resistant to *S. haema-* and in Algarve, in order to know whether the bovine schistosomiasis exist in Portugal. Studies on this subject have already started in Porto and Salamanca laboratories.

Resumo

É discutido o papel do *Planorbarius metidjensis* como hospedeiro do *Schistosoma haematobium* e a necessidade de se realizarem estudos para esclarecimento deste assunto. Com o objectivo de se saber se o *Schistosoma bovis* existe em Portugal sugere-se que se realizem estudos nas populações de moluscos e de bovídeos nas áreas junto da fronteira com Salamanca e no Algarve.

* Infections rates of 41,6 %-100 % have been regietered in **P. metidjensis** from Algarve (Portugal) and Salamanca (Spain), infected with miracidia from lamb faeces, in Salamanca laboratory.

REFERENCES

1 — BETTENCOURT, A.; BORGES, I. & SEABRA, A. (1923) — Rapport de la Mission de l'Institut Camara Pestana pour l'étude de la bilharziose ou Portugal. J. Sc. Mat. Fis. e Nat. Lisboa, 4; 7-38.

2 — CARROSSE, J. (1930) — La bilharziose vésical dans le sud marocain. Ann. Paras. Hum. Comp. 8, 2: 161-164.

3 — FRANÇA, C. (1923) — Observations sur la bilharziose a Schistosoma haematobium IV. Sur l'hôte invertebré du Schistosoma au Portugal et considerations sur les Planorbides. J. Sc. Mat. Fis. e Nat. Lisboa, 4: 163-180.

4 — FRAGA DE AZEVEDO, J.; SILVA, J. et al. (1948) — O foco português de Schistosomiasis. An. Inst. Med. Tropical, 11: 175-222.

5 — FRAGA DE AZEVEDO, J. & XAVIER SAMPAIO, M. L. (1965) — Um novo vector potencial do Schistosoma haematobium em Portugal. An. Inst. Med. Tropical, Lisboa, vol. XXII, Janeiro-Dezembro.

6 — FRAGA DE AZEVEDO, J. & XAVIER SAMPAIO, M. L. (1969) — O complexo molusco Schistosoma. Jornal da Sociedade de Ciências Médicas de Lisboa, CXXXIII — Maio n.º 5: 377-405.

7 — FRAGA DE AZEVEDO, J.; XAVIER SAMPAIO, M. L.; MATTOS DOS SANTOS, M. A. & AVELINO, I. (1969) — O significado do estudo em laboratório do Schistosoma haematobium. Jornal da Sociedade de Ciências Médicas, Tomo CXXXIII, 8: 607-622.

8 — RAMAJO, M. V. (1972) — Contribuición al estudio epizootiologico de la esquistosomiasis bovina (Schistosoma bovis) en la provincia de Salamanca. An. Fac. Vet. León (Spain), 18: 151-214, and Rev. Iber. Parasitol. 32 (3/4), 207-242.

9 — SILVA SAMPAIO, M. L.; SIMON, V. F.; AVELINO, I. C. & RAMAIO, M. V. (1974) — Maintenance in laboratory of Schistosoma bovis strain from Salamanca. Third Intern. Congress of Parasitology, Munich.

10 — SIMON VICENTE, F. (1969) — Esquistosomiasis en el ganado vacuno de algunas provincias del Oeste de España. S. C. Bol. Inf. Col. Vet. de España, 187, 41-52.

11 — SIMON VICENTE, F.; SILVA SAMPAIO, M. L.; RAMAJO, M. V. & AVELINO, I. C. (1974) — Susceptibility of Bulinus conortus from Porugal and other origins to a strain Schisosoma bovis from Salamanca (Spain). Third. Int. Congress of Parasitology, Munich.

12 — XAVIER SAMPAIO, M. L. & FRAGA DE AZEVEDO, J. (1965) — Susceptibility of Planorbarium metidjensis (Forbes) from the South of Portugal (Algarve) and Bulinus (Ph) africanus from portuguese Guinea to Schistosoma haematobium from the same overseas province. Anais Inst. Med. Tropical, Lisboa, 22: 57-63.

13 — XAVIER SAMPAIO, M. L.; FRAGA DE AZEVEDO, J. & AVELINO, I. (1968) — Importance d'Oscillatoria formosa Bory dans la culture au laboratoire des mollusques vecteurs du Schistosoma haematobium. Bull. Soc. Path. Exct. Tome 61, n.º 1, Janvier-Février, 52-66.

Centro de Edafología y Biologia Aplicada
Laboratório de Parasitologia. Salamanca. España

Instituto Nacional de Saúde Ricardo Jorge
Laboratório de Parasitologia. Porto. Portugal

SUSCEPTIBILITY OF BULINUS TRUNCATUS FROM PORTUGAL AND OTHER ORIGINS TO A STRAIN OF SCHISTOSOMA BOVIS OF SALAMANCA (SPAIN) *

Simon Vicente, F. **
Sampaio Silva, M. L. ***
Ramajo Martin, V. **
Conceição Avelino, I. ***

Summary

Experiments were carried out exposing *Bulinus truncatus* from three different geographical origins to 5, 10 and 20 miracidia of a spanish strain of *Schistosoma bovis*.

The results obtained, specially in relation to infection rates, mortality during 40 days since the exposure, cercarial production, and survival of infected snails, are compared with data recorded by other authors in experiences made with similar number of miracidia.

It seems that under the conditions of the experiments the *Bulinus* tested were from moderately to highly susceptible, according to the number of miracidia. The interest of the fact that the strain used is transmitted, in natural conditions, by the snail *Planorbarius metidjensis*, is pointed out.

Material and methods

The strain of *S. bovis* was isolated in 1970 from a bull calf naturally infested. Then it has been maintained in lambs and in *Planorbarius metidjensis* laboratory-rared. This snail is the intermediate host of the schistosome in natural conditions (8).

The geographical origins of the *Bulinus* used were: Portugal (Algarve) Egypt and Chad. Three groups of 25 snails each and 5 controls

---

* Presented at the 3rd International Congress of Parasitology. Munich, Germany.

** Centro de Edafologia y Biologia Aplicada del C. S. I. C.

*** Instituto Nacional de Saúde Ricardo Jorge. — Xavier Sampaio, M. L. — former name used by this author.

from every origin, with similar size and age, were used in the experiences. The size being 1,5-2 mm and the age 1 month.

Miracidia for infection were obtained from eggs in lambs faeces which after emulsion in tap water were poured through a 320 microns screen and the stained fluid collected in a bowl. The fluid was again poured a 100 microns screen where eggs were retained. The debris with the eggs left on the screen was washed and pieces of it distributed in Petri dishes containing water at 24º-26º C putting them under a lamp for 1/2 hour. Supernatant fluid was withdrawn with a pipette and deposited in the holes of a perpex black like that used for agglutination, counting the miracidia required for every snail under a dissecting microscope.

The snails of the groups of every origin were exposed to 5, 10 and 20 miracidia respectively per snail for a period of 6 hours. Each infested group was put in beakers containing 120 ml of water covered with a pierce tin paper, and subsequently maintained in incubator at 28º-30º C until cercarial emission. From the 12th day the snails were put in water at 24º-26º C under a lamp to determine the prepatent period. All snails which had not shed cercariae at the end of a period of 40 days were dissected in order to check the absence of cercariae.

The infested snails were taken out of incubator and transferred to a laboratory room under natural light where they remained hence forth at 17º-18º C as mean temperature. The experiments began in November. The minimum and mean prepatent period, mortality and the infection rate were recorded. Cercarial production was observed on all groups putting the beakers containing the snails in the incubator at 37º C for 1/2 hour and after exposing each one under a bright lamp from 9,30 h' a.m. to 13,30 h' p.m. without a previous period in complete darkness. The snails were shed once weekly. Cercariae were counted taking 1 ml of the water of the beakers containig cercariae, after mixing them, and multiplied by the total volume of water.

Results

The results of the susceptibility tests are shown in Table I.

Under the experimental conditions the mean prepatent period for all groups of snails was quite similar irrespective of its origin and number of miracidia used, and can be estima-

TABLE I

Experimental infections of Bulinus truncatus **from different geographical regions exposed to a Spanish strains of** Schistosoma bovis

Origin of the snails	Groups	Prepatent period (days) % of snails minimum	mean	% mortality (till 40 days positive	infected	controls	Cercarial production per snail and day (Weeks) 1st	2nd	3rd	4th	10th	16th
CHAD												
	I	17	23	25	20	0	20	60	12	70	10	55
	II	17	20	33,5	20	20	25	15	20	60	20	50
	III	17	19	100	20,8	0	27	61	70	96	25	32
PORTUGAL												
	I	18	20	52,1	8	0	11	22	10	10	15	40
	II	18	18	100	8	0	20	55	16	15	35	50
	III	18	18	85	0	0	37	20	52	42	34	32
EGYPT												
	I	17	19	55,5	20	0	20	15	35	30	45	50
	II	16	16	70	15	0	25	34	12	20	26	27
	III	18	19	94,4	24	0	30	54	32	60	20	80

Groups of 25 snails. Age: 1,5 month. Size: 1,5-2 mm.
N.º of miracidia per snail: I = 5, II = 10, III = 20.

ted at about 19 days. Minimum prepatent period was lightly lower, near 17 days, and also similar for all snails.

A general tendency to increase the infection rates with increasing number of miracidia was found. An apparently anomalous result was observed in group II of Algarve exposed to 10 miracidia which shows 100 % of infection, whereas in group III of the same origin, exposed to 20 miracidia, and 85 % was obtained.

During the period of 40 days the lower mortality in infected snails was observed in the *Bulinus* of Algarve (8 % in groups I and II and 0 % in the III group). The three groups from Chad and Egypt registered a relative uniform mortality levels between 15 and 24 %.

The daily cercarial production in no case exceeded 100 ceacariæ per snail. No significant differences were recorded in the cercarial output of all groups exposed to 5 and 10 miracidia, but that groups exposed to 20 miracidia had shed some more cercariae, in total, at the end of the 4th week. Within the general and constant low level of cercarial production only the snails from Chad produced a number somewhat higher in the 2th and 4th weeks. Posteriorly to the term of 40 days after infection planed for observation of the mortality in the infected snails, some complementary data have been registered on the survival, growth and, occasionally, on the cercarial production.

From 75 days a clear but variable decline in the survivial was observed in the snails of the three origins. At the 6th month there was a survival between 20 % and 66 % (Egypt). Betwen 7th and 8th months all snails died except one of the group II of Egypt wich lasted until the 9th month sheding cercarial (Fig. 1).

The low level of cercarial production remained in less than 100 cercariae per snail and day until the 4th month occasional cercarial counts carried out in the same way as described above gave 400-600 cercariae per snail and day in the 7th month.

In the 4th month the size of the snails was: 7-9 mm (Chad); 6-8 mm (Portugal) and 6-7 (Egypt). A growth rate porportionally inverse to the number of miracidia exposed was noted in *Bulinus* from Chad and Algarve Instead, in the groups of Egypt this difference of increment in size was not observed.

Discussion

The infection rates observed in these experiences seem to be higher than those recorded by other workers (7), (3), (10), in *Bulinus* of the *truncatus* group tested with similar number of miracidia of different strains of *S. bovis* maintained in laboratory animals. Certainly great variations in the susceptibility of local races of hosts have been noted in relation to various schistosomes (10), and also in other trematodes. These differences are due to numerous factors involved. In this respect, the influence of size age and number and origin of miracidia used have been differently appreciated.

Lengy (7) reported that the age and size of the snails seem to have little importance in the infection. Chu et al. (3) support the opinion that consideration must be given to the fact that the development of infection will be influenced by the age and dosage of miracidia. According to Berri, D. A. (1) it is possible that, in highly susceptible strains of snails susceptibility does not change with age.

With 5 and 20 miracidia Lengy (7) and Chu et al. (3) obtained infection rates lower than those recorded in the present study. But comparatively, the age and size of the snails in the experiences of Lengy were greater than those of the snails used by us. On the other miracidia we used for infection were obtained from eggs in lambs faeces, and as was pointed out by F. Azevedo et al. and Sampaio Xavier (6) the miracidia obtained from natural hosts of the schistosomes proof a high capacit for infection. In any case, it seems that the *Bulinus* exposed to the strain of the *S. bovis* from Salamanca show little variation in susceptibility at the age quoted, and the dosages of 10 and 20 miracidia were sufficient to increase notably the infection rates of the snails; dosages wich are markedly lower than the required by Lengy (7) to reach infection rates of 87 %. Except for groups I and II of Chad, the percentages surpassed 50 % and attained 90 % and 100 % in the *Bulinus* of all groups and origins.

In this analysis the temperature is not discussed in relation to prepatent period, in view of the fact that a 28-30º C temperature range is considered the optimum for infection. Lengy (7) reports the existence of a wider range, between 14º-31º C, in wich *Bulinus truncatus* becomes infected with *S. bovis*. Finally, if it is accepted that the highest infection rate can

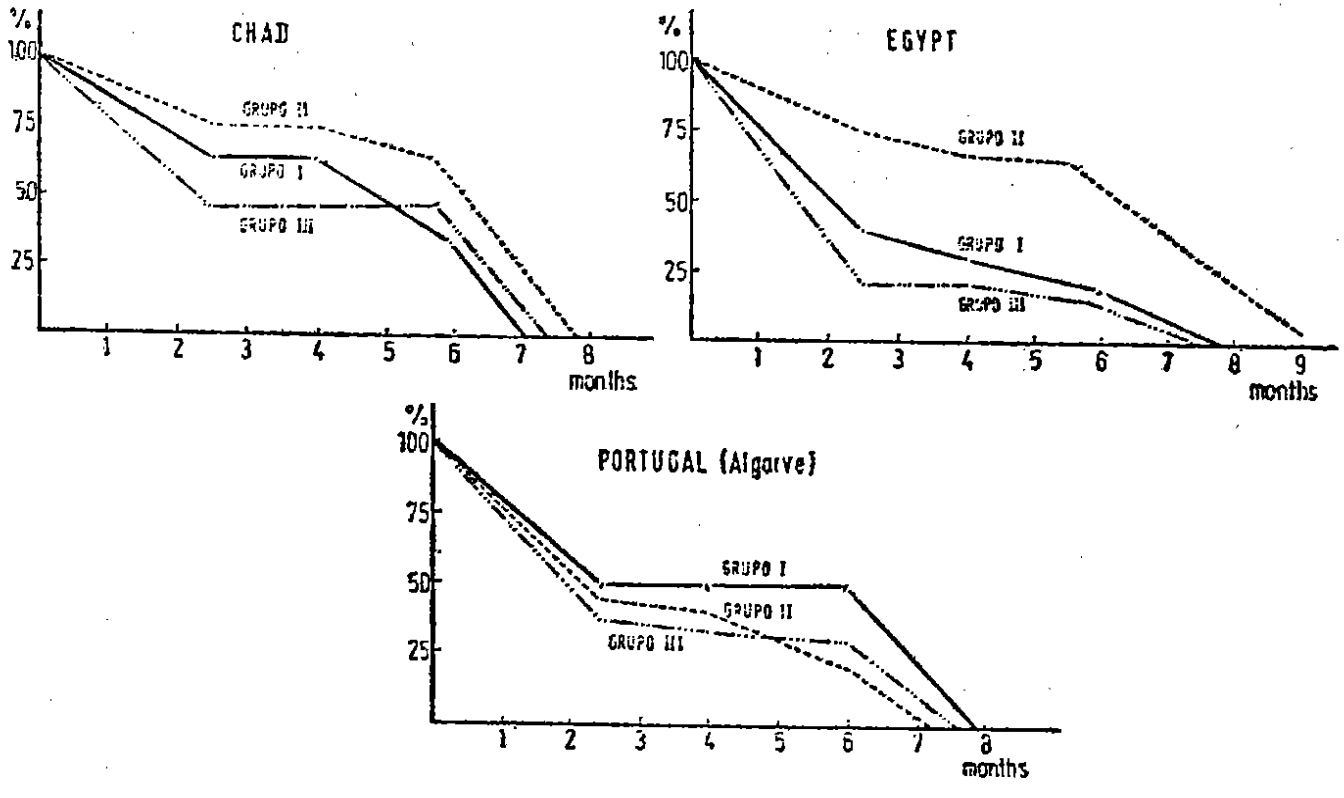


FIG. 1

% of infected snails

be obtained when the snails are individually exposed to a number of miracidia closely confined within their vicinity (1), the exposure conditions in our experiments could provide a favourable situation to obtain high infection levels.

The lower percentage of mortality registered within 40 days after infection found in the *Bulinus* from Algarve (Portugal), could suggest a better compatibility with this strain of *S. bovis,* related perhaps with its geographical origin. In the Chad and Egypt groups a mortality of about 20 % was registered in all snail groups. These results seem to be in agreement with the observation of Lengy (7).

At 28º-30º C the mean prepatent period was situated about 18-20 days a term similar to that obtained by Lengy (8). Chu et al. (3) found a period lightly shorter in *Bulinus truncatus* at mean temperatures of 26,5º C.

Compared with the dosage of miracidia, neither the lenght of cercarial incubation nor the production of cercariae showed a marked relation.

Although individual cercarial production is very variable and examples of low cercarial output have been found (9), (1), the small number of cercariae produced by the snails in our experiences contrast with that reported by Lengy (7) and also with the general pattern which show various species of snails infected with *S. bovis* or with other schistosomes (1).

We think that these results could have been especially influenced by the size of the snails, an important factor controlling cercarial production (1), by the temperature at which the snails were maintained after prepatent period and perhaps by the method used in counting cercariae, without keeping the snails for a period in darkness.

Some evidence that the size and temperature probably delayed maturation in the 7th month. On this date (May-June), the surviving snails were sheding 400-600 cercariae, the room temperature had reached about 22º C as mean and the snails were 4-7 mm larger than the initial size.

The relatively long survival of infected *Bulinus* could be related with the low level of cercariæ produced, as Webbe, G. and James, C. (10)), (11) have suggested in studies with *Bulinus* spp infected with *S. haematobium.*

It s also of interest to notice the observation about the possibility to reduce the mortality of *Bulinus truncatus* infected with *S. haematobium* decreasing the maintaining temperature to 25º C and shedding the snails twice weekly (2).

These preliminary observations indicate that *Bulinus truncatus* from diffrent geographical origins are markedly susceptible to the strain of *S. bovis* from Salamanca (Spain). This may be of particular interest considering that the strain of this schistosome has been isolated from *Planorbarius metidjensis,* the only natural intermediate host of parasite found now in that province of Spain, and that this snail caused long ago discussions about its capacity to transmit *Schistosoma haematobium* in Portugal (4), (5), (6).

The possibility of a well transmssion of *S. bovis* by *Bulinus* from distant geographical points was pointed out by Webbe and James (10).

More detailed and controlled studies are needed before establishing species and races of snails with ths strain of *S. bovis.*

Resumo

Bulinus truncatus procedentes de três regiões geograficamente distintas foram expostos a infecção experimental com 5, 10 e 20 miracídios provenientes de uma estirpe de *Schistosoma bovis* de Salamanca.

Os resultados obtidos especialmente em relação ao grau de infecção, mortalidade ao fim de 40 dias, produção de cercárias e sobrevivênca dos boluscos infectados são comparados com os resultados descritos por outros investigadores que usaram um número idêntico de miracídios.

Nas condições da experiência os *Bulinus* estudados mostraram-se moderada e altamente susceptíveis de acordo com o número de miracídios. Salienta-se o facto de nas condições naturais o *S. bovis* ser transmitido pelo *Planorbarius metidjensis.*

REFERENCES

1 — BERRIE, D. A (1970) — Snail problems in African Schistosomiasis. Adv. in Parasitol 8, 43-96.

2 — CAPRON, A.; DEBLOCK, S.; BIGUET, J.; CLAY, A.; ADENIS, L. & VERNES, A. (1965) — Contribution à l'étude experimentale de la bilharziose à **Schistosoma haematobium.** Bull. Org. mond. Santé, 32, 755-778.

3 — CHU, K. Y.; MASSOUD, J. and SABBAGHIAN, H. (1966) — Host-parasite relationship of **Bullnus trun-**

catus and **Schistosoma haematobium** in Iran, 4. Effect of month of infection on cercarial-incubation periods of **S. haematobium** and **S. bovis.** Bull. Wld Health Org., 34, 135-140.

4 — FRAGA DE AZEVEDO and XAVIER SAMPAIO, M. L. (1966) — Um novo vector potencial do **Schistosoma haematobium.** Acad. das Ciências de Lisboa, T. X., 25-53.

5 — FRAGA DE AZEVEDO, J. (1969) — Relations Biologiques parmi les différentes souches geographiques du complexe **Schistosoma haematobium.** Bull. Soc. de Pathol. exotique, 62, 2, 348-375.

6 — FRAGA DE AZEVEDO and XAVIER SAMPAIO, M. L. (1969) — O complexo Molusco-Schistosoma. Jornal da Sociedade das Ciências Médicas de Lisboa, CXXXIII — Maio — n.º 5, 377-405.

7 — LENGY, J. (1962) — Studies on **Schistosoma bovis** (Sonsino, 1876) in Israel. I. Larval stages from egg to cercaria. Bull. Res. Counc. of Israel. Vol. IDE, pp. 1-36.

8 — RAMAJO, M. V. (1972) — Contribución al estudio epizootiológico dela esquistosomiasis bovina **(Schistosoma bovis)** en la provincia de Salamanca. An. Fac. Vet. Léon (Spain), 18, 151-214.

9 — WEBBE, G. (1965) — Transmission of Bilharziasis. 2. Production of cercarias. Bull. Wld. Health Org. 33, 155-162.

10 — WEBBE, G. and JAMES, C. (1971) — Infra-specific variations of **Schistosoma haematobium.** J. Helminth. 45, 403-413.

11 — WEBBE, G and JAMES, C. (1972) — Host-parasite relationships of **Bulinus globosus** and **B. truncatus** with strains of **Schistosoma haematobium.** J. Helminth. Vol. 46, pp. 185-199.

A SIMPLIFIED PERFUSION TECHNIQUE FOR THE RECOVERY OF SCHISTOSOMES FROM LABORATORY ANIMALS *

M. L. Sampaio Silva (1)
J. França Mota (2)

Introduction

For collecting *Schistosomes* from animals experimentally infected, in order to have large number of worms to the preparation of antigens and other studies, we have used to perform every day a great number of autopsies. This, and the recovery of *Schistosomes*, one by one, with needles, were tedious and time consumming work.

The original Faust and Meleney perfusion technique, modified by Yolles et al. [7], proved helpful. Further changes have been made in this technique by other investigators [2, 3, 4], but they require expensive and complex equipment, as well as, skilled technicians.

In the present work, a relatively simple and rapide perfusion technique, that we are currently using in our laboratory, are reported, in the hope that will prove useful to other workers, who may be faced with similar problems.

Material and methods

Equipment

1 — A plastic container with the capacity of 5 liters is set at 1 m above the board, with a tap to which a rubber tube with 1 cm diameter is adapted (Fig. 1). The flux of perfusion liquide in the container is regulated by a Mohr tweezers. At the bottom a needle is attached with 1 mm of outer diameter and 15 mm of length.

2 — A dissecting board to which an alluminum structure in V form is adapted, as is shown in the same (Fig. 1).

3 — The petri dish receives the perfusate liquide with the *Schistosomes*.

4 — Conical sedimentation glasses of 500 ml volume with saline are used to wash the perfusated material.

5 — The perfusion liquid (0,75 % sodium citrate and 0,85 % sodium chloride in destilled water).

6 — The anaesthetic anticoagulant solution (3,000 units of sterile heparine solution to 100 ml of sterile pantobarbital sodium solution — 60 mg/ml).

---

* Paper presented to the III International Congress of Parasitology, Munich, Germany.

(1) Laboratório de Parasitologia. Instituto Nacional de Saúde, Porto, Portugal. Xavier Sampaio, M. L. was a former name used by the first author.
(2) Matadouro do Porto — Portugal.

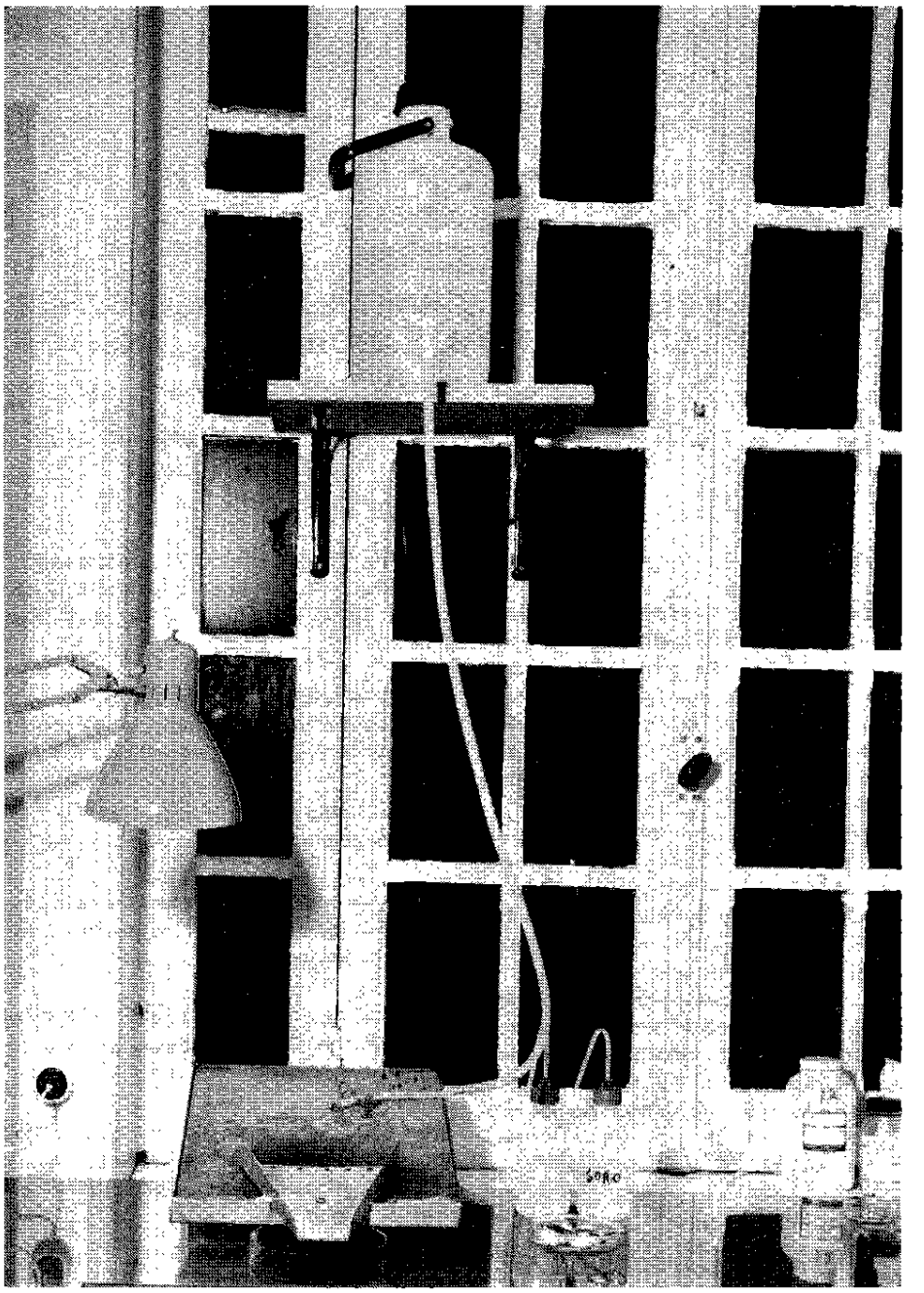


FIG. 1

Equipment for the perfusion technique

Perfusion Technique

The anaesthetic-anticoagulant solution is injected intraperitoneally (0,3 ml for hamster and 0,2 ml for mice).

Anticoagulants such as sodium or calcium citrate or heparin, have been used in *Schistosome* work by different authors. In addition to these coagulants, the collecting of worms from tissues was greatly facilitated by the use of an anaesthetic. The anaesthetic found more suitable in our experiments was sodium pentobarbital.

The anaesthetic anticoagulant solution causes a shift of the worms from mesenteric veins to the portal vein branches in the liver.

In addition to produce the worms shift the dosage used anaesthetized the animals, thus facilitating perfusion and eliminating the necessity of using ether.

The animals are then placed in a supine position (Fig. 2) and after an incision in the skin, over the abdomen, it is grasped up and down with the hands.

After skinnig, the peritoneal cavity is similarly torn open, and the diaphragm and part of the rib cage are removed with scissors (care should be taken not to cut the lungs and liver).

Once the hepatic portal vein is in evidence, a small incision is made in the wall of it. The needle is introduced in the left ventricle (Fig. 3) and the liquid is perfused by loosening the Mohr tweezers.

When the liver lobes are begining to discolor, at ligth massage is convenient to facilitate the coming out of the worms through the incision made in portal vein. The worms are collecting with the perfusated liquid in apetri dish (Figs. 4 and 5).

After the perfusion, the abdominal cavity and the alluminum structure are washed for collecting any remaining worm. The liquid with worms is placed in a conical sedimentation glasse for 5 minutes. After sedimentation the worms are collected and counted on a dissecting microscope before stored for the preparation of antigens or other studies on the biology of *Schistosomes.*

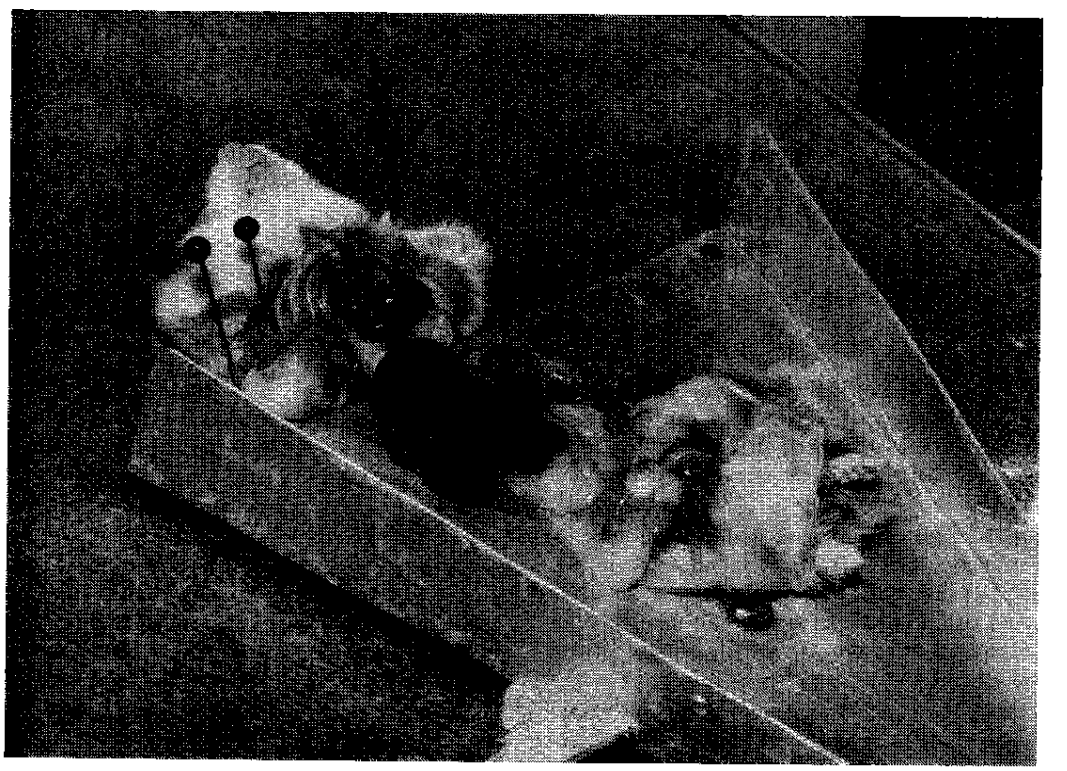


FIG. 2

Hamster in a supine position after incision

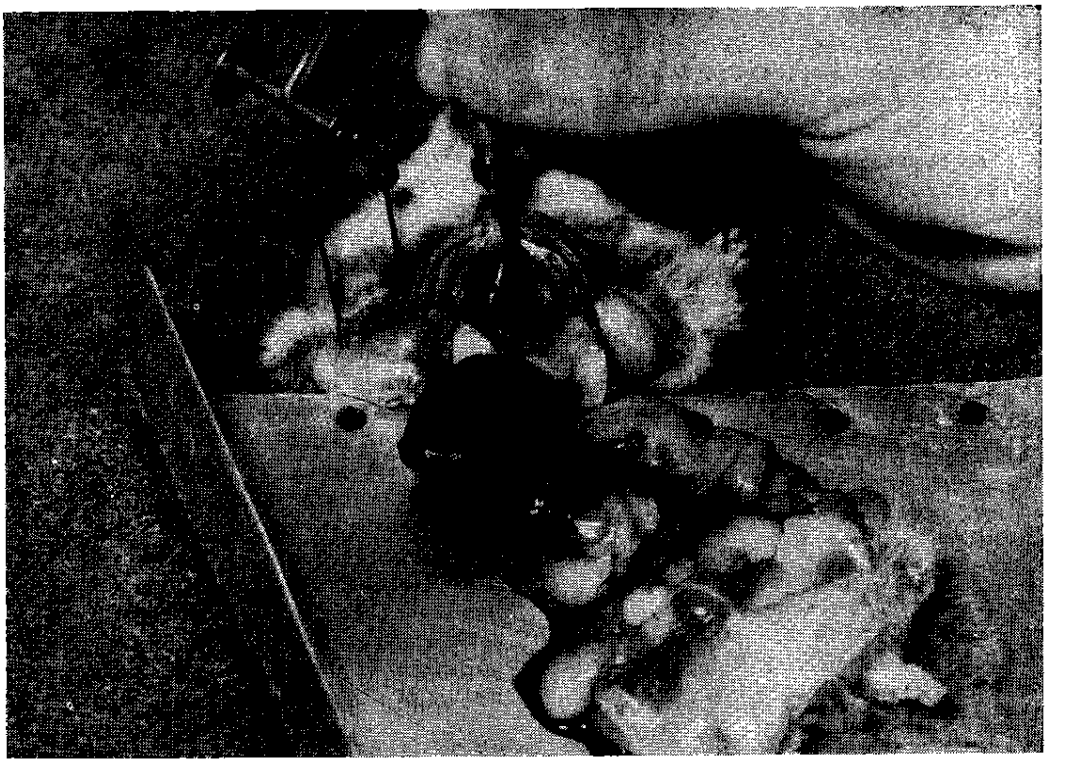


FIG. 3

The needle is introduced in the left ventricle and the liquid is perfused loosing the Mohr tweezers

Comments

This perfusion technique to recover *Schistosomes* from infected animals is an adaptation of different techniques described by other authors, being equally efficient, it is simpler, more economical and requires less skilled techniciens.

We avoid not only the use of the Automatic Pipeting Machine, too expensive, as well as systems based on the gravity force like us, but more complex, including the ligations of organs.

The fact of perfusate liquid being directly introduced into left ventricle and not in the aorta is the most important. By this way we could use a needle of greater diameter providing higher pressure by gravity alone, easing the exit of the worms.

This perfusion technique has an efficiency of 99 % in hamsters and mice. In fact, from about 815 hamsters infected with *Schistosoma haematobium*, we have collected by this technique more than 30,000 worms [5] and from 767 hamsters infected with *Schistosoma bovis* we have collected about 70,000 worms [6], at a rate of 10 minutes per animal. On the same time from 500 mice infected with *S. bovis* about 20,000 *Schistosomes* were recovered.

Summary

The method described is rapid, simple and economical, allowing the recovery of *Schistosomes* from hamsters and mice experimentally infected, for the preparation of antigens and other studies.

A small amount of an anaesthetic anticoagulant is intraperitoneally injected in animals. A small incision is made on he lower wall of the portal vein. The perfusate liquid enters in the left ventricle and not in the aorta, as is done by other investigators. A needle is used of higher gauge than the one for perfusion through the aorta. Perfusion is made by gravity alone. Worms are recovered when coming with the perfusion liquid out of the inci-

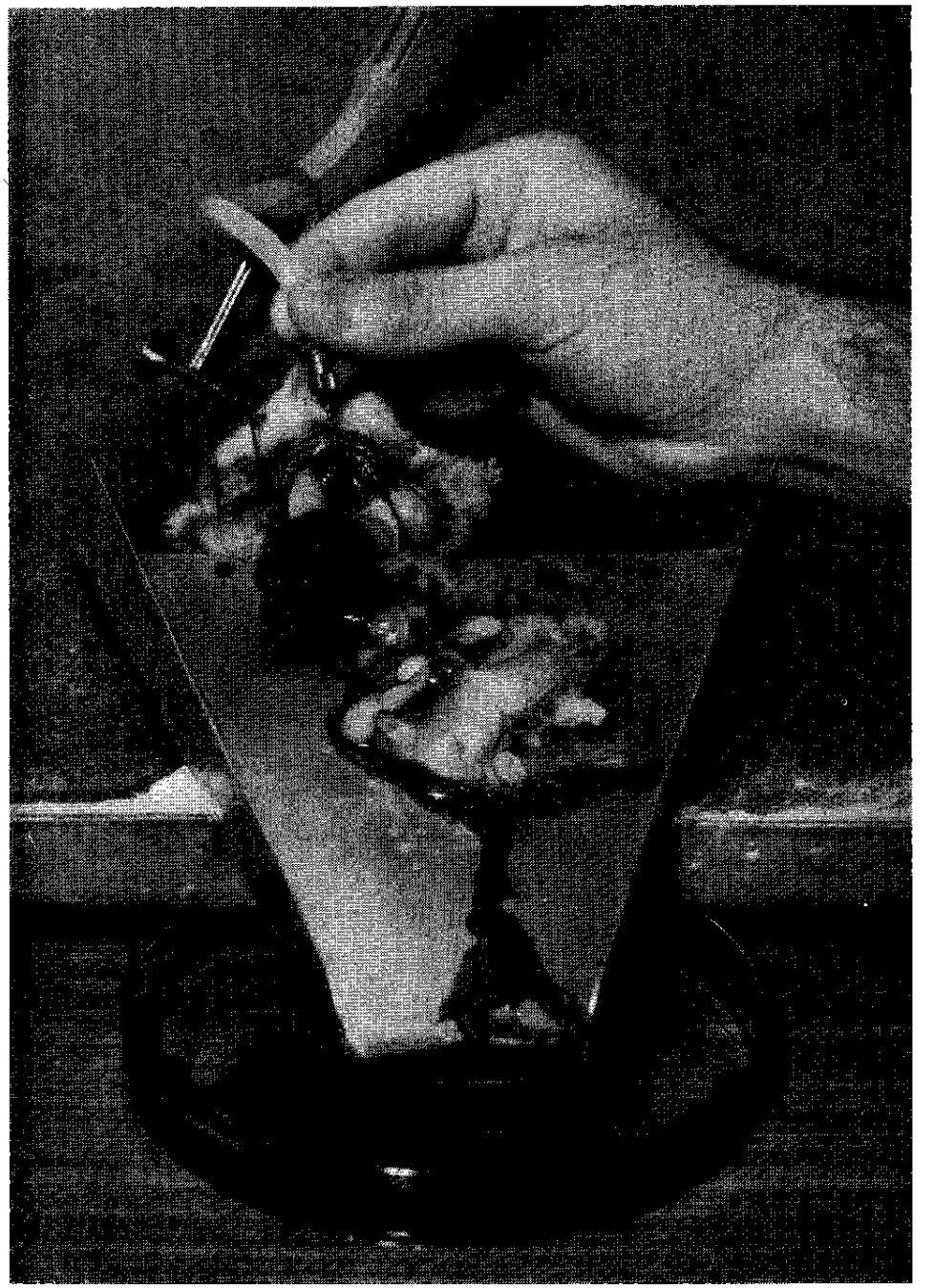


FIG. 4

In the hamster the worms with the perfusate liquid are collected in a petri dish

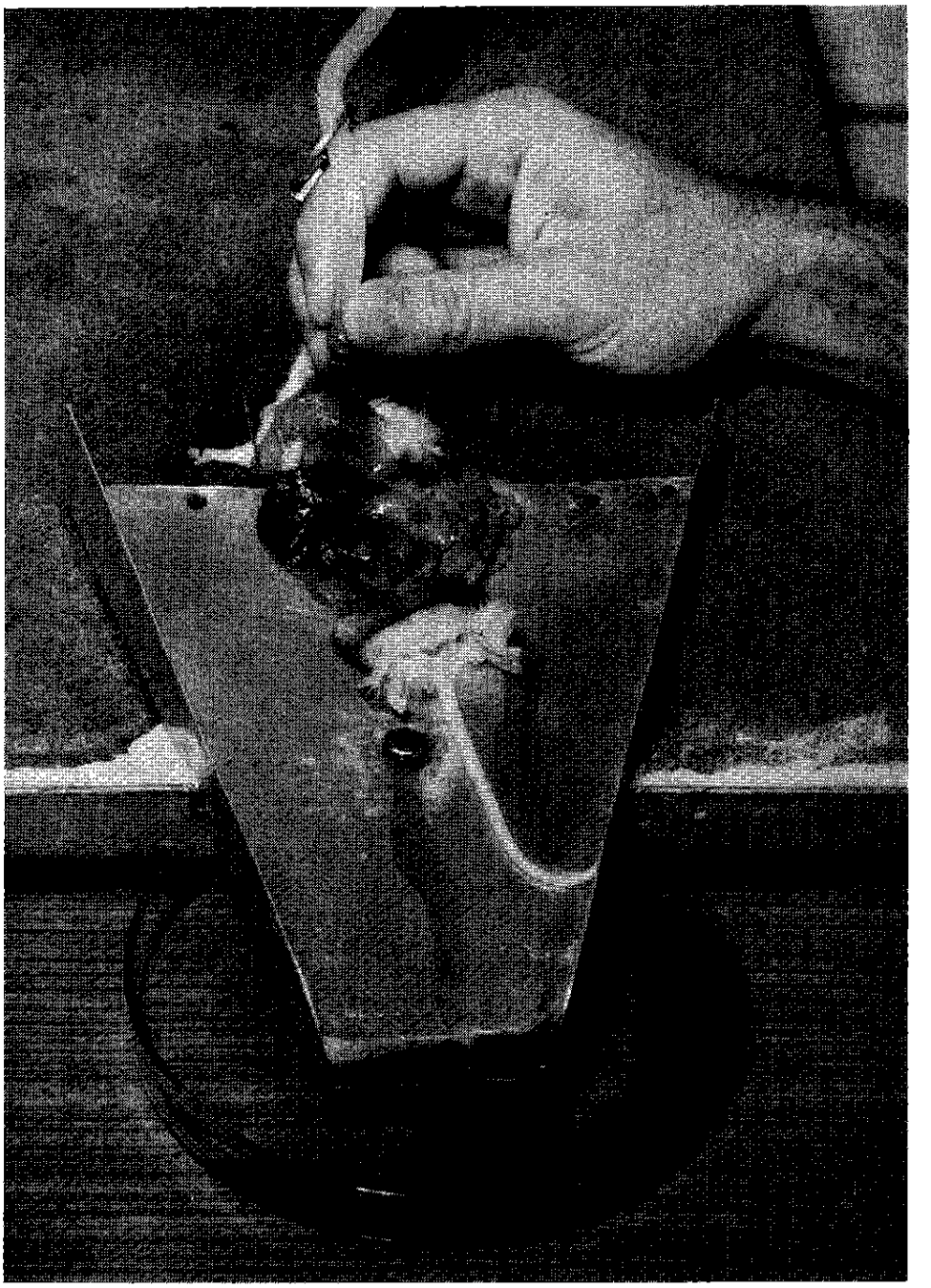


FIG. 5

In the mice the worms with the perfusate liquid are collected in a petri dish

sion performed on the portal vein. The perfusion technique has an efficiency of 99 % for hamsters and mice and, at a rate of 10 minutes per animal, a large number of *Schistosomes* was collected.

Sumário

O método de perfusão descrito é rápido, simples e económico, permitindo a colheita de *Schistosomas* em hamsters e ratinhos experimentalmente infectados, para a preparação de antigénios e outros estudos.

Uma pequena quantidade de solução anestésica anticoagulante é injectada intraperitonealmente nos animais. É feita uma pequena incisão na parede da veia porta. O líquido de perfusão entra no ventrículo esquerdo e não na aorta, como tem sido feito por outros investigadores. Este facto é de grande importância, visto que permite a utilização de uma agulha de maior calibre, o que faz aumentar a pressão do líquido de perfusão, obrigando à saída dos vermes através da incisão feita na veia porta. A técnica apresenta uma eficiência de 99 %, tanto nos hamsters como nos ratinhos, conseguindo-se, em 10 minutos para cada animal, recolher um elevado número de *Schistosomas*.

REFERENCES

1 — FAUST, E. C. and MELENEY, H. E. (1924) — Studies on Schistosomiases japonicum. Amer. J. Hyg. Monog. Series, 3: 1-339.

2 — PAN C. and HUNTER, G. W. (1951) — J. Lab. Clin. Med. 37: 815-816.

3 — PELLEGRINO, J. and SIQUEIRA, F. A. (1956) — Rev. Bras. Mal. e Doen. Trop. Vol. VIII: 588-598.

4 — RADKE, M. G.; BERRIOS-DURAN, L. A. and MORAN, K. — J. Parasit. 47: 366-368.

5 — SILVA SAMPAIO, M. L.; FRAGA DE AZEVEDO, J. and AVELINO, I. C. (1974) — III International Congress of Parasitology, Munich, Germany.

6 — SILVA SAMPAIO, M. L.; SIMON VICENTE, F.; AVELINO, I. . and RAMAJO, M. W. (1974) — III International Congress of Parasitology, Munich, Germany.

7 — YOLLES, T. K.; MOORE, D. V.; DEGINTI, D. L.; RIPSOM, C. A. and MELENEY, H. E. (1947) — J. Parasit. 33: 419-426.

MAINTENANCE IN LABORATORY OF SCHISTOSOMA BOVIS STRAIN FROM SALAMANCA (SPAIN) (1)

M. L. Sampaio Silva *
F. Simon Vicente **
I. C. Avelino *
V. M. Ramajo **

Introduction

The occurence of *Schistosoma bovis* focci in Salamanca, at the border with Portugal, when *Planorbarius metidjensis* is the natural host [3], lead us to study the susceptibility of *P. metidjensis* [4] and *Bulinus contortus* [7] from our country to that strain, using *P. metidjensis* from Salamanca as control. Once succeeded the experimental infection of these snails, we decided, in the present work, to study the adaptation and maintenance of *S. bovis* from Salamanca in our laboratory through sucessive egg to egg passages in hamsters and in the snail populations studied.

So, the aim of this work, was to know if the portuguese snails could be hosts of *S. bovis* in Portugal, and that being achieved to have enough material for immunological studies [6] and other biological observations, in order to study the behaviour of *S. bovis* in laboratory.

Material and methods

The *S. bovis* strain was first isolated in 1970 [3], from a calf naturally infected in Vilar de la Yegua in the Province of Salamanca (Fig. 1).

The portuguese *P. metidjensis* populations come one from Estói and other from Loulé, two little villages in Algarve (South of Portugal) and also from Resenda (North of Portugal) and also from Resende (North of Portudering the province of Salamanca (Fig. 1). The origin of the two spanish *P. metidjensis* populations were Vilar de la Yegua and Valdespino. The snails populations from Algarve had been adapted to our laboratory in Porto since 1969, Sabugal (1972) and Resende (1974); the population from Vilar de la Yegua (1972) and Valdespino (1973).

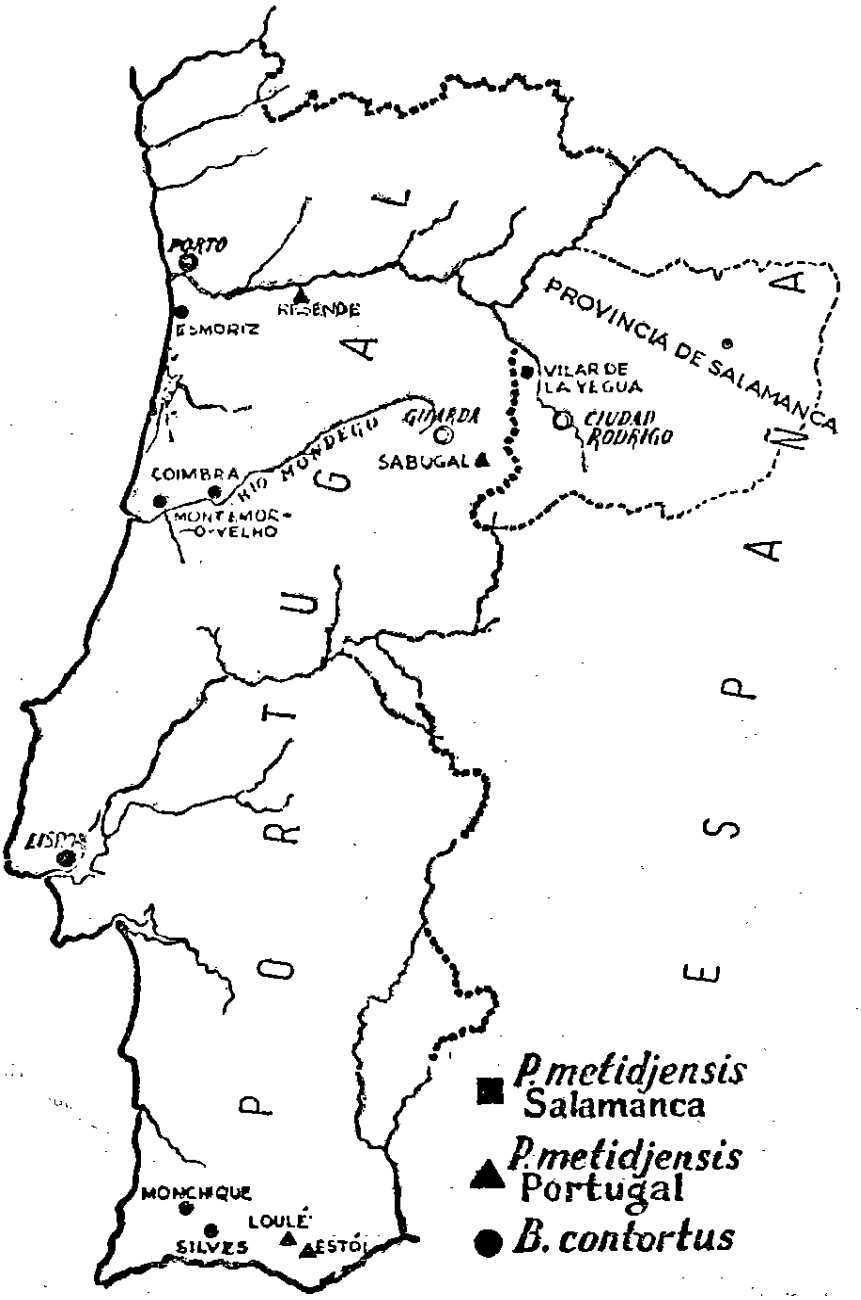
The portuguese *Bulinus* populations, one come from Coimbra (Center of Portugal) and the other from Silves in Algarve (Fig. 1). They were collected in 1964 [1] and 1966 [2], respectively and adapted to our laboratory in Porto since 1969.

---

(1) Paper presented to the Third International Congress of Parasitology, Munich, Germany.

* Laboratório de Parasitologia — Instituto Nacional de Saúde, Porto, Portugal. Xavier Sampaio, M. L., was a former name used by first author.

** Laboratório de Parasitologia — Centro de Edafologia e Biologia Aplicada (C. S. I. C.), Salamanca, Espanha.


PORTO
ESMORIZ
RESENDE
PROVINCIA DE SALAMANCA
VILAR DE LA YEGUA
CIUDAD RODRIGO
GUARDA
SABUGAL
RIO MONDEGO
COIMBRA
MONTEMOR-O-VELHO
LISBOA
MONCHIQUE
LOULÉ
SILVES
ESTÓI
P.metidjensis Salamanca
P.metidjensis Portugal
B. contortus

We use also *Bulinus* from other origins: *B. truncatus* from Tchad and Egypt and *Bulinus (Ph)globosus* from Mozambique.

All snails were reared by method of *Oscollatoria formaso* Bory [9].

The miracidia from the first experimental infection of the snails in Porto, were obtained from eggs of lambs faeces. The lambs were experimentally infected in the laboratory of Salamanca [3]. The miracidia used in sucessive passages after the first one, and in the present experiments, were obtained from experimentally infected hamsters at the laboratory in Porto, by the technique described by Xavier Sampaio, M. L. and al. [4, 8], as well as, the experimental infection of the snails.

From 60 to 80 days the hamsters are perfused to recovery *Schistosomes* by the technique of Silva Sampaio, M. L. and al. [5], the number of males and females are recorded and the worms stored for immunological studies and other observations on the biology of the *Schistosomes*. The hamsters that died were submitted to autopsy, the *Schistosomes* removed and also recorded the number of males and females.

These preliminary studies show that 65 to 80 days is sufficient to allow the adult worms and to have viable eggs in tissues.

As, we noticed that the percentage of viable eggs greater in the liver, than in the intestine, after the third passage, we decidid to obtain miracidia only from the liver.

TABLE I

Maintenance in laboratory of Schistosoma bovis **strain on different** Bulinus **populations in tow years**

Passages	Number of exposed snails	Pre-patent period (days)	Positive Number	Positive Percentage	Prodution cercariae (days)	Cercariae per snail per day	Snail's mortality in 60 days (%)
1st	60	26.5	50	83.3	37	1,195	53.7
2nd	144	27.6	107	74.3	40	1,082	47.2
3rd	165	34.8	40	24.2	36.5	951	74.0
4th	81	31.0	44	54.3	73.6	1,493	49.4
5th	114	29.5	32	28.1	27.7	699	98.2
6th	64	30.3	44	68.8	33	1,762	10.9
7th	136	26.3	53	39.0	23.3	721	89.0
Total	764		370				
Avarage		29.4		48.4	37.2	1,042	65.7

TABLE Ia

Maintenance of Schistosoma bovis **strain in laboratory on different** Bulinus **populations**

Passages	Snails Populations	Number of snails exposed	Pre-patent period (days)	Positive Number	Positive Percentage	Period of elimination (days)	Cercariae eliminated per snail per day	Snail's mortality in 60 days (%)
1st	B. Coimbra	35	26	31	88.6	46	850	51.4
	B. Tchad	25	27	19	76.0	28	1,540	56.0
Total		60		50				
Average			26.4		83.3	38.5	1,137	53.3
2nd	B. Coimbra	30	26	23	75.0	46	1,654	46.6
	B. Tchad	50	30.6	45	90.0	28	1,240	56.0
	B. Algarve	30	26.3	23	75.0	46	1,069	50.0
	B. Moçambique	19	25	9	47.3	40	700	36.8
	B. Egipto	15	30	7	47.0	40	750	26.6
Total		144		107				
Average			27.9		74.3	38.3	1,168	47.2

Results

Concerning the *Bulinus* experimental infection (Table I) in the total of 7 passages about 800 snails were exposed. Positivity rates in percentage were between 83 and 24 with an average of 48, while mortality in 60 days was between 98 e 11, with an average of 66 %. The average of prepatent period and the period of cercariae per snail was between 700 and 1,700 with an average of á,000. More detailed data were in Table I-a (1st to 2nd passage), in Table I-b (3rd to 4th passage) and in Table I-c (4th to 7th passage).

TABLE Ib

Maintenance in laboratory of Schistosoma bovis strain from Salamanca (Spain) in different Bulinus populations

Passages	Snail population	Number of exposed snails	Pre-patent period (days)	Positive Number	Positive Percentage	Cercariae production (days)	Cercariae per snail per day	Snail's mortality in 60 days (%)
3rd	B. Coimbra	55	31.3	16	29.0	50	1,078	74.5
	B. Tchad	46	39.5	20	43.5	43	1,500	50.0
	B. Algarve	63	34.5	3	4.8	22	160	92.0
	B. Moçambique	1	34.0	1	100.0	31	1,066	0
Total		165		40				
Avarage			36.6		36.2	43.9	1,220	73.9
4th	B. Coimbra	35	32.3	19	54.3	81	1,512	54.3
	B. Tchad	29	29.8	15	51.7	70	1,081	48.3
	B. Algarve	17	31.0	10	58.8	70	1,887	41.2
Total		81		44				
Avarage			31.1		54.4	74.7	1,450	49.5

TABLE Ic

Maintenance in laboratory of Schistosoma bovis strain from Salamanca (Spain) in different Bulinus populations

Passages	Snail population	Number of exposed snails	Pre-patent period (days)	Positive Number	Positive Percentage	Cercariae production (days)	Cercariae per snail per day	Snail mortality in 60 days (%)
5th	B. Coimbra	47	34.5	15	31.9	51	1,350	95.7
	B. Tchad	29	23.0	3	10.3	15	203	100.0
	B. Algarve	38	31.0	14	39.5	17	727	100.0
Total		114		32				
Average			30.4		33.2	32.7	970	98.2
6th	B. Coimbra	35	31.6	30	85.7	23	809	97.1
	B. Tchad	22	29.3	11	50.0	46	2,387	45.0
	B. Algarve	7	30.0	3	42.8	30	2,090	85.7
Total		64						
Average			30.6	44	74.0	29.2	1,291	78.0
7th	B. Tchad	51	28.3	14	27.5	17	933	88.2
	B. Algarve	70	24.5	36	51.4	40	868	94.2
	B. Moçambique	15	26.0	3	20.0	14	363	100.0
Total		136		53				
Average			26.1		43.3	32.4	857.0	93.0

Concerning the experimental infection in *P. metidjensis* (Table II), more than 400 snails were exposed. The average of positivity rates and the mortality in 60 days was about 50 %. The average of prepatent period was 33 days, 65 %. From the hamsters infected in the different passages we could recover by the perfusion technique [5] a total of 74,000 *Schistosomes* (48,000 males and 26,000 females), for immunological studies and other observa-

TABLE II

Maintenance of Schistosoma bovis **strain in laboratory on different** P.metidjensis **populations in two years (1st to 7th passage)**

Passages	Number of exposed snails	Pre-patent period (days)	Positive Number	Positive Percentage	Cercariae production (days)	Cercariae per snail per day	Snail mortality in 60 days (%)
1st	10	28	3	30.0	26	1,066	40.0
2nd	136	48.7	27	26.8	25.3	145.8	59.5
3rd	114	35.0	36	33.0	37.2	419.2	47.9
4th	94	32.2	51	54.9	83.5	1,425	26.6
5th	21	29	12	57.1	25	196	90.4
6th	15	30.5	6	40.0	40.5	425	40.0
7th	80	25.3	48	70.7	48.8	325.4	48.7
Total	470		183				
Average		33		49.8	50.5	273.3	48.6

The 8th passage on P.metidjensis has been reached in June 1974; but it is still in study.

TABLE IIa

Maintenance in laboratory of Schistosoma bovis **strain from Salamanca (Spain) in different** P.metidjensis **populations (1st to 3rd passages)**

Passages	Snails Populations	Number of pasodxe snails	Pre-patent period (day)	Positive Number	Positive Percentage	Cercariae production (days)	Cercariae per snail per day	Snail mortality in 60 days (%)
1st	P. V. d'Yegua	76	28	3	30.0	26	1,066	40.0
	P. V. d'Yegua	40	47.5	23	30.2	27.3	139	60.5
2nd	P. Estoi	20	60.3	2	5.0	15	270	50.0
	P. Sabugal	136	51.0	2	10.0	12.0	100	75.0
Total		10		27				
Average			48.7		26.8	25.3	145.8	59.5
	P. V. d'Yegua	18	28.5	3	16.6	30	483	50.0
3rd	P. Estoi	76	36.4	27	35.5	36	413	36.4
	P. Loulé	20	32	6	30.0	46.5	415	90.0
Total		114		36				
Average			35.0		33.0	37.2	419.2	47.9

the period of cercariae production 50 days and the number of cercariae per snail per day was about 300. More. detailed data were in Table II-a (1st to 3rd passage) and in Table II (4th to 7th passage).

In the experimental infection of hamster (Table III) with a total of almost 800 animals exposed from 100 to 600 cercariae 95 % were positive with a surviving rate in 60 days of tions on the biology of *S. bovis*. More detailed data were in the Table III-a (1st to 3rd passage) and III-b (4th to 7th passage).

From the hamsters we have in each passage viable eggs and miracidia enought to infect a total of 1,200 snails, 764 *Bulinus* (Table I) and 470 *Planorbarius* (Table III) with 30 miracidia per snail, that it is, at last, 36,000 miracidia.

TABLE IIb

Maintenance in laboratory of Schistosoma bovis strain from Salamanca (Spain) in different P.metidjensis populations (1st to 3rd passages)

Passages	Snails populations	Number of exposed snails	Pre-patent period (days)	Positive Number	Positive Percentage	Cercariae production days	Cercariae per snail per day	Snail mortality in 60 days (%)
	P. V. d'Yegua	30	34	19	63.3	98	878	20.0
4th	P. Estoi	35	27	18	51.4	105.5	2,335	25.7
	P. Loulé	29	36.6	14	48.3	35.3	996	34.5
Total		94		51				
Average			32.2		54.9	83.5	1,425	26.6
5th	P. V. d'Yegua	21	29	12	57.1	25	196	90.4
6th	P. V. d'Yegua	15	30.5	6	40.0	40.5	425	40.0
	P. V. d'Yegua	23	25	10	43.5	28	158	100.0
7th	P. Estoi	34	24.5	15	44.1	45.5	577	44.1
	P. Resende	23	26	23	100.0	60	234	4.3
Total		80		48				
Average			25.3		70.7	48.8	325.4	48.7

TABLE III

Total numers of six passages on exposed hamsters to Schistosoma bovis strain from Salamanca in two years

Passages	Number of exposed animals			Number Percentage		Worms per	Survival (days)
	+	—	+ (%)	Males	Females	animal	Average
1st	43	2	83.7	5,527	4,130	224.8	55.3
2nd	114	4	96.3	6,408	3,486	86.7	59.0
3rd	156	3	98.8	9,246	4,631	89.1	60.4
4th	171	4	97.7	8,884	3,916	104.9	66.4
5th	113	7	94.2	3,172	1,878	59.2	82.4
6th	170	1	99.4	14,697	8,043	133.9	63.8
Total	767	21		47,934	26,084		65.2
Average			95.0			116.4	

The 7th passage on hamster has been reached in June, 1974, but is still in study.

Discussion

The results show that all the snails populations studied are susceptible to *S. bovis* strain from Salamanca. However, as the average of positivity rates, number of cercariae shed, etc. is quite similar between the *Bulinus* and *P. metidjensis* populations, it is difficult to know which of them is more susceptible to *S. bovis*. The same happened among the *Bulinus* from different origins, as well as between *P. metidjensis* populations from Portugal and Salamanca.

The high susceptibility of *P. metidjensis* from Resende and the low rates of Sabugal snails, cannot be considered yet. In fact, the first population was collected only this year and exposed the first time in the 7th passage and, the last one, is not adapted to our laboratory in Porto. We need more detailed studies on this subjet to know if they are different and if these differences are significant.

Concerning the experimental infection of the hamsters the results show no decrease in positivity rates, total number of worms, miracidia number, etc., but only variations, which didn't affect the maintenance of *S. bovis* strain in laboratory till 7th passage. In fact in the 6th passage the index of infection was still of 69 % and in he 7th passage we had a sufficient number to infect 136 molluscs.

TABLE IIIa

Three first passages on exposed hamsters to S. bovis strain from Salamanca (Spain)

Passages	Number cercariae per animal	Number of exposed animals +	—	+ (%)	Number of worms Males	Females	Worms per animal	Survival (days) Average
1st	600	6	1	85.7	2,629	1,675	717	60.0
	500	37	1	97.3	2,898	2,455	145	54.5
Total		43	2		5,527	4,130		
Average				83.7			224.8	55.2
2nd	600	2	0	100.0	28	21	25	Killed
	500	46	3	93.0	3,737	2,194	129	51.0
	300	39	0	100.0	1,263	816	53	64.5
	200	19	0	100.0	1,123	379	79	61.5
	100	8	1	88.0	257	77	42	72.0
Total		114	4		6,408	3,486		
Average				96.3			86.7	59.0
3rd	600	4	0	100.0	394	176	143	50.0
	500	116	1	99.9	6,917	3,516	90	54.0
	300	21	0	100.0	997	470	70	94.0
	200	15	2	88.2	938	469	94	66.0
Total		156	3		9,246	4,631	89.1	
Average				98.8				60.4

TABLE IIIb

Passages on exposed hamsters to Schistosoma bovis strain from Salamanca (4th; 5th and 6th)

Passages	Cercariae number per	Number of exposed animals +	—	% (%)	Number of worms Males	Females	Worms per animal	Survival (days) average
4th	500	148	4	97.4	7,753	3,433	108	75.5
	400	2	0	100.0	68	64	66	57.0
	300	1	0	100.0	1,063	419	87	68.0
Total		171	4		8,884	3,916		
Average				97.7			104.9	66.4
5th	500	110	7	94.0	2,972	1,760	58	83.0
	400	3	0	100.0	200	118	106	62.0
Total		113	7		3,172	1,878		
Average				94.2			59.2	82.4
6th	500	114	1	99.1	10,805	6,856	155	65.0
	400	56	0	100.0	3,892	1,187	91	61.5
Total		170	1		14,697	8,043		
Average				99,4			133,9	63.8

Although the sex-ratio shows a variation between 1/1 and 3/1 with an average of 2/1, this didn't affect also the maintenance of *S bovis* in laboratory so far.

The period of complete egg to egg passage is about 13 weeks, so, we had 8 passages in two years with a production of about 75,000 *Schistosomes* to prepare antigens for immunological studies.

Conclusions

What we feel that it is more relevant is that *S. bovis* strain of Salamanca can be sucessfully adapted and maintained in any of the snails populations studied.

As, portuguese snails populations of *Bulinus* and *P. metidjensis* have a large area of distribution in Portugal (Fig. 1), including the snails from Sabugal, village in the border with

Vilar de la Yegua (Salamanca), this is a serious treat to Portugal. In fact, in the areas where the susceptible snails are found, focci like ones of Salamanca may occur. Then, it seems imperative to study the bovine population in the border with Salamanca and other areas, where the snails were collected from, in order to known if the disease exists in our country.

Resumo

Foram apresentados os resultados preliminares da adaptação e manutenção durante quase dois anos consecutivos da estirpe de *Schistosoma bovis* de Salamanca (Espanha). A manutenção desta estirpe feita através de sucessivas passagens de ovo a ovo em hamsters e algumas populações portuguesas de *P. metidjensis* e *Bulinus contortus,* iniciou-se em Maio de 1972, data em que se conseguiu pela primeira vez a infecção experimental destes moluscos com aquela estirpe. Este estudo incluiu também *Bulinus* de outras origens e *P. metidjensis* de Salamanca, a única espécie de molusco até agora encontrada naturalmente infectada nos focos de *S. bovis* de Salamanca.

A partir de 1200 moluscos expostos infectaram-se 370 (48 %) *Bulinus* e 183 (50 %) *P. metidjensis* que eliminaram mais de 500 000 cercárias. Dos 767 hamsters expostos a estas cercárias infectaram-se 95 %, dando origem a um total de 74 000 *Schistosomas,* a partir dos quais preparámos antigénio para estudos imunológicos. Os resultados que incluem 7 passagens sugerem que, nas condições da experiência, a estirpe de *S. bovis* pode manter-se facilmente em laboratório, através de sucessivas passagens em hamsters e em qualquer das populações de moluscos estudada.

Por outro lado, apresentando as populações de *Bulinus* e de *P. metidjensis* uma larga área de distribuição é possível, nas áreas onde existem estas espécies susceptíveis, a ocorrência de focos de *S. bovis* semelhantes aos encontrados na província de Salamanca. Nestas condições é importante fazer-se o estudo dos bovinos na fronteira com Salamanca e outras áreas, com o objectivo de averiguarmos se a esquistossomíase bovina existe no nosso País.

Summary

Preliminary results are presented on adaptation and maintenance for almost two years consecutive in laboratory of *Schistosoma bovis* from Salamanca (Spain). Maintenance of this strain is done through sucessive egg to egg passage in hamsters and some portuguese populations of *P. metidjensis* and *Bulinus contortus,* starting in May 1972, date of the first experimental infection sucessfully made on these molluscs by that strain. This study also includes *Bulinus* from other origins and the Salamanca *Planorbarius metidjjensis* population, the only mollusc species so far known to have been naturally infected at the Salamanca focci of *S. bavis.*

From a total of 1,200 molluscs exposed, 370 (48 %) *Bulinus* an d183 (50 %) *P. metidjensis* were infected, allowing the production of more than 500,000 cercariae. From 767 hamsters exposed to these cercariae 95 % were positive and originated a total of 74,000 Schistosomes. From these worms, antigens were produced for imunological studies. The results, which include six passages suggest that in the conditions described *S. bovis* strain can be easily maintained in laboratory, through sucessive passages in hamsters and in any of the studied molluscs populations.

On the other hand, as portuguese snails populations of *Bulinus* and *P. metidjensis* had a large area of distribution in Portugal, in the areas where these susceptible snails are found, focci like ones of Salamanca province may occur. So, it is important to study the bovine population in the border with Salamanca and other areas, in order to know if the esquistossomiasis bovie exists in Portugal.

REFERENCES

1 — FRAGA DE AZEVEDO, J. and XAVIER SAMPAIO, M. L. (1965) — An. Inst. Med. Trop. **22** (1/4): 35.

2 — FRAGA DE AZEVEDO, J.; XAVIER SAMPAIO, M. L.; MATTOS DOS SANTOS, M. A. and AVE INO, I. C. — Jor. Soc. Cien. Med., Lisboa, Tomo CXXXIII; 607.

3 — RAMAJO, M. V. (1972) — Rev. Iber. Paras. **32** (3/4): 207.

4 — SILVA SAMPAIO, M. L.; SIMON VICENTE, F.; AVELINO, I. C. and RAMAJO, M. V. (1974) — Proceedings of V European Congress of Malacology, Milão.

5 — SILVA SAMPAIO, M. L. and MOTA, J. F. (1974) — Proceedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

6 — SILVA SAMPAIO, M. L.; CAPRON, A. and WILKINS, C. (1974) — Proceedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

7 — SIMON VICENTE, F.; SILVA SAMPAIO, M. L.; RAMAJO, M. V. and AVELINO, I. C. (1974) — Proceedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

8 — XAVIER SAMPAIO, M. L. and FRAGA DE AZEVEDO, J. (1965) — An. Inst. Med. Trop. **22** (1/4): 35.

9 — XAVIER SAMPAIO, M. L.; FRAGA DE AZEVEDO, J. and AVELINO, I. C. (1968) — Bull. Soc. Path. Edot., Tomo 61: 52.

MAINTENANCE OF SCHISTOSOMA HAEMATOBIUM STRAIN IN LABORATORY (1)

M. L. Sampaio Silva *

I. C. Avelino **

Introduction

We showed in 1965 [6] and 1969 [7] that two portuguese populations of *Bulinus confortus* from the Center and South of Portugal (Fig. 1) are very susceptible to *Schistosoma haematobium* from Guinea. This has allowed the adaptation and maintenance of this strain more than three years in our laboratory through sucessive passages in those populations using hamsters as definitive host. Later on, it has been possible to study the adaptation of such strain in *Bulinus truncatus* from Tchad.

The main purpose of this work was not only to confirm the capacity of the portuguese *Bulinus* to act as host of *S. haematobium* in Portugal, but also to have enough material for immunological studies [11] and other biological observations on the behaviour of *S. haematobium* in laboratory.

Material and methods

The B. contortus populations used in this work wese collected, one in 1962 in Coimbra (Center of Portugal), and the other in 1966 in Algarve (South of Portugal), but only in 1968 it could be rear with sucess by the method of *Oscillatoria formosa* Bory, described by us in 1968 [19] (Fig. 2). The *Bulinus truncatus* from Tchad are adapted to our laboratory since 1967 through sucessive passages, using the same method.

The miracidia used in forst infection were obtained from urine of negro patients from Guinea in the Hospital do Ultramar in Lisboa. The technique to obtain miracidia from urines were already described by us in 1965 [6, 18] and 1969 [7].

Experimental infecction of snails

Each snail, one month old was placed in a tube (1×1,5 cm) and exposed to 25 to 30 miracidia (after counting them under a dissecting microscope), for a period of six hours. Then they are transferred to rearing jars with Oscillatoria and maintained at 28º to 30º C in semi-darkness until shedding carcariae. On the 20th day the snails are flused with water at 23º C in a screen and placed individualy in a glass containing 1 ml of water and in-

(1) Paper presented to the Third International Congress of Parasitology — Munich, Germany.

* Serviço de Parasitologia — Instituto Nacional de Saúde — Porto, Portugal. Xavier Sampaio, M. L. was a former name used by the first author.

** Cadeira de Entomologia e Helmintologia — Instituto de Medicina Tropical — Lisboa, Portugal.

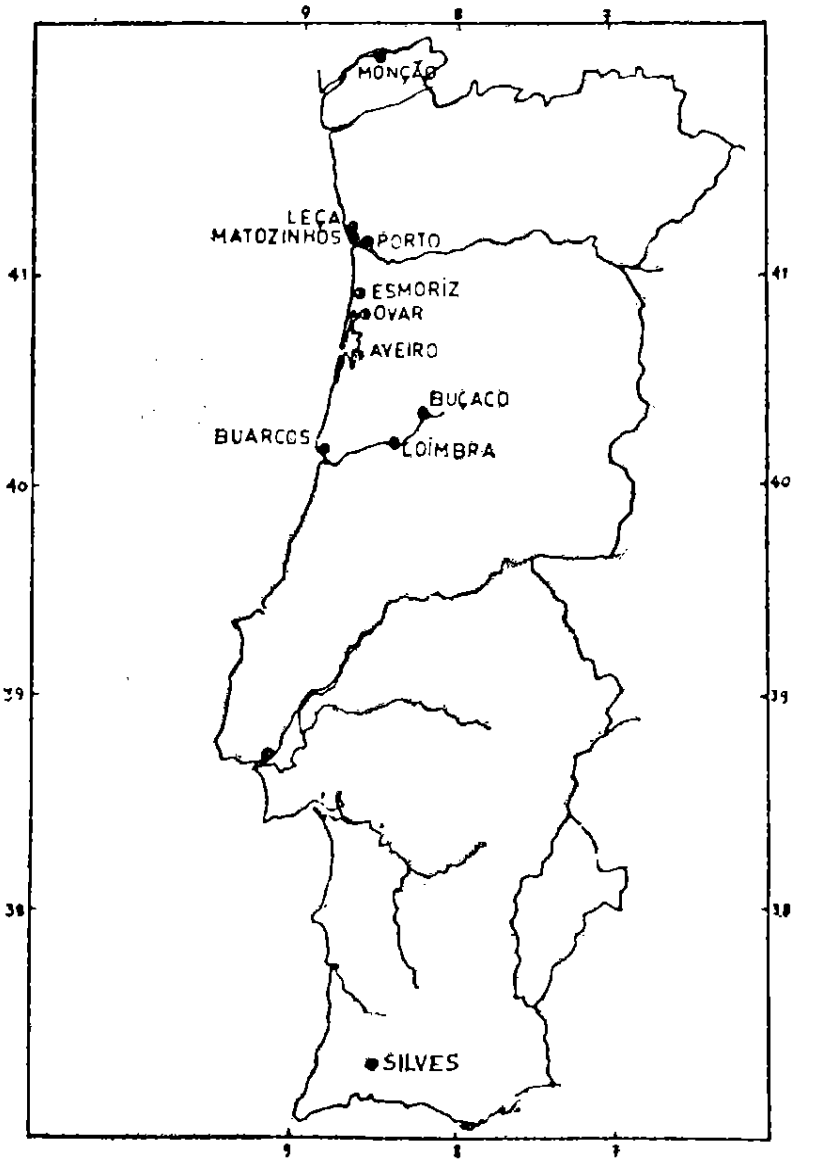


FIG. 1

Distribution in Portugal of **Bulinus contortus**

FIG. 2
Method of **Oscillatoria formosa** Bory used in the snails culture

FIG. 3
In the hamsters the **Schistosomes** with the perfusate liquid are collected in a petri dish

cubated at 37º C for 30 minutes, in order to shed cercariae. After screening the positive snails from negatives, the positive ones, of the same group, are gathered in a beaker with 10 ml of water and placed 30 cm below a 100 watts lamp to complete the shedding cercariae. For counting the cercariae after stirring them, 1 ml of the suspension in taken and multipied by the total volume of water. We colleced the cercariae twice a week.

Experimental infection in hamsters

Hamsters 2 to 3 month old were exposed to cercariae suspension of 500 to 600 cercariae with 20 ml of water in a covered glass jars (8×9 cm) for one hour. On 90th to 120th day the hamsters were perfused (Fig. 3) by the technique described by Silva Sampaio, M. L. et al. [12]. After we have recorded the number of males and females, they are stored for antigens and other studies.

Then the liver, the small intestine with mesenteric system and blader were removed and homogenised separately with saline in a blender to obtain eggs from the tissues and the miracidia, by the technique described in 1965 [6, 18] and 1969 [7].

The hamsters died before perfusion data were submitted to autopsy, the *Schistosomes* removed and the number of males and females was also recorded.

Results

Our preliminary studies showed that:

- 500 to 600 cercariae was the best number to infect hamsters.
- 90 to 120 days is the best period to allow the worms to reach maturity and to have viable eggs in tissues.
- The number of miracidia obtained from eggs in the tissues of liver, mesenteric system, and bladder was different. It is in mesenteric system, mainly at the colo-sigmoiders, that we observed the most high percentage of viable eggs and so the miracidia. These results agree with the ones obtained by Capron, A. et al. [3].

Concerning the experimental infection of *Bulinus* from Coimbra, on a total of 7 passages more than a thousand were exposed (Table I).

TABLE I

Maintenance in laboratory of Schistosoma hæmatobium **strain from Guinea in** Bulinus contortus **from Coimbra**

Passages	Number of exposed snails	Percentage of positive snails	Prepatent period in days	Number of cercariae per snail per day	Period of cercariae production (days)	Percentage of mortality in 60 days
1st	380	56.5	39	990	75	31.6
2nd	210	57.1	30	630	60	42.9
3rd	200	35.0	45	350	41	32.5
4th	100	10.0	39	125	50	40.0
5th	80	25.0	41	112	30	50.0
6th	50	14.0	45	105	25	56.0
7th	10	—	—	—	—	—
Total	1.030					
Average		45.0	43.7		61.6	37.2

Positivity rates were between 10 and 57 % with the average of 45 %, while mortality in 60 days was between 32 and 56 %, with an average of 37 %. The prepatent peirod was between 30 and 45 days with an average of 43 days, while the number of cercariae per snail per day was between 105 and 990.

More than 400 hemsters (Table II) were exposed in 6 passages to 500 cercariae per animal with infection rates between 25 and 72 % with an average of 60 %; the mortality rates in 120 days were between 26 and 67 % with an average of 34 %. From these hamsters we could recover by our perfusion technique more than 15,000 worms about (9,000 males and 7,000 females). The number of worms per animal was 24 and 75, with an average of 56.

Data from experimental infection on *Bulinus* from Algarve was quite similar to thase from Coimbra, but concerning *Bulinus* from Tchad we notice some differences. In a total of 360 snails exposed (Table III) we are reached the 3rd passage complete with an average of positivity rate of 32 % and a mortality rate of 42 %. The average of prepatent period and period of ceacrariae production were 41 and 49 days respectively. The number of cercariae per snail per day was between 96 and 2,000.

A total of 322 hamsters (Table IV) were exposed in 3 passages with an infection rate of 71 % and a mortality in 120 days about 38 %. The total number of worms was about 10,000 (6,000 males and 4.000 females), being the average number of worms per animal al-

TABLE II

Hamsters experimentally infected with Schistosoma haematobium **strain from Guinea**

Passages	Exposed animals (1)	Percentage of positive animals	Number of worms Males	Number of worms Females	Number of worms Total	Number of worms per animal	Percentage of mortality in 120 days
1st	250	72.0	5.702	4.798	10.500	58.3	36.0
2nd	100	48.0	2300	1.300	3.600	75.0	26.0
3rd	60	48.3	410	300	710	24.5	33.3
4th	20	25.0	200	120	320	64.0	40.0
5th	6	33.3	50	35	85	42.5	66.7
6th	4	25.0	25	10	35	35.0	50.0
Total	440		8.687	6.563	15.250		34.0
Average		60.3				57.6	

(1) Cercaries of **Bulinus truncatus** from Tchad.

TABLE III

Maintenance in laboratory of Schistosoma hæmatobium **strain from Guinea in** Bulinus truncatus **from Tchad**

Passages	Number of exposed snails	Percentage of positive snails	Prepatent period in days	Number of cercariae per snail per day	Period of cercariae production (days)	Percentage of mortality in 60 days
1st	210	42.9	41	1.904	54	30.0
2nd	96	20.8	40	120	42	67.7
3rd	54	22.2	45	96	21	46.3
Total	360					
Average		32.3	41.2		48.7	42.5

most 43 %, so, from a total of 2,500 molluscs and 815 hamsters exposed to infection, more than 35,000 *Schistosomas* were recovered, allowing the preparation of antigens for immunodiagnosis and immunological studies.

viable eggs and miracidia did not allow to pass the 6th and 7th passage in hamsters infected with cercariae from portuguese *Bulinus* and the 3rd in the ones infected with cercariae of *Bulinus* from Tchad.

TABLE IV

Hamsters experimentally infected with Schistosoma haematobium **strain from Guinea**

Passages	Exposed animals (1)	Percentage of positive animals	Number of worms			Number of worms per animal	Percentage of mortality in 120 days
			Males	Females	Total		
1st	270	79.6	5.796	3.506	9.302	43.3	35.2
2nd	50	20.0	394	209	603	60.3	52.0
3rd	2	50.0	30	10	40	40.0	57.1
Total	322		6.220	3.725	9.945		
Average		71.0				42.9	37.9

(1) Cercariae of **Bulinus contortus** from Coimbra.

Discussion

The results show that both *Bulinus* populations from Portugal and the one from Tchad, were susceptible to *S. haematobium* from Guinea, but while with *Bulinus* from Coimbra and Algarve we have reached the 7th and 6th passage respectively, with *Bulinus* from Tchad we reached the 3th passage only.

The average of positively rates and the number of the cercariae from all studied populations were higher in two first passages than in the others. After the 2nd passage it begun to decrease, and, at the 3rd in *Bulinus* from Tchad and at the 4th in portuguese *Bulinus* this decrease was very sharp. The same was occured with the hamsters experimentally infected. So, the low rates of infected animals,

In *Bulinus* from Tchad the high number of cercariae in the first passage, compaired with the ones from portuguese *Bulinus* let us to expect that *Bulinus* from Tchad would be more susceptible to *S. haematobium* from Guinea and a high number of passages would be easily reached. However, there was a decay of rates so sharp that, only the 3rd passages was possible to reach, what it is difficult to explain.

The difficulty to maintain *S. haematobium* strain in laboratory outside endemic areas, for routine purpose is well known. Brumpt in 1926 was the first to try the complete cycle in laboratory. Other authors have also tried that (Stundkart, H. D. [17], Standen, O. D. [16], Cram et al. [5] and Moore, O. V. et al. [10]). However, nor Brumpt nor the other authors could maintain the *S. haematobium* strain continuourly,

through sucessive egg to egg passages in laboratory. In Europe only Capron, A. et al.[3] reach the 5th passage in a strain from Algeria with *B. truncatus* from Corsega, during two years, and ourselves reach the 7th passage with the strain of Guinea in portuguese *B. contortus*, in three years.

The difficulty to maintain the *S. haematobium* strain in laboratory could be explained:

1 — *Schistosoma haematobium* is a strain more adapted to humans, than to the other hosts. In fact, the high rates obtained in first passage as we show in this work, mainly in *Bulinus* from Tchad, suggest that the miracidia of human origin is more virulent than those obtained through sucessive passages in hamsters. The race of humans could be also important because we have noticed, by own experience, that it is easier to infect the *Bulinus* studied with miracidia from eggs of negro patients than from white patients from Guinea.

2 — The hamster is a good host for *S. haematobium* as is showed by us in 1965[6, 18] and Caprin, A. et al.[3] in the same year. However, it is possible to find another host better than hamsters and so it must be done more experiences in this field.

3 — The number of cercariae produced per snail per day was lower than ones obtained by *S. mansoni* or *S. bovis*. As we show in this work the number 150 cercariae shed by *Bulinus* from Portugal and Tchad is very low when we compare with the number of 5,830 cercariae shed by *Biompthalaria glabrata* from Brasil infected with *S. mansoni* from Brasil[20] on the number of 1,042 cercariae in *B. truncatus* of Portugal with *S. bovis* from Salamanca[10, 11].

4 — The prepatent period in *Bulinus* and hamsters infected with *S. haematobium* is longer than in *S. mansoni* and *S. bovis*. In fact, we need 150 to 160 days for reaching one complete passage egg to egg in *S. haematobium*, while for *S. mansoni* and *S. bovis* are needed 80 to 90 days only. So, in a year we have only two or two and half passages in *S. haematobium*, comparing with fice to fice and half in *S. mansoni* and *S. bovis*.

5 — At last, the susceptibility of *B. contortus* from Coimbra and Algarve to *S. haematobium* from Guinea showed by us in 1965[6] and 1969[7], was confirmed in present work by the maintenance of this strain in our laboratory to the 6th and 7th passages in those populations. That is is very important on the epidemiology of Schistosomiasis haematobium in our country, because other focci like the ones described by different authors from 1923 2, 9 to 1948[8] in Algarve, may occur now, not only in Algarve, but also in Coimbra and other areas of Portugal where we found *B. contortus*[6, 7].

This is specially serious, when we know in 1972 by Coutinho da Costa[4] that, during the period of 1963 to 1970, came back from Guinea, Angola and Mozambique more than 14,000 portuguese soldiers with Schistosomiasia haematobium, from with, more than 60 % were been without medical control.

As we notice in the present work, in order to maintain in laboratory the strain of *S. haematobium* for routine purposes, more studies are needed to clarify the biology of *S. haematobium* and its relationship with intermediates and definitive hosts.

Sumário

Duas populações portuguesas de *Bulinus contortus* do Centro e Sul de Portugal demonstraram elevada susceptibilidade ao *Schistosoma haematobum* da Guiné. Este facto permitiu a adaptação e manutenção desta estirpe de *Schistosoma* ao laboratório através de sucessivas passagens naqueles moluscos e em hamsters. Posteriormente, foi tentada a manutenção daquela estirpe em *Bulinus* do Tchad, conseguindo atingir-se a 7.ª passagem nos *Bulinus* portugueses e a 3.ª nos *Bulinus* do Tchad.

São descritos métodos e discutidos aspectos biológicos da infecção experimental dos moluscos e dos hamsters, para explicar as dificuldades da manutenção da estirpe de *S. haematobium* em laboratório, por um período prolongado.

Foram, todavia, obtidos 36 315 vermes a partir de 2500 moluscos e 815 hamsters expostos à infecção, o que permitiu a preparação de antigénios em quantidade suficiente para a realização de estudos imunológicos e outras observações sobre a biologia do *S. haematobium*.

Observaram-se variações nas diferentes passagens, tanto na percentagem de moluscos infectados e número de cercárias eliminadas, como na percentagem de hamsters infectados, número de vermes obtido e percentagem de ovos viáveis, verificando-se uma diminuição daqueles valores, sobretudo a partir da 4.ª passagem nos *Bulinus* portugueses e da 2.ª para a 3.ª passagem nos *Bulinus* do Tchad.

Summary

Two portuguese populations of *Bulinus contortus* from the Center and South of Portugal show high susceptibility to *Schistosoma haematobium* from Guinea. This has allowed the adaptation and maintenance of the strain of *Schistosoma* in laboratory through sucessive passages in these molluscs and in hamsters. Afterwards it has been possible to try the maintenance of that strain in *Bulinus* from Tchad too with the *Bulinus* from Coimbra and Algarve we have reached the 7th passage, but with *Bulinus* from Tchad we reached the 3rd passage only.

Methods are described and biological details of experimental infection of molluscs and hamsters are discussed, to explain difficulties on maintainning *S. haematobium* in the laboratory, for a long time.

However, from a total of 2,500 molluscs and 815 hamsters exposed to infection 36,315 worms were recovered, allowing the preparation of antigens for immunological studies and others on the biologie of *S. haematobium*.

Nevertheless variations were noticed with the different passages, concerning percentage of infected molluscs, number of cercarise shed, percentage of infected hamsters, number of worms recovered and percentage of viable eggs, they are being progressively diminuished specially after the fourth passage in portuguese *Bulinus* and from 2nd to 3rd passage in *Bulinus* ffrom Tchad.

REFERENCES

1 — BRUMPT, E. et WERBLUNSKY, S. (1928) — Bull. Soc. Path. exot. **21**: 8.

2 — BETTENCOURT, A.; BORGES, I. and SEABRA, A. (1923) — J. Sc. Mat. Fis. e Nat., Lisboa, **4**: 7.

3 — CAPRON, A.; DUBLOCK, S.; BIGUET, J.; CLAY, L. and VERNES, A. (1965) — Bull. O. M. S., **32**: 755.

4 — COUTINHO DA COSTA, F. — An. Apevedo, **21** (1): 9, 1970.

5 — GRAM, E. B.; FILES, V. S. and JONES, M. F. (1947) — Bol. Nat. Inst. of Health, **81**: 189.

6 — FRAGA DE AZEVEDO, J. e XAVIER SAMPAIO, M. L. (1965) — An. Inst. Med. Trop. **22**: 1-4, 35-47.

7 — FRAGA DE AZEVEDO, J.; XAVIEE SAMPAIO, M. L.; MATTOS DOS SANTOS, M. A. and AVELINO, I. C. (1969) — J. Soc. Cien. Med. Liceboa, tomo CXXXIII **8**: 607.

8 — FRAGA DE AZEVEDO, J.; SILVA, J. B.; COITO A. F. and COLAÇO, A. (1948) — An. Inst. Med. Trop. **5**: 175-222.

9 — FRANÇA, C. (1923) — J. Sc. Mat. Fis. e Nat., Lisboa, **4**: 163.

10 — MOORE, D. V. and MELENEY, H. E. (1954) — J. Parasit. **40**: 392.

11 — SILVA SAMPAIO, M. L.; CAPRON, A. and WILKINS, A. (1974) — Proccedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

12 — SILVA SAMPAIO, M. L. and MOTA, J. F. (1974) — Proccedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

13 — SILVA SAMPAIO, M. L.; SIMON VICENTE, F.; AVELINO, I. C. and RAMAJO, M. V. (1974) — Proccedings of V Congresso Europeu de Melecologia, Milão.

14 — SILVA SAMPAIO, M. L.; SIMON VICENTE, F.; RAMAJO, M. V. and AVELINO, I. C. (1974) — Proccedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

15 — SIMON VICENTE, F.; SILVA SAMPAIO, M. L.; RAMAJO, M. V. and AVELINO, I. C. (1974) — Prosceedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

16 — STANDER, O. D. (1949) — An. Trop. Med. and Paras. **43**: 268.

17 — STUNKART, H. W. (1946) — J. Parasit. **32**: 539.

18 — XAVIER SAMPAIO, M. L. and FRAGA DE AZEVEDO, J. (1965) — An. Inst. Med. Trop. **22**: (1/4); v5-47.

19 — XAVIER SAMPAIO, M. L., FRAGA DE AZEVEDO, J. and AVELINO, I. C. (1968) — Garcia de Orta, Série Zool., Lisboa, 2 (1): 25.

INTÉRÊT DE L'UTILISATION DES ANTIGÈNES HOMOLOGUES DANS LE SERODIAGNOSTIC DES BILHARZIOSES PAR LA TECNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE SUR COUPES À LA CONGÉLATION *

T. Kien Truong (1)
M. Mojon (1)
M. S. Tran (1)
M. L. Sampaio Silva (2)

Aux IX Congrès de Médecine Tropical et du Paludisme à Athènes en 1973 [3], nous avons signalé dans un travail préliminaire l'intérêt de l'utilisation de l'antigène de *Schistosoma haematobium* dans le sero diagnostique de la bilharziose vésical par la technique d'immunofluorescence indirecte sur coupes à la congélation. Ces études vient à la suite des travaux réalisés em 1969 [6] par Pothier, M. A. et Xavier Sampaio, M. L., qui ont appliqué pour la première fois cette technique dans le diagnostic sérologique de la bilharziose à *S. haematobium*. Ils ont étudié aussi les sérums de bilharziens urinaires, face aux antigènes de *S. haematobium* et de *Schistosoma mansoni* et ont démontré que les sérums réagissent plus intensement avec l'antigène homologue [5].

Nous apportons dans le présent rapport des résultats, portant sur un nombre plus élevé de sérologie completés par une étude comparative des taux d'anticorps des sérums de bilharziens intestinaux, obtenus sur les deux antigènes *S. mansoni* et *S. haematobium*.

Matériel et méthodes

L'antigène de *S. haematobium* (S. h.) provient d'hamsters infectés au laboratoire, par successives passages dans hamsters et *Bulinus* du Portugal et du Tchad.

L'antigène de *S. mansoni* (S. m.) provient d'une souche de *S. mansoni* du Brésil adaptée et entretenue au laboratoire de Parasitologie de Lyon par successives passages dans souris et *Biomphalaria glabrata* du Brésil.

Les sérums proviennent de deux catégories de malades: soit de cas cliniques diagnostiqués par les méthodes parasitologiques habituelles (présence d'oeufs dans les urines où dans les matières fécales où les pièces bio-

---

* Présenté au Third International Congress of Parasitology, Munich, Germany.

(1) Institut de Parasitologie — Faculté de Médecine de Strasbourg, France.
(2) Serviço de Parasitologia — Instituto Nacional de Sade, Porto, Portugal. Antéreiurement — M. L. Sampaio Xavier.

psiques), soit de sujets vivant au Maroc dans une zone d'endemie exclusive de bilharziose vésical.

Dans le premier cas, les sérums sont obtenus par une ponction veineuse classique et dans le second par la microméthode de prélèvement sanguin préconisée par l'un de nous (tubes capillaires et papier buvard) [2]. La répartition des malades est consignée dans le Tableau I.

TABLEAU 1

Sero-diagnostic	Enquête sero-epidemiologique
Bilharziose vesicale 270 cas diagnostiqués a Lyon 18 cas au Portugal 4 cas à Strasbourg	286 sujets vivant dans une region à endemie exclusive de bilharziose vesicale à *(S. haematobium)*
Bilharziose intestinale a S. Mansoni 128 cas diagnostiqués a Lyon	

La réaction d'immunofluorescence indirecte a été éffectuée suivant les modalités classiques exposées à plusieurs reprises dans nos publications antérieurs [1, 4, 5, 6]. Nous précisions simplement que, dans ce travail, les antigènes sont constitués par des coupes justaposées à la congélation, de vers adultes de *S. mansoni* et de *S. haematobium*. Ceci nous a permis de réduire de moitié le temps de manipulation et, surtout, d'être sûr, des conditions identiques dans lesquelles les deux réactions sont exécutées.

La recherche des oeufs dans les urines se fait par simple décantation dans un verre à pied et en une seule fois.

Résultats et conclusions

Les résultats portant sur 292 cas de bilharziose urogénitale (le Lyon, Portugal et Strasbourg), 128 de bilharziose intestinal diagnostiqués à Lyon et 266 sujets d'une région endémique de bilharziose vésical (Tableau I) sont représentés par:

— L'enquête séro-épidémiologique dans le Tableaux 2 et 3.

L'antigène homologue (S. h.) fournit une pourcentage de positivité de 87,76 %, l'antigène hétérologue (S. m.) 85,71 % et la présence d'oeufs dans les urines est de 81,11 %.

TABLEAU 2

Enquête séro-épidémiologique. Pourcentage des sujets atteints

Techniques	Nombre	Pourcentage
I. F. antigène *S. haematobium*	251/286	87,76
I. F. antigène *S. mansoni*	240/285	35,71
Présence d'oeufs dans les urines (recherche unique) . .	232/286	31,11

TABLEAU 3

Enquête séro-épidémiologique. Resultats de l'immunofluorescence sur antigènes
S. haematobium **et** S. mansoni **dans la bilharziose vésicale**

Sh \ Sm	NEG.	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	TOTAL
NEG.											
10	2	2									4
20	1	10	11								22
40	4	12	8	4							28
80	2	18	12	6	8						46
160	1	6	10	5	9	7					38
320	1	8	6	7	6	6	5				39
640			5	8	4	8	5	4			34
1 280				2	2	4	4	3			15
2 560						2	3	2	4		11
5 120						1	2	1	3	3	10
10 240									1	3	4
TOTAL	11	56	52	32	29	28	19	10	8	6	251

— Les sérums des malades atteints de bilharziose vésicale dans le Tableau 4.

Les pourcentages de positivité 96,58 % et 88,70 % pour l'antigène homologue (S. h.) et l'antigène hétérologue (S. h.) respectivement.

TABLEAU 4

Sero-diagnostic de la bilharziose vésicale. Resultats de l'immunofluorescence sur antigènes S. haematobium et S. mansoni

Sh \ Sm	NEG.	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	TOTAL
NEG.	10										10
10	9	2									11
20	8	15	4								27
40	3	23	5								31
80	3	16	16	10	5						50
160		9	12	7	7						35
320		8	4	24	8	10	2				56
640			3	10	14	5	6	4			42
1 280				2	4	6	4	1			17
2 560						2					2
5 120						1	1	3	2		7
10 240									1	2	3
20 480										1	1
TOTAL	33	73	44	53	38	24	13	8	3	3	292

— Les sérums des bilharzioses à *S. mansoni* dans le Tableau 5.

Les pourcentages de positivité 96,88 % aves l'antigène homologue (S. m.) et 89,85 % aves l'antigène hétérologue (S. h.).

2 — l'emploi de l'antigène homologue apporte une sensibilité accrue.

— Sur le plan serodiagnostique, l'antigène homologue (S. h.) apporte un gain de sensibilité appréciable: 95,88 % contre 88,70 % fournit par l'antigène hétérologue (S. m.). Cette différence est constante et peut atteindre cinq dilutions et reste importante même aux cas ou les anticorps fluorescents sont faiblement positives ou négatives avec l'antigène hétérologue (S. m.).

TABLEAU 5

Sero-diagnostic de la Bilharziose intestinale. Resultats de l'immuno-fluorescente sur antigenes S. Mansoni **et** S. Haematobium

Sh \ Sm	NEG.	10	20	40	80	160	320	640	1280	5120	2560	10 240	20 480	40 960	61 920	TOTAL
NEG.	4	5	3			1										13
10		3	10	1	2											16
20			4	10	8	1										23
40				6	11											17
80					4	15		1								20
160						3	8	2								13
320							4	4	1							9
640								3	5	1						9
1 280										1	1					2
2 560											1					1
5 120												2				2
10 240												1				1
20 480														1		1
40 960															1	1
TOTAL	4	8	17	17	25	20	12	10	6	2	2	3	0	1	1	128

Les titres d'anticorps fluorescents obtenus permettent tirer les conclusions suivantes:

— Appliquée à une enquête séro-épidémiologique, l'immunofluorescence indirecte s'avère trés intéressente à deux titres:

1 — sa commodité grâce à la microtechnique plus précise de prélèvements sanguins car elle fournit dans ces conditions des résultats satisfaisants;

— L'utilisation de l'antigène homologue dans la bilharziose intestinal à *S. mansoni* par contre ne présente pas des résultats tout à fait similaires. En effet, si la différence de titres d'anticorps

fluorescents entre les deux antigènes reste réelle (96,88 % contre 89,85 %), elle demeure faible ne dépassant pas trois dilutions, sauf dans un cas. Cet inconvénient n'a pas de conséquence grave sur le plan pratique.

Résumé

À la suite des études réalisés en 1969 et 1973, sur l'application de la technique d'immunofluorescence indirecte sur coupes à la congélation dans le sérodiagnostique de la bilharziose vésical, utilisant l'antigène *(Schistosoma haematobium)* et l'antigène hétérologue *(Schistosoma mansoni)*, dans le présent travail, les auteurs, portant sur un nombre plus élevé de sérologie completés par une étude comparative des taux d'anticorps des sérums des bilharziens intestinaux, obtenus sur les deux antigènes *S. haematobium* et *S. mansoni*, confirment, l'intérêt de l'utilisation de l'antigène homologue dans le serodiagnostique des bilharzioses étudiées.

Resumo

Depois dos estudos realizados em 1969 e 1973, sobre a aplicação da técnica de imunofluorescência indirecta sobre cortes de congelação no serodiagnóstico da bilharziose vesical, utilizando o antigénio homólogo *(Schistosoma haematobium)* e o antigénio heterólogo *(Schistosoma mansoni)*, os autores, no presente trabalho, dispondo de um maior número de soros, puderam completar aqueles trabalhos com um estudo comparativo das taxas de anticorpos de soros de doentes de bilharziose intestinal, face aos antigènios de S *haematobium* e de *S. mansoni*, confirmando o interesse da aplicação do antigénio homólogo no serodiagnóstico das bilharzioses estudadas.

BIBLIOGRAPHIE

1 — COUDERT, J.; GARIN, J. P.; AMBROISE-THOMAS, P.; POTHIER, M. A. et KIEN TROUNG, T. — Diagnostic sérologique par immunofluorescence sur coupes à la congélation de l'infection à **Schistosoma mansoni**». Acta Trópica, **2**, 109-132, 1968.

2 — KIEN TRUONG, T. et AMBROISE-THOMAS, M. P. — «Nouvelle technique de microprélevements sanguins pour les réactions d'immunifluorescence». Bull. Ass. Dipl. Microbiol. Nancy, **111**: 29-33, 1969.

3 — KIEN TRUONG, T.; SILVA SAMPAIO, M. L.; MOJON, M. et ZEMMOURI, R. — «Étude comparative de la réaction d'immunofluorescence sur antigènes homologue et heterologue dans la bilharziose vesical». IX Congrès de Médecine Tropical et de Paludisme, Athènes, 1973.

4 — POTHIER, M. A. — «Le serodiagnostic de la bilharziose par une nouvelle technique d'immunofluorescence sur coupes à la congelation de **S. mansoni**». Thèse Médecine, Paris, 1967.

5 — POTHIER, M. A. et XAVIER SAMPAIO, M. L. — «Le serodiagnostic de la bilharziose par une technique d'immunofluorescence sur coupes à la congelation de **Schistosoma mansoni** et de **Schistosoma haematobium**. C. R. Acad. Sc. Paris, t. 269; 603-609, 1969.

6 — POTHIER, M. A. et XAVIER SAMPAIO, M. L. — «Premiers résultats à propos du diagnostic sérologique de la bilhardiose par immunofluorescence sur coupes à la congelation de **Schistosoma haematobium**». Ann. Parasit. (Paris), t. **44**, n.° 4, 387-390, 1969.

7 — SILVA SAMPAIO, M. L.; FRAGA DE AZEVEDO, J. and AVELINO, I. C. — «Maintenance of **Schistosoma haematobium** strain in the laboratory». III International Congress of Parasitology, Munich, 1974.

COMPARATIVE STUDY OF SCHISTOSOMA HAEMATOBIUM, SCHISTOSOMA BOVIS AND SCHISTOSOMA MANSONI ANTIGENS (1)

M. L. Sampaio Silva *
A. Capron **
A. Wilkins ***

Introduction

In spite of numerous studies on schistosome antigens [1, 2, 3, 4] a precise knowledge of antigenic structure concerning mainly species specific antigens is still lacking.

The work was undertaken to compare the antigenic structure of *S. haematobium, S. bovis* and *S. mansoni* in order to identify specific antigens of each species and to evaluate their practical implications in immunodiagnosis of schistosomiasis.

Material and methods

a) **Antigens**

Soluble antigens extracts are prepared according to previously described procedures [2, 4], using adult schistosomes recovered from infected hamsters. These extracts are used for immunization of rabbits and performance of gell diffusion.

Cryocut sections of adult worms were used for immunofluorescence studies.

b) **Sera**

The sera from 58 patients infected with *S. hæmatobium* and, from 44 hamsters experimentaly infected with *S. hæmatobium, S. mansoni* and *S. bovis,* were used in this study.

Anti-*S. hæmatobium,* anti-*S. bovis* and anti-*S. mansoni* sera, were prepared by hiperimmunization of rabbits according previously to methods described in other papers [2, 4].

The human sera come 18 from Mozambique and 48 from Gambia. The results of Mozambique sera were confirmed by the parasitological analysis and the sera of Gambia come from an endemic area of *S. haematobium.*

---

(1) Paper presented to «Third International Congress of Parasitology», Munich, Germany.

* Serviço de Parasitologia — Instituto Nacional de Saúde — Porto, Portugal. Xavier Sampaio, M. L. — former name used by this author.

** Centre d'Immunologie et de Biologie Parasitaire — Faculté de Médecine — Lille, France.

*** Medical Research Council — Fagara — Gambia — West Africa.

c) **Experimental infection in hamsters**

The hamsters exposed to 600 cercariae were submited to perfusion after 90,60 and 45 days for *S. haematobium, S. bovis* and *S. mansoni,* respectively.

Infection with *S. haematobium*

The cercariae come from a strain of *S. bovis* of Salamanca (Spain), adapted and maintained by successive passages in the hamsters and *Planorbarius metidjensis* and *Bulinus truncatus* of Portugal and other origins, since 1971 [9], in the Porto Laboratory.

Infection with *S. bovis*

The cercariae come from a strain of *S. haematobium* of Guinea, adapted and maintained by successive passages in the hamsters and *Bulinus truncatus* of Portugal and other origins, since 1970 [8], in the Porto Laboratory.

Infection with *S. mansoni*

The cercariae come from a brasilian strain of *S. mansoni* adapted and maintained by successive passages in hamsters and *Biomphalaria pfeifferi* from Brasil, since 1960 in the Laboratory of Lille.

d) **Methods**

As immunelectrophorese, immunofluorescence techniques were largely described in other papers [2, 4, 6, 11], it is not necessary to describe them with detail, in this work.

Only we remind that, immunoelectrophoretic studies are performed in agarose gel, veronal buffer pH 8,2 and indirect immunofluorescence on cryocut sections with anti-human or anti-hamster labelled globulins. Evans blue was used as current stain.

Geometrical mean reciprocal titer (GMRT) was calculated in each experiment by the formule of Waugh [12].

$$GMRT = \frac{\text{anti log n log x}}{N}$$

We use the Radke perfusion technique [7] for recovery of *S. mansoni* worms at Lille Laboratory and this technique modified by M. L. Sampaio Silva and al. [10], for *S. haematobium* and *S. bovis* at Porto Laboratory.

Results

I — The comparative study of antigens and identification of species specific components were first carried out with rabbit hyperimmune sera. 21 to 23 diferent antigen components were identified in *S. mansoni, S. hæmatobium* and *S. bovis* antigens, as is shown in Fig. 1.

The study of cross-reactions is summarized

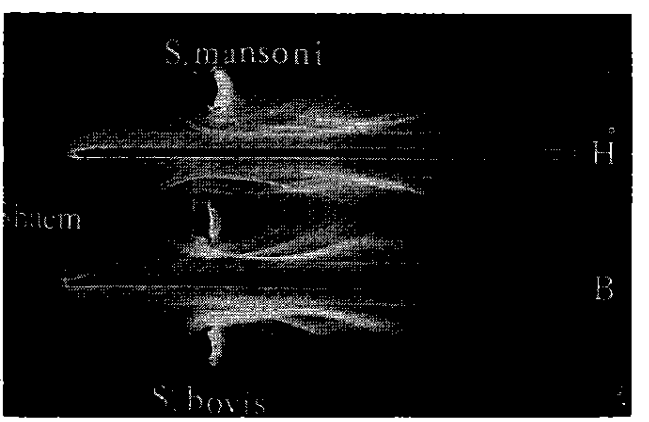


FIG. 1

Cross-reaction between **S.mansoni, S.haematobium** and **S.bovis,** showing a great number of antigens components

in Table I. Our results grossly indicate a close relationship between the three species, more marked between *S. hæmatobium* and *S. bovis*, than between *S. haematobium* and *S. mansoni* or *S. bovis* and *S. mansoni*.

II — Immunoelectrophoretic analysis showed that besides antigens common to the three species of *schistosomes*, among which band 4 is genes specific and highly immunogenic, several components were only identified by homologous anti-serum.

These observations were confirmed by cross-absorption test: sera of rabbits immunized with *S. hæmatobium* were absorbed with *S. mansoni* and *S. bovis* extracts and then studied with the antigens of the three species (Figs. 2, 3, 4 and 5).

— *S. mansoni* differed from *S. haematobium* by 3 antigenic components and by 6 from *S. bovis*.

— *S. haematobium* differed from *S. bovis* by 2 components and by 3 from *S. mansoni*.

S. haematobium appeared therefore antigenically closer to *S. bovis*, than *S. mansoni*.

These cross-absorption tests had morover led to the identification of species-specific antigens: band 12 was shown to be specific of *S. haematobium*, band 8 of *S. mansoni* and band 9 of *S. bovis* (Figs. 2 to 5).

III — The validity of these results was assaied by the study of precipitating antibodies in infected hamsters (Fig. 6 and 7). 28 to 30 (93 %) hamsters infected with *S. hæmatobium* (Table II) were found to have precipitigns against *S. mansoni* and *S. hæmatobium*, with a mean number of precipiting system which was respectively 3.5 and 5.4. Band 12 was found in 24 sera with *S. hæmatobium* antigens (Table III). On 14 sera of hamsters infected with *S. bovis* (Table IV), 11 (78,5%) were found positive with the homologous antigen and 10 (71 %) with *S. hæmatobium* antigen, with a mean number of precipiting systems non significantly different between both antigens. In order to confirm this observation a comparative study was carried out by immunofluorescence test using cryocut sections of *S. mansoni*, *S. hæmatobium* and *S. bovis* adult worms. Table II summarizes the results obtained with sera of hamsters infected with *S. hæmatobium* and Table IV the results with *S. bovis* animals. It can be seen from these results that G. M. R. T. was higher when the homologous antigen was used and that *S. bovis* and *S. haematobium* antigen gave very close results.

Then our investigation was extended to human sera (Fig. 8 and 9). In *S. hæmatobium* schistosomiasis (Table V), 45 sera were studied. 26 (57,5 %) were found positive, with a mean number of 1.7 bands, when *S. mansoni* was used, whereas 34 sera (75,7 %) were found positive with 2.1 with *S. hæmatobium* antigens. The G. M. R. T. was also higher when homologous antigen was used but it should be noted that, even in this case, G. M. R. T. was considerably higher in *S. mansoni* than in *S. hæmatobium* infections. This may be explained by the fact that in the study of *S. hæmatobium* infections with the *S. bovis* antigen, a lower number of sera has been used.

TABLE I

Cross-reactions of hyperimmune rabbit sera

Antigen \ Anti serum	S.h	S.b	S.m
S. haematobium	21	20	18
S. bovis	20	22	16
S. mansoni	19	16	22

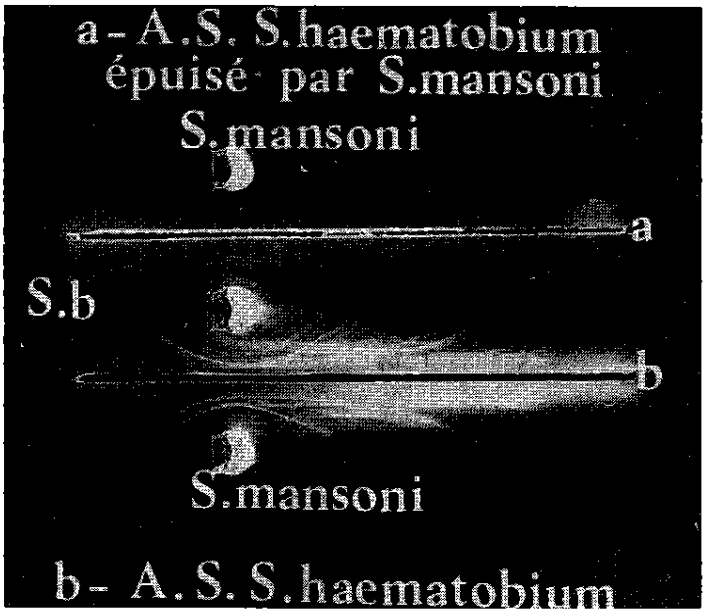


FIG. 2

Cross-reaction between **S.mansoni and S.haematobium** showing the band 8 (specific of **S.haematobium**) and band 4 (specific of **schistosomes**)

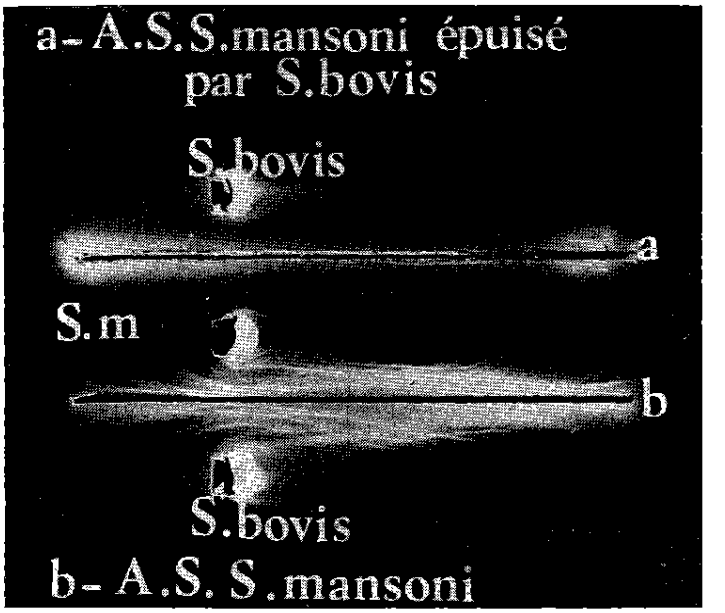


FIG. 3

Cross-reaction between **S.mansoni** and **S.bovis. In S.mansoni** the band 4 and 8; in **S.bovis,** the band 9 specific for **S.bovis**

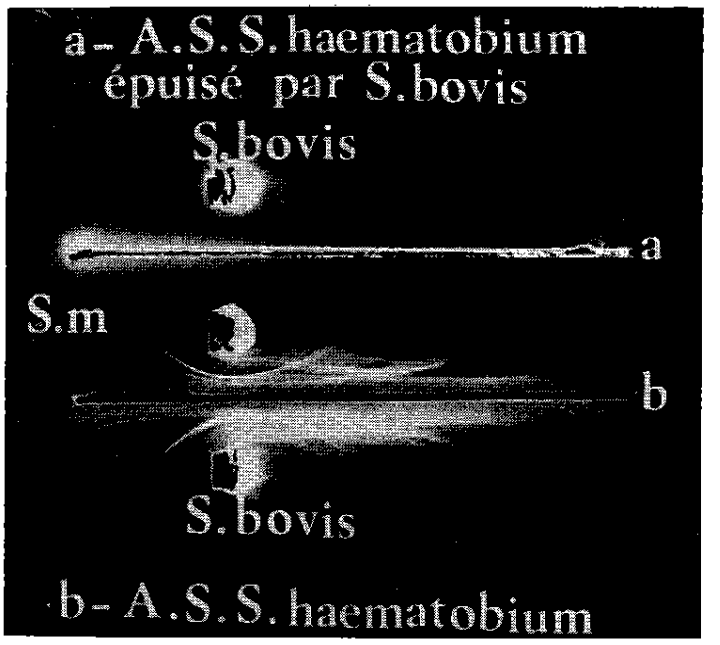


FIG. 4

Cross-reaction between **S.haematobium** and **S.bovis.** In **S.bovis** the band 9 specific and in **S.haematobium** band 4 and 12.

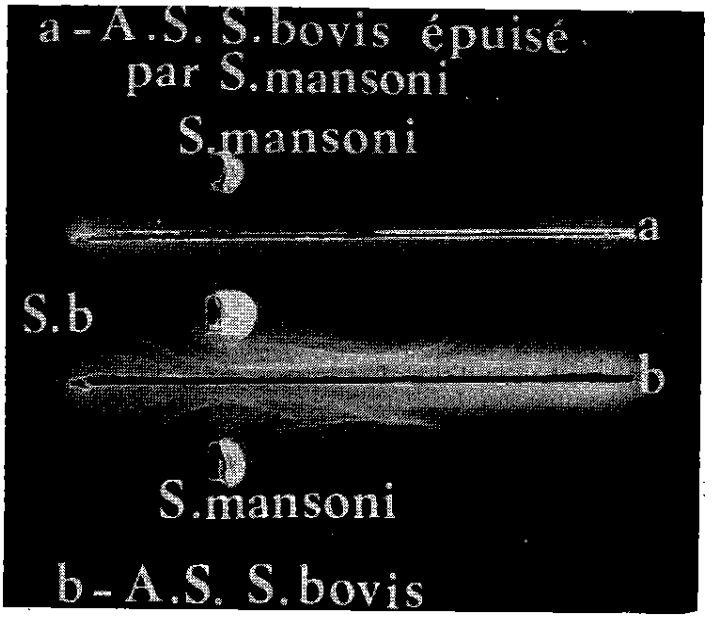


FIG. 5

Cross-reaction between **S.bovis** and **S.mansoni**

TABLE II

Sera of hamsters infected with *S. hæmatobium*

	Total number	Number of positive sera	% of positive sera	Mean number of precipitating systems	G M R T
I E P S. Mansoni	30	28	93	3.50	
I E P S. Haematobium	30	28	93	5.42	
I F S. Mansoni	30	26	86.5		169.0
I F S. Haematobium	30	28	93		399.8
I F S. Bovis	29	28	96.5		257.1

TABLE III

Specific precipitating systems in hamsters infected with *S. hæmatobium*

Total number	Number of positive sera		Band 4		Band 12	Band 9
	S.haematobium	S.mansoni	S.h	S.m	S.h	S.h
30	28	28	17	19	24	9

Absorption of anti-hæmatobium sera with *S. mansoni* antigen conffirm the specificity of band 12 for *S. hæmatobium.*

The use of homologous antigen for the diagnosis of *S. haematobium* infections appeared therefore to confer a great sensibility and specificity to the immunological investigation.

Comments

From the whole of these results the following points might be raised:

1) In spite of a close antigen relationship between the 3 species, the characerization of species specific antigen can lead to the identification of species specific antibodies and then confer a greater specificity to the techniques already used. It constitutes moreover the inicial and essential step to the purification of specific antigens.

2) In *S. haematobium* infection, either human or experimental, it can be shown that even when homologous antigen is used, which

TABLE IV

Sera of hamsters infected with S. bovis

	Total number	Number of positive sera	% of positive sera	Mean number of precipitating systems	G M R T
I E P S. Bovis	14	11	78.5	2.0	
I E P S. Haematobium	14	10	71.0	2.1	
I F S. Bovis	14	8	57.0		174
I F S. Haematobium	14	9	64.0		150

TABLE V

Human sera of Schistosomiasis haematobium

	Total number	Number of positive sera	% of positive sera	Mean number of precipitating systems	G M R T
I E P S. Mansoni	45	26	57.5	1.73	
I E P S. Haematobium	45	34	75.5	2.14	
I F S. Mansoni	45	42	93.3		61.91
I F S. Haematobium	45	43	95.5		75.83
I F S. Bovis	10	7	70.0		54.45

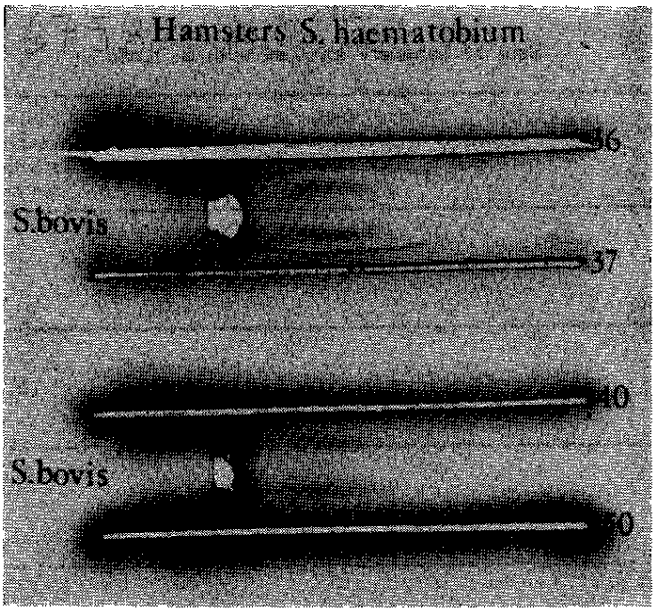


FIG. 6

Sera of hamsters infected with **S.haematobium** tested with **S.bovis** antigen

undoubtly increases sensitivity, the G. M. R. T. was considerably lower than in *S. mansoni*, infections.

It is a well-known fact that serological techniques are in the whole more sensitive in *S. mansoni* than in *S. haematobium* disease. The reason for this was generally thought to be due either to the use of an heterologous antigen (*S. mansoni* being must generally used) or to a particularity of humoral response in *S. haematobium* infections. Our results indicate that the differences observed in *S. mansoni* and *S. haematobium* infection might be due to important differences in host-perasite relations.

3) From a practical point of view, though it appears much preferable to use homologous antigens, the use of *S. bovis* antigen can be recommended for the diagnosis of *S. hæmatobium* infections. *S. bovis* strains are much easier to maintain in laboratories than *S. haematobium*, and the close antigen relationship of these 2 species allowed to consider *S. bovis* as a suitable source of antigen for immunological studies in *S. haematobium* infections.

Resumo

Os autores fazem o estudo da análise antigénica comparada do *S. haematobium* (S. H.), *S. bovis* (S. B.) e *S. mansoni* (S. M.), pela técnica da imunoelectroforese. Estudam também a resposta dos anticorpos face à presença de antigénios homólogos e heterólogos em soros humanos e de animais experimentalmente infectados, utilizando neste estudo as técnicas de difusão em gel e de imufluorescência.

O principal objectivo do presente trabalho foi fazer a identificação dos antigénios específicos de cada *Schistosoma*, com o fim de avaliar as suas consequências práticas na serologia da schistosomíase.

Estudos de adsorção cruzada de soros hiperimunes de coelhos, feitos por imunoelectroforese, demonstraram claramente a estreita relação entre as 3 espécies de *Schistosomas*, principalmente entre o S. H. e o S. B. e, também a existência para cada espécie de pelo menos um arco específico, além do arco 4 correspondente ao antigénio do grupo; arco 12 específico do S. H., arco 8 do S. M. e arco 9 do S. B.

Observações idênticas foram feitas em soros de doentes de S. H. e S. M., bem como em soros de hamsters infectados com S. M., S H. e S. B.: foram identificados sistemas precipitantes específicos para cada espécie de *Schistosoma* observando-se com os antigénios homólogos, um número mais elevado destes sistemas.

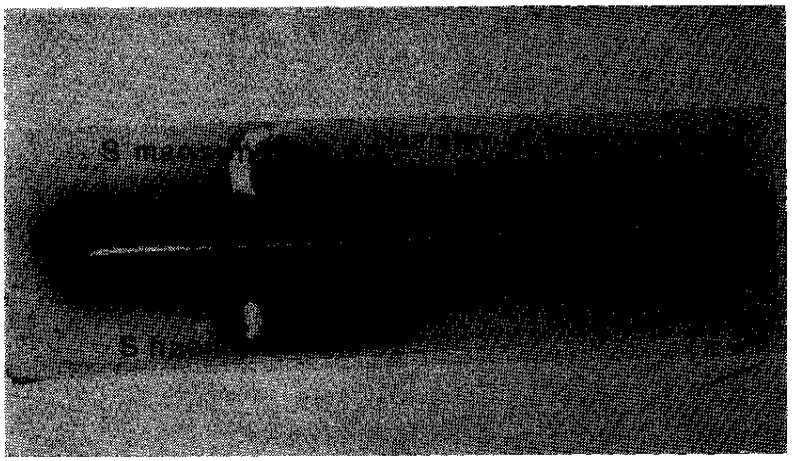


FIG. 7

Serum of hamster infected with **S.haematobium** tested with **S.mansoni** and **S.haematobium** antigens

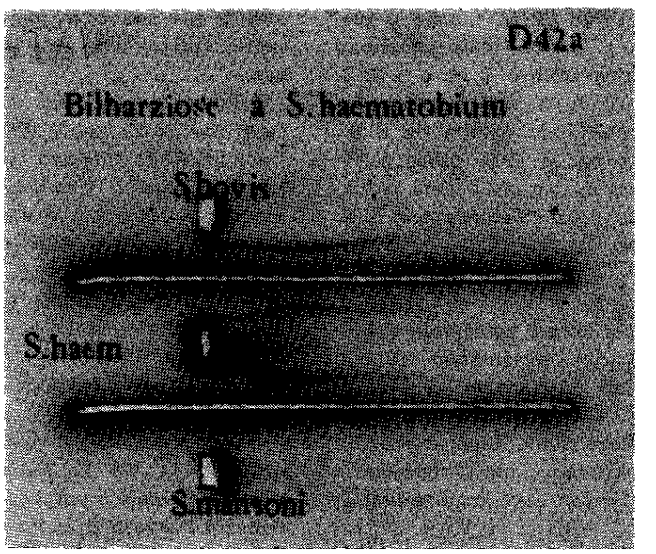


FIG. 8

Human serum infected with **S.haematobium** tested with **S.bovis, S.haematobium** and **S.mansoni** antigens

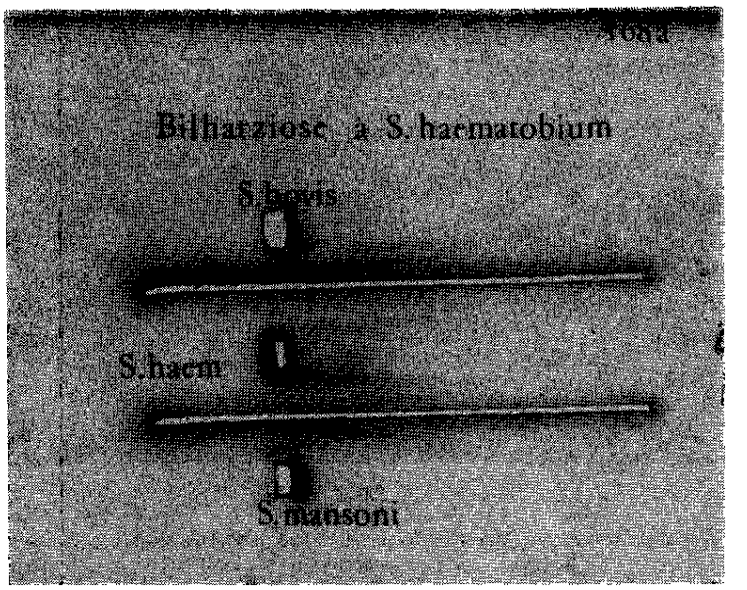


FIG. 9

Human serum infected with **S.haematobium tested with S.bovis, S.haematobium** and **S.mansoni** antigens

Estes resultados foram confirmados por estudos feitos por imunofluorescência em soros humanos e de animais. Verificou-se que os G M. R. T. eram mais elevados quando se utilizava cortes de *schistosomas* homólogos.

Considerando as dificuldades de manter em laboratório a estirpe de S. H. para o diagnóstico de rotina e, sendo, mais estreita a composição antigénica entre o S. H. e o S. B. do que o S. H. e S. M., e, mais fácil a manutenção em laboratório da estirpe de S. B., os autores sugerem que o S. B. passe a ser utilizado como fonte de antigénio para o diagnóstico imunológico das infecções por S. H.

Summary

Authors have performed comparative antigenic analysis of *S. haematobium* (S. H.), *S. bovis* (S. B.) and *S. mansoni* (S. M.) by immunoelectrophoresis and have studied antibody response in human and experimental infection using homologous and heterologous antigens in gel diffusion and immunofluorescence methods.

The main purpose of this work was to attempt an identification of specific components of each schistosome considered as well as to evaluate the practical consequences of the existence of species specific antigens on serology of Schistosomíasis.

Immunoelectrophoretic studies using cross adsortion of hyperimune rabbit sera have clearly demonstrated a close antigenic relationship between the three species, mainly between S. H. and S. B., but also the existence for each species of at least one species specific antigen.

Similar observations were done on human sera from S. M. and S. H. patients and on sera from hamsters infected with S. M. and S. B.: species specific precipitating systems were identified and a higher number of bands was generally observed with the homologous antigen.

These results appeared to be confirmed by immunofluorescent studies on human and animal sera. The G. M. R. T. was higher when sections of the homologous schistosome were used.

Considering the important difficulties to maintain in the laboratory *S. haematobium* strains for routine purpose and the closer relationship between S. H. and S. B. than between S. H. and S. M., the authors suggest that S. B., which is easier to maintain in laboratory, can be valuably used as a source of antigens for immunological studies of S. H. infections.

Acknowledgement

The authors are indebted to Mrs. Thérese le Presle of the Centre d'Immunologie et Biologie Parasitaire de la Faculté de Médecine (Lille), for her valuable colaboration which contributed to the realisation of the present work.

REFERENCES

1 — BIGUET, J.; CAPRON, A. et TRAN VAN KY, P. (1965) — Rev. d'Immunologie, **29**, 5.

2 — CAPRON, A.; BIGUET, J.; ROSE, F. et VERNES, A. (1965) — Ann. Inst. Past. **109**, 798.

3 — CAPRON, A.; VERNES, A.; BIGUET, J.; ROSE, F.; CLAY, A. et ADENIS, L. (1966) — Ann. Paras. Hum. Comp., **41**, 123.

4 — CAPRON, A.; BIGUET, J.; VERNES, A. and AFCHAIN, D. (1968) — Path. Biol., **16**, 121.

5 — KAGAN, I. G. — The Rice Institut Pamphlet, **45**, 151.

6 — POTHIER, M. A. et XAVIER SAMPAIO, M. L. (1969) — Ann. Paras. Hum. Comp., t. **44**, 4, 387.

7 — RADKE, M. G.; BERIOS-DURAN, L. A. and MORAN, K. — J. Paras. **47**, 366.

8 — SILVA SAMPAIO, M. L.; FRAGA DE AZEVEDO, J. and AVELINO, I. C. (1974) — Proceedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

9 — SAMPAIO SILVA, M. L.; SIMON VICENTE, F.; AVELINO, I. C. and RAMAJO, M. V. (1974) — Proceedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

10 — SAMPAIO SILVA, M. L. and FRANÇA MOTA, J. (1974) — Procedings of III Congress of Parasitology, Munich.

11 — VERNES, A.; FRUIT, J.; BOULTHENY, F. et CAPRON, A. (1969) — Bull. Soc. Path. exot. tome 62 N.° 3, 548.

12 — WAUGH, A. E. (1952) — 3rd ed. McGraw-Hill. Ed. New York.

HUMAN FASCIOLIASIS IN PORTUGAL (1)

Silva Sampaio, M. L. *
Capron, A. **
Capron, M. **

Introduction

Previous studies made in 1965 [10], 1968 [11], and 1973 [12] by Xavier Sampaio, M. L. et al., allowed the discovery of 11 focci of fascioliasis (Fig. 1) all of them, up to now, in the province of Minho (northern Portugal). The Sto. Adrião foccus in Vizela (Fig. 1) was the first to be studied (1970-1974) [8], concerning the human and animal populations, as well as, the fight against the *Lymnea truncatula,* the main host of *Fasciola hepatica* in Portugal [10, 11].

In 1972, in Amares county (Figs. 1 and 2) some people showed a very serious, polimorf and rare sintomatology, which made them to adness themselves to the Hospitals in Braga and Porto. After a detailed study of these cases all of them obtained various diagnostics but none of fascioliasis! The coprological analysis of one of these patients, made in our laboratory, and also of the others later on allowed us to identify a high number of eggs of *Fasciola hepatica.*

The first prospection made in February of 1973 in Real, a litlle village in Caldelas (Fig. 2) where the family of one of these patients inhabits, shows that from seven persons studied, four were highly infected with *F. hepatica.* So, epidemiological studies, like those made in Vizela [8], were carried out in the Caldelas foccus. In this work are shown the preliminary results concerning the prevalence of human cases detected by coprological analysis and immunological methods.

Material and methods

Our studies carried out in Real and Caldas (Fig. 2) two neighbouring villages in Caldelas county, with 600 and 2,600 inhabitants, respectively.

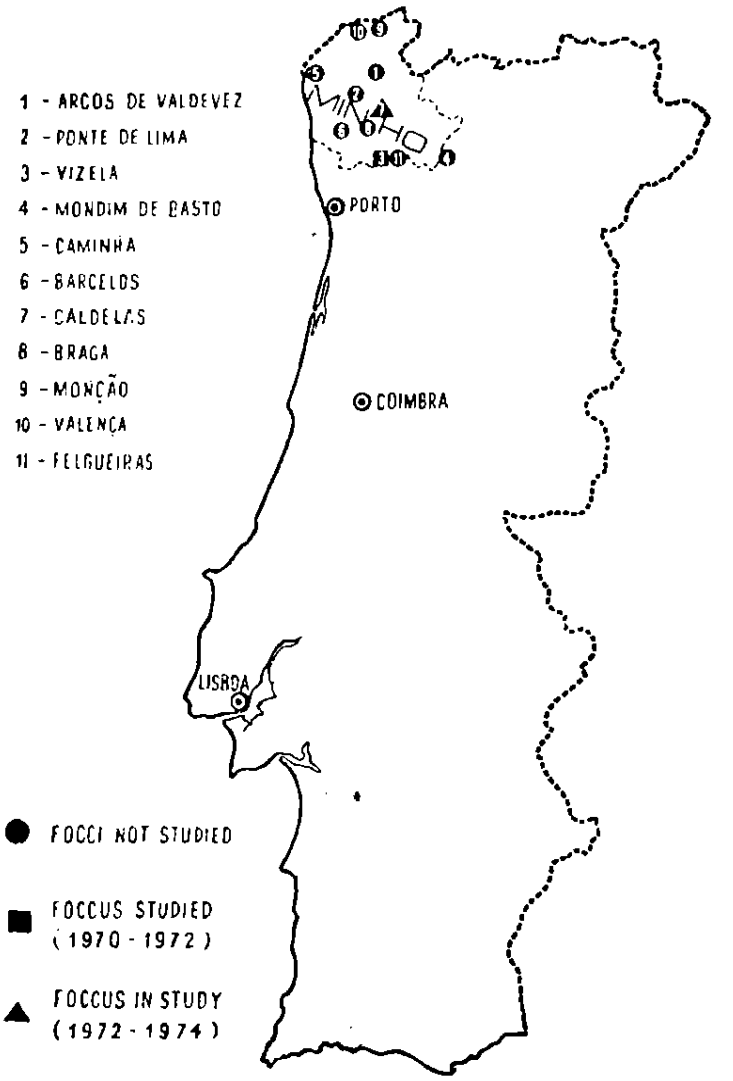
The coprological analysis were made by the methods of Ritchie [6] and Stoll [7]. Besides feaces, we also collected sera for serological tests, by immunoelectrophoresis, fluorescent antibody test (F. A.) and haemagglutination test (H. A.), téchniques which were already described in other papers [1, 2, 3, 8].

---

(1) Paper presented to the Third International Congress of Parasitology, Munich, Germany.

* Serviço de Parasitologia — Instituto Nacional de Saúde, Porto, Portugal. Xavier Sampaio, M. L. was a former name used by this author.

** Centre d'Immunologie et Biologie Parasitaire — Institut Pasteur, Lille, France



LOCALITIES OF NORTH OF PORTUGAL WHERE FOCCI OF HUMAN FASCIOLIASIS HAVE BEEN FOUND BY M.L.-XAVIER-SILVA

FIG. 1

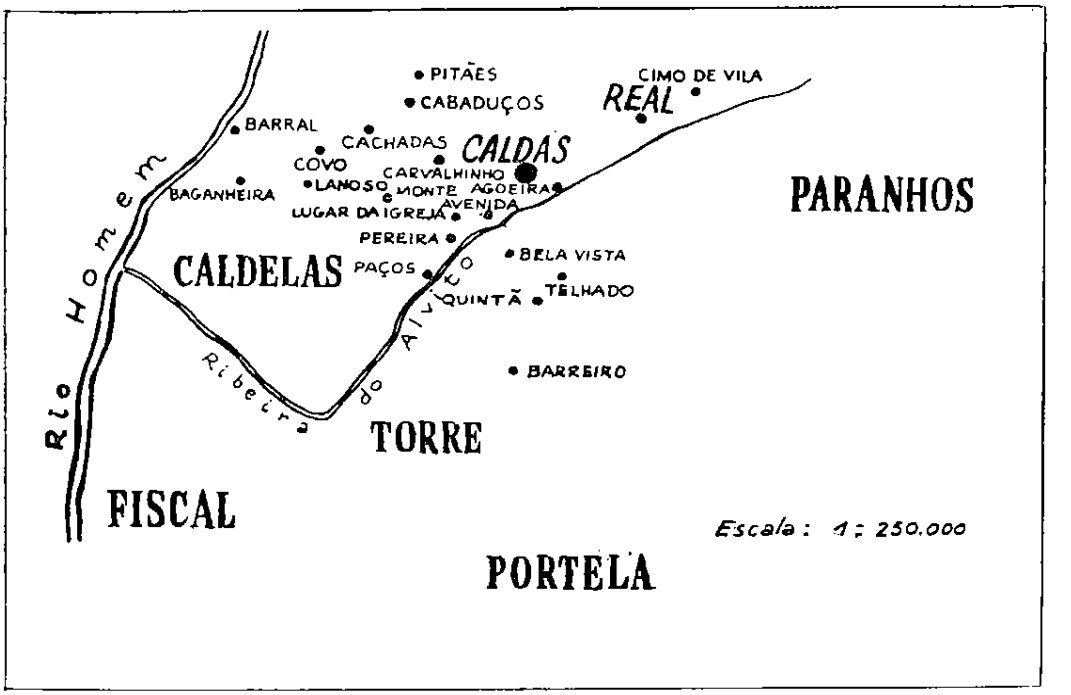


FIG. 2

The villages of Real and Caldas from Caldelas county, where we found the main focci of fascioliasis

The geometrical mean reciprocal titer (GMRT) was calculated by the formule de Waugh [9].

$$GMRT = \frac{\text{ant log } n \log x}{N}$$

x — Titer of the sera
n — Number of sera with same titer
N — $\sum$ n

Results

The coprological analysis show in Table I, that from a total of 114 samples from Real, 22.8 % were positive, whereas from Caldelas such percentage was only half of that (10.5%), with a total rate of 18.3 %.

Concerning the immunological tests (Table I) from 95 sera samples of Real, 40 % were positive and from 108 of Caldas 21.3 % with a total positive average rate. So, the immunological tests revealed 20 aditional positives cases increased the prevalence from 18.3 % to 32.9 %.

From a total of 38 positive cases from Real (Table II), 25 (26.3 %) were confirmed cases, 3 (3.2 %) suspected and 13 (13.7 %) old cases (Table II).

The Fig. 3 shows a confirmed case by immunoelectrophoresis, with the band 2 specific of *F. hepatica;* in Fig. 4 a suspected case and in Fig. 5 an old case.

Concerning the immunological test (Table III) the data from Real show a number of percipiting systems of 203 with an average of 5.3, and from Caldas 105 with an average of 4.6. The data of GMRT shows the values of 219 (Real) and 165 (Caldas) with a total average of 190 by fluorescent antibody test (F. A.); 1,366 (Real) and 738 (Caldas) with a total average of 933 by haemaggutination test (H. A.).

Discussion

The values of GMRT were much higher in Real than in Caldas. This agrees not only with the positivity rates of infection in Real (22.8%) and Caldas (10.5%), but also with the percentage of infected *L.truncatula* and the metacercariae found in the breedings places of snails in Real and Caldas (Fig. 6 and 7). In fact, it was in Real, that we found a pool heavily loaded with watercress carrying metacercariae and infected *L.truncatula* (Fig. 6). This pool

TABLE I

Methods for diagnosis of human fascioliasis in Caldelas Focci

		Real	Caldas	Total	Average
Coprological methods	Faeces sample	114	143	275	
	Positive	26	15	41	
		22.8	10.5		18.3
	Negative	88	12.8	216	
		77.2	89.5		84.4
Immunological methods	Sera sample	95	108	203	
	Positive	38	23	61	
		40	21.3		32.9
	Negative	57	85	142	
		60	78.7		71.1

Number of samples — normal type
Percentages — underlined

TABLE II

Immunodiagnosis of human fascioliasis in Caldelas focci

Villages	Number of Sera Samples	Fascioliasis cases Confirmed	Suspected	Old	Total of Positives
Real	95	25	3	13	38
		26.3	3.2	13.7	40
Caldas	108	18	2	5	23
		16.7	1.9	4.7	21.3
Total	203	43	5	18	61
Average		22.2	2.7	11.2	32.9

Number of samples in normal type
Percentages inderlined

TABLE III

Immunological methods of human fascioliasis Caldelas focci

Villages	Positive Cases	Precipitating systems Number	Mean	G. M. R. T. (F. A.)	(H. A.)
Real	38	203	5.3	219	1,366
Caldas	23	105	4.6	165	738
Total	61	308			
Average			5.0	190	933

(F. A.) — Fluorescent antibody test
(H. A.) — Haemagglutination test
G. M. R. T. — Geometrical mean reciprocal test

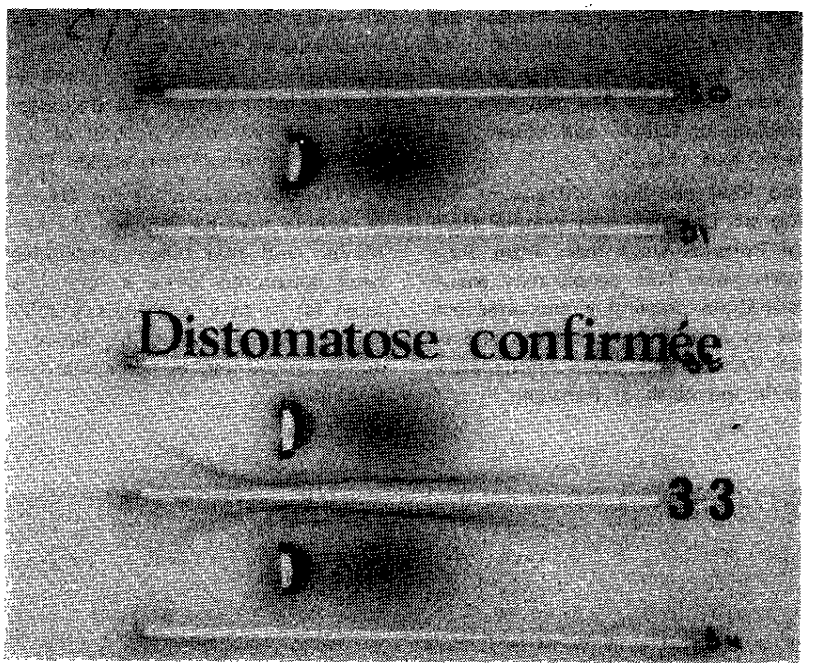


FIG. 3

A confirmed case of fascioliasis, identified by immunoelectrophoresis, with the band 2 specific for **Fasciola hepatica**

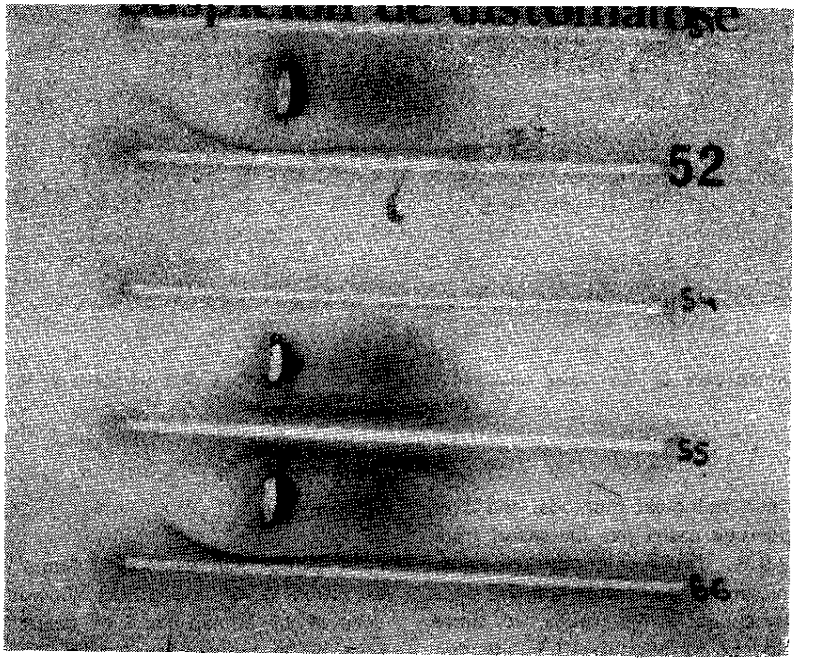


FIG. 4

A suspected case of fascioliasis identified by immunoelectrophoresis with other band, not the band 2

was a spring which was used to irrigate the bovine pastures (Fig. 8), and it was also used as drinking water by the cattle. Trat pool is not only the main foccus of Real but also the source of infection of Caldas and other villages in the same area (Fig. 2).

Caldas and Real are little villages of the thermal region of Caldelas and people from other parts of Portugal stays there from June to October every year. This people may easily get the disease if no preventive measures are taken, because in June and also at the end of September and October the cycle of*F.hepatica* is very active in the north of Portugal.

29 years only 28 cases had been reported by other authors [4, 5]. These 200 cases include only the cases of the two focci, the Vizela foccus studied in 1970 and the Caldelas foccus studied in 1973, from a total of 11 focci, that we had spotted in that region (Fig. 1).

The obvious conclusions are that, hundreds of people may be infected in the province of Minho, and that human fascioliasis that has been consdered to be a rare disease in Portugal is, in fact, a serious problem of Public Health, which should be faced with urgent action concerning ts diagnosis, prevention and treatment.

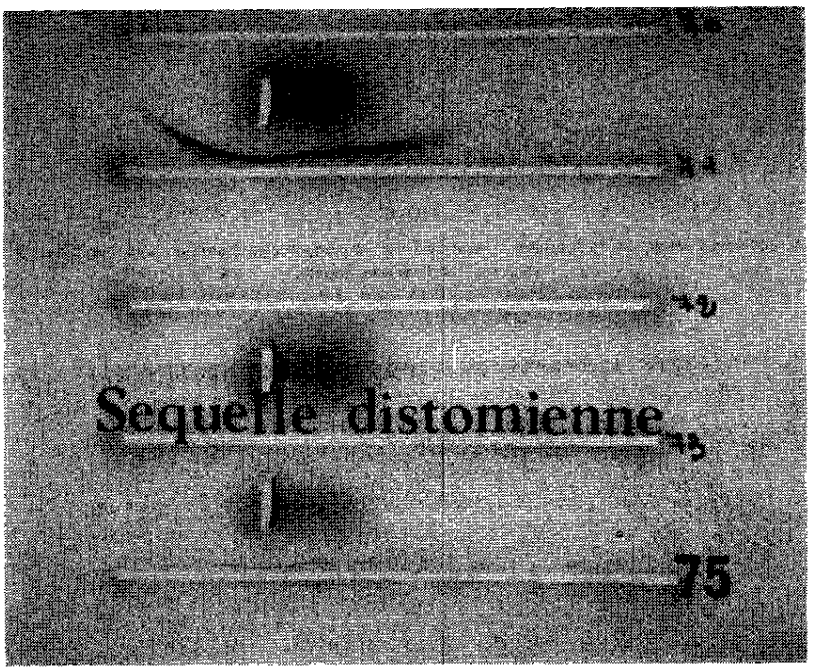


FIG. 5

An old case of fascioliasis identified by immunoelectrophoresis with the band 2, bu not continuous

With the immunological methods, the average rate of positive cases has increased from 18.3 % to 32.9 %. These methods uncovers, cronic and incipient *fascioliasis* when the eggs do not normally appear in the feaces. So, these methods shoulds be routinely used in the diagnosis of the disease.

From 1970 to 1974 we uncovered about 200 cases of human fascioliasis, while during

Summary

Previous studies (Xavier Sampaio, M. L. et al., 1965, 1968 and 1973) allowed the discovery of 11 human focci of fascioliasis, up to now, all in the province of Minho (northern of Portugal).

Starting in February 1973 an epidemiological study on fascioliasis carried out in Real

and Caldas, two little villages in Caldelas county, where we found a foccus of fascioliasis showed from 275 so far screened, 41 (18.3 %) carried eggs of *Fasciola hepatica* on faeces. In 203 persons serological tests, by immunoelectrophoresis, immunofluorescence and hemmaglutination, were performed, besides coprological analysis, and revealed 20 aditional positive cases. So, the serological tests made the prevalence increase from 18.3 % to 32.9 %, because it also uncovers chronical incipient fascioliasis, where the eggs do not normally appear in faeces. Hence, immunological tests should be performed where coprological examinations give negative results in routine diagnosis.

While other investigatiors have repported 28 cases of fascioliasis in 22 years, we have found, in 3 years, about 200 cases, including the ones of Amarès foccus. Fascioliasis formely looked as a rare disease in Portugal, should be considered a serious problem of public health.

Sumário

Estudos realizados em 1965, 1968 e 1973 por Xavier Sampaio, M. L. e col., permitiram a descoberta de 11 focos humanos de fasciolíase, todos eles localizados na província do Minho.

Um estudo epidemiológico iniciado em Fevereiro de 1973 em Real e Caldas, dois pequenos lugares da Freguesia de Caldelas (Concelho de Amares), onde detectaram um importante foco de fasciolíase, mostram que de 275 pessoas observadas, 41 (18,3 %) apresentaram ovos de *Fasciola hepatica* nas fezes. Em 203 destes casos fizeram-se, além dos exames coprológicos, provas imunológicas por imunoelectroforese, imunofluorescência e hemaglutinação, registando-se mais de 20 casos positivos, elevando-se a prevalência global de 18,3 % para 32,9 %. Aqueles métodos, permitindo detectar casos precoces e crónicos de fasciolíase, que não dão ovos nas fezes, devem ser utilizados no diagnóstico de rotina, sempre que os exames coprológicos derem negativos.

Enquanto outros investigadores referem 28 casos de fasciolíase no País em 29 anos, em 3 anos foram diagnosticados cerca de 200, incluindo os do foco de Amares. A fasciolíase, inicialmente considerada como uma doença rara em Portugal, deve ser encarada actualmente como um importante problema de saúde pública.

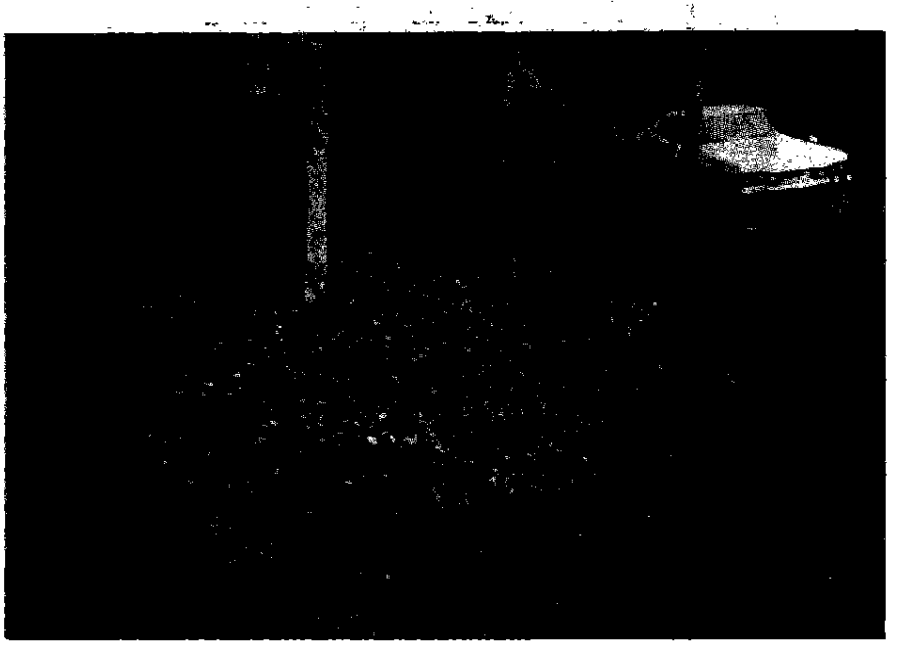


FIG. 6

The pool of Real, the main foccus of fasciolíasis in Caldelas. loaded with watercress carrying metacercariae from infected **Lymnaea truncatula**

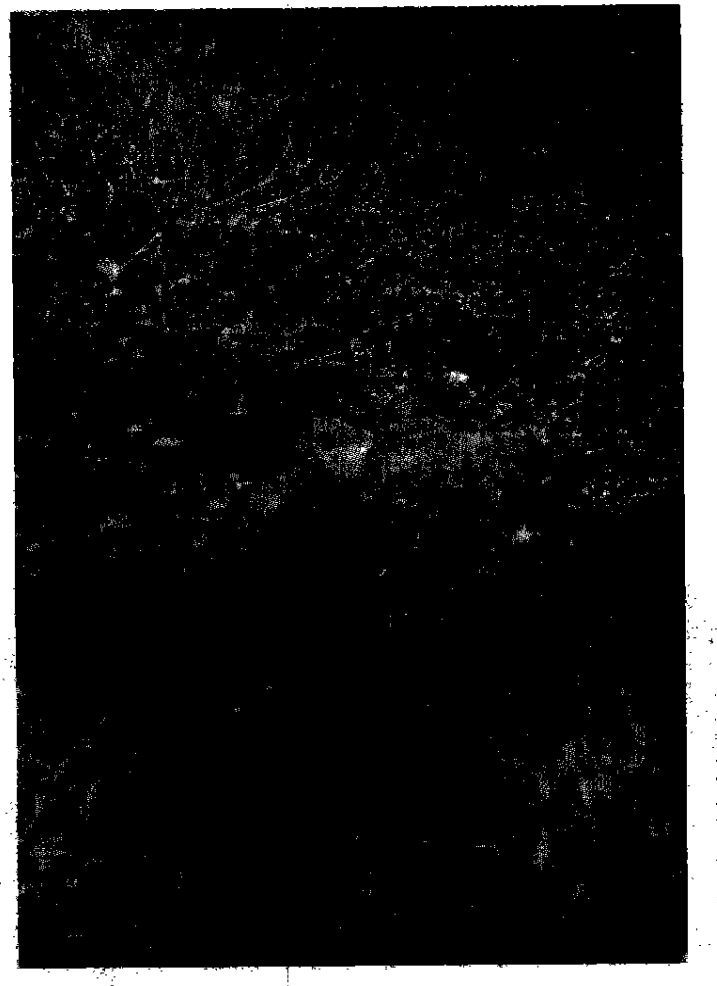


FIG. 7

A breeding place in Caldas with watercress carrying metarsercariae from **Lymnaea truncatula**

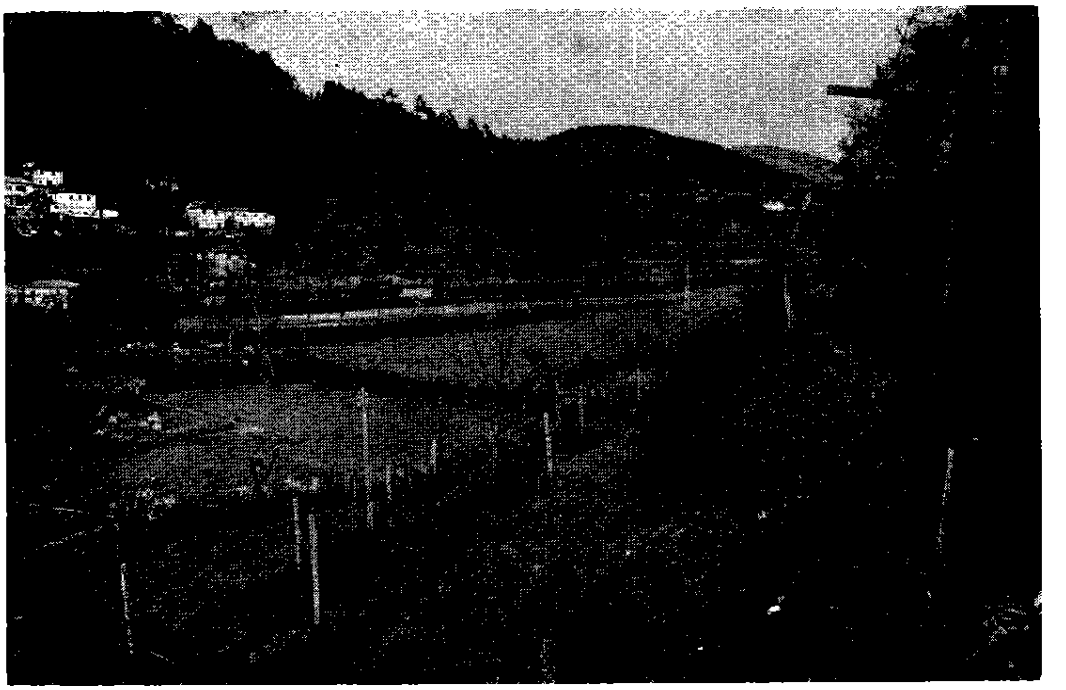


FIG. 8

The bovine pastures with metacercariae from infected **Lymnaea truncatula** receiving the water from the pool of Real

REFERENCES

1 — BIGUET, J.; ROSÉ, G. & CAPRON, A. (1965) — «Le diagnostic de la Distomatose à **Fasciola hepatica** par la réaction d'hemagglutination. Comparaison aves les résultats de l'immunoélectrophorèse et de la réaction d'hémolyse». Bull. Soc. Path. exot. tomo 58, n.º 5: 866.

2 — CAPRON, A.; BIGUET, J.; TRAN VAN KY, P. & ROSÉ, G. (1964) — «Possibilités nouveles dans le diagnostic immunologique de la distomatose humaine à **Fasciola hepatica.** Mise en evidence d'anticorps sériques par immunoélectrophorèse». Presse Médical, **72** (52).

3 — CAPRON, A.; VERNES, A. & FRUIT, J. (1970) — «Le diagnostic immunologique de la distomatose hépatique à **Fasciola hepatica:** Bilan personnel à propos de 430 observations. Étude comparée de trois techniques (immunoélectrophorèse, réaction de fixation du complément et immunofluorescence)». Rev. Path. Comp. **7**, (806), 31.

4 — MACEDO, G. F. (1961) — «Importância actual da fascioliase». Bol. Serv. Saúde Publ. **8**: 503.

5 — MEDINA VIEIRA, J. L. (1965) — «Sobre algumas parasitoses hepatobiliares». Diss. Lic. Fac. Med. Porto.

6 — RITCHIE, L. S.; WYKOFF, D. E. & FRICK, L. — «Statistical evaluation of the formalin ether (406 MGL) fecal sedimentation concentration procedure». Am. J. Trop. Med. y Hyg., **7**: 150-157, 1958.

7 — STOLL, N. R. & HAUSHEER, W. C. (1926) — «Concerning two options in dilution egg counting small drop and displacement». Amer. J. of Hyg., **6**, 134.

8 — SILVA SAMPAIO, M. L. (1979) — «Estudo piloto sobre a fascioliase hepática em Portugal». Sociedade de Ciências Médicas, Lisboa (em publicação).

9 — WAUGH, A. E. (1952) — 3rd Ed. Mc Graw-Hill. Ed. New York.

10 — XAVIER SAMPAIO, M. L.; FRAGA DE AZEVEDO, J. & ALVES, C. A. (1965) — «A **Lymnaea truncatula** vectora em Portugal da **Fasciola hepatica**». XVII Congress Luso-Espanhol para o Progresso das Ciências, Bilbau, Julho de 1964. Rev. Iber. Paras. **25** (3/4), 357.

11 — XAVIER, SAMPAIO, M. L.; MARTINEZ, A. R. & SANTOS, M. A. M. (1968) — «Susceptibility of some fresh water snails of Portugal and Spain to **Fasciola hepatica**». First International Liverfluke Colloquium, Wageningen (Holanda, 1967). An. de la Fac. Vet. Léon, Ano XIV, N.º 14.

12 — XAVIER SAMPAIO, FRAGA DE AZEVEDO, J. e SANTOS, M. A. M. — «Studies on distribution and ecology of **Lymnaea truncatula** intermediate host of **Fasciola hepatica** in Portugal» IV European Congress of Malacology, Genève, 1971. Malacologia, **14**, 203, 1973.

IMPORTÂNCIA DA MANUTENÇÃO EM LABORATÓRIO DA ESTIRPE DE SCHISTOSOMA BOVIS

M. L. Sampaio Silva *
I. C. Avelino *

Introdução

Estudos preliminares realizados em 1974 [13], sobre a manutenção em laboratório da estirpe de *Schistosoma bovis* de Salamanca (Espanha), permitiram-nos ao fim de dois anos consecutivos atingir a 7.ª passagem no nosso laboratório, através de sucessivas passagens em *Cricaetus auratus* e em várias populações de *Bulinus* sp. e *Planorbarius metidjensis.*

Face aos resultados então obtidos, tivemos como objectivo no presente trabalho conseguir a manutenção continuada daquela estirpe em laboratório, de forma a ser utilizada como fonte de antigénio no diagnóstico de rotina da esquistossomíase vesical, dado as dificuldades por nós observadas [5, 15] e, por outros investigadores [1, 2, 3, 20], na manutenção da estirpe de *Schistosoma haematobium* em laboratório.

Material e métodos

Foram utilizadas quatro populações portuguesas de *P.metidjensis,* duas provenientes do Algarve (Loulé e Estói), uma de Resende (Norte de Portugal) e outra do Sabugal, vila do Distrito da Guarda, perto da fronteira com Salamanca. As populações espanholas daquela espécie provêm de Vilar de la Yegua e Valdespino, pequenas aldeias situadas na província de Salamanca.

A estirpe de *S.bovis* foi isolada a partir dum bezerro naturalmente infectado de Vilar de la Yegua, sendo até à data, o *P.metidjensis* a única espécie de moluscos encontrada naturalmente parasitada com aquela estirpe nos focos detectados na província de Salamanca [11, 14, 18].

Quanto às populações de *Bulinus* há a considerar, além das duas populações de *Bulinus truncatus* portuguesas (uma de Coimbra e outra de Silves), as populações de *B.truncatus* do Tchad e Egipto e o *B. (ph.) globosus* de Moçambique.

Os dados referentes à data da colheita destas espécies e à sua adaptação ao nosso laboratório vêm descritas em trabalhos anteriores [4, 14, 15, 19], bem como o método da *Oscillatoria formosa* Bory [21], para a cultura destes moluscos em laboratório (Fig. 1).

Para a infecção experimental das populações portuguesas de *P.metidjensis* e de *B.truncatus* foram utilizados miracídios provenientes de carneiros que foram experimentalmente infectados no laboratório de Salamanca. A seguir à 1.ª passagem os miracdios foram obtidos a partir de ovos presentes nas fezes de hamsters experimentalmente infectados no la-

* Serviço de Parasitologia — Instituto Nacional de Saúde, Porto, Portugal.
Xavier Sampaio, M. L. — nome anterior usado pelo 1.º autor.

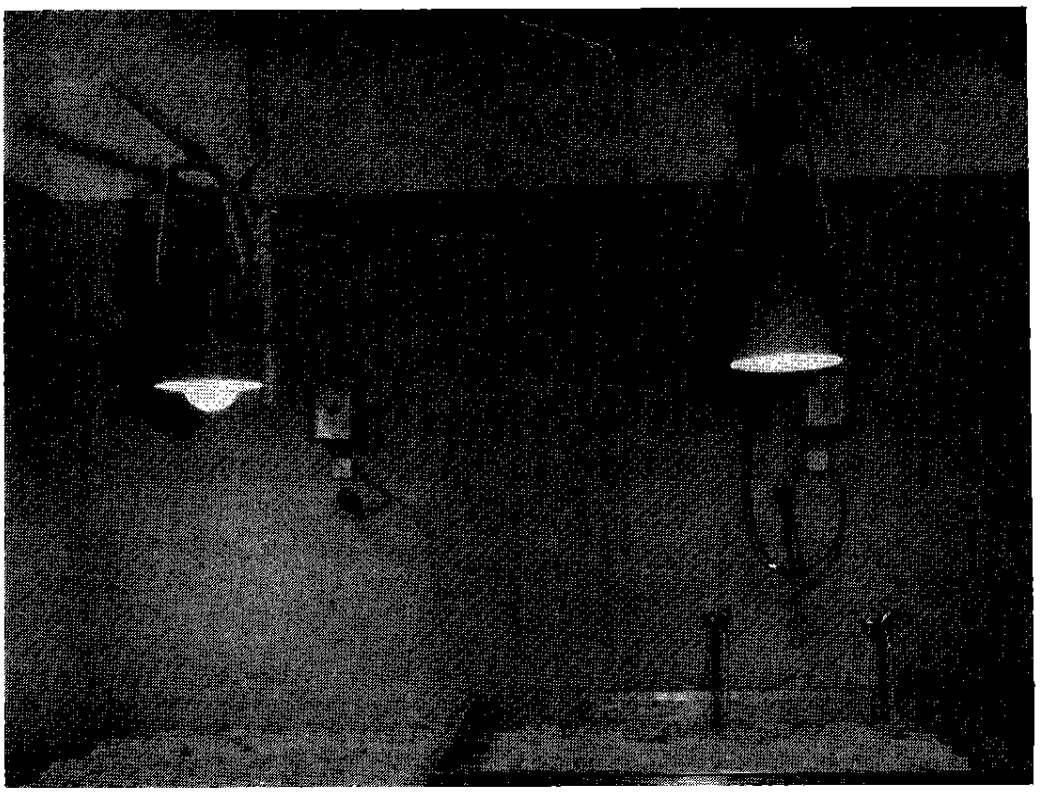


FIG. 1

Método da cultura da **Oscillatoria formosa Bory** em laboratório

boratório do Porto, pelas técnicas descritas em 1965 [22] e 1969 [5].

Tendo-se verificado em 1974 [13] que a percentagem de ovos viáveis para o *S.bovis* era mais elevada no fígado do que no intestino, os miracídios foram obtidos apenas a partir do triturado daquele órgão.

Entre os 60 e 80 dias os hamsters eram submetidos à perfusão pela técnica descrita em 1974 [16], para recolha dos *Schistosomas*. Depois de registado o número de fêmeas e machos, uma parte era conservada a −20º C, para a preparação de antigénio para imunofluorescência e o restante liofilizado, para posterior aplicação em outras técnicas imunológicas. Dos hamsters que morriam no decorrer das experiências, eram retirados os *Schistosomas* e registado igualmente o número de machos e fêmeas.

Resultados

No Quadro I vêm expressos os resultados da manutenção em laboratório da estirpe de *S.bovis* de Salamanca em populações portuguesas e espanholas de *P.metidjensis*, tendo-se conseguido atingir em 4 anos a 14.ª passagem.

Para um total de 2572 moluscos expostos à infecção experimental, 58,3 % mostraram-se positivos, sendo a positividade mínima de 26,6 % e um máximo de 90,4 %. A elevada (10.ª passagem). A taxa de mortalidade ao fim de 60 dias foi de 58,2 %, com um mínimo de 26,6 % e um máximo de 90,4 %. A elevada mortalidade na 5.ª e 11.ª passagens pode ser atribuída à falta de *Oscillatoria* para alimentação dos moluscos, naquele período.

O período pré-patente foi de 30 dias (com um mínimo de 21 e um máximo de 32 dias), enquanto que o período de eliminação de cercárias foi de 32 dias (21 e 84) e o número de cercárias eliminadas por molusco de 483 (146 a 1066 cercárias).

Quanto à manutenção da estirpe de *S.bovis* em *B.truncatus* e em *B.(ph.) globosus* os resultados vêm expressos no Quadro II, atingin-

QUADRO I

Manutenção da estirpe de Schistosoma bovis **em laboratório (durante 4 anos) em várias populações de** Planorbarius metidjensis

Passagens	N.º de Moluscos expostos	Positivos %	Mortalidade aos 60 dias %	Per. pré-patente (dias)	Período de eliminação (dias)	N.º de cercárias por molusco
1.ª	10	30.0	40.0	28	26	1066
2.ª	136	26.8	59.5	49	25	146
3.ª	114	33.0	47.9	35	37	419
4.ª	94	54.9	26.6	32	84	1425
5.ª	21	57,1	90.4	29	25	196
6.ª	15	40.0	40.0	31	41	425
7.ª	80	70.7	48.7	25	49	325
8.ª	421	61.3	63.0	25	26	421
9.ª	264	50.0	47.2	40	37	463
10.ª	291	74.6	46.0	29	28	462
11.ª	290	62.4	85.8	22	21	285
12.ª	180	61.0	53.2	38	36	532
13.ª	360	55.6	68.7	34	34	619
14.ª	296	74.3	55.6	27	28	483
Total	2572					
Média		58.3	58.7	30	32	483

do-se do mesmo modo que no *P.metidjensis* a 14.ª passagem em 4 anos.

Comparando os resultados obtidos entre as populações de *P.metidjensis* e de *Bulinus*

QUADRO II

Manutenção da estirpe de Schistosoma bovis **em laboratório (durante 4 anos) em várias populações de** Bulinus truncatus

Passagens	N.º de Moluscos expostos	Positivos %	Mortalidade aos 60 dias %	Per. pré-patente (dias)	Período de eliminação (dias)	N.º de cercárias por molusco
1.ª	60	83.3	53.7	27	37	1195
2.ª	144	74.3	47.2	28	40	1082
3.ª	165	24.2	74.0	35	37	951
4.ª	81	54.3	49.4	31	74	1493
5.ª	114	28.1	98.2	30	28	699
6.ª	64	68.8	10.2	30	33	1762
7.ª	136	39.0	89.0	26	23	721
8.ª	133	65.4	60.1	29	49	823
9.ª	482	41.7	72.3	45	93	396
10.ª	283	56.5	52.7	29	75	893
11.ª	606	49.7	58.5	22	47	200
12.ª	838	62.9	49.8	38	69	333
13.ª	634	64.0	32.4	28	92	552
14.ª	588	45.2	47.9	23	67	483
Total	4328					
Média		53.6	46.2	31	67	533

verificamos que os valores atingidos no total das 14 passagens são idênticos no que se refere à percentagem de positivos, taxa de mortalidade e período pré-patente, embora tenham sido expostos à infecção um número de *Bulinus* bastante mais elevado que de *P.metidjensis*. No que se refere ao número de cercárias eliminadas e, sobretudo no período de eliminação destas, notaram-se marcadas diferenças.

Os resultados da infecção experimental dos hamsters (Quadro III) demonstraram que em 4 anos consecutivos se atingiu a 13.ª passagem. A partir das cercárias eliminadas pelas várias populações de moluscos foi possível submeter à infecção experimental um total de 2541 hamsters, sendo a taxa de positivos de 98,4 %, a longevidade média de 57 dias e o número total de vermes mais de 300 000. O sex-ratio foi de 1,6 com um mínimo de 1,3 (1.ª passagem e um máximo de 2,0 (8.ª e 11.ª passagens), enquanto que o número de vermes por animal foi 122, sendo 230 o mínimo e 2250 o máximo valor observado.

Discussão

Embora entre as diferentes populações de *P.metidjensis* e de *Bulinus* sp. se observassem algumas diferenças relativamente aos valores de alguns parâmetros estudados, essas diferenças não foram de molde a afectar a manutenção da estirpe de *S.bovis* em laboratório, visto que se atingiu em 4 anos, sem interrupção, a 14.ª passagem nas populações de moluscos e a 13.ª passagem nos *Cricaetus auratus*.

Apesar de em todas as passagens o número de fêmeas ser inferior ao número de machos e, estes tivessem duplicado ao fim das 13 passagens, o sex-ratio não afectou até esta data a manutenção desta estirpe, como sucedeu algumas vezes com a estirpe de *S.mansoni* do Brasil e de Angola [23] mantida respectivamente em *Biomphalaria glabrata* do Brasil e *Biomphalaria adwoensis* de Angola, no Instituto de Medicina Tropical por Xavier Sampaio, M. L. [12] e com a estirpe de *S.haematobium* [5, 12, 15].

Por outro lado o elevado número de cercárias eliminadas na 14.ª passagem, tanto por *P.metidjensis* (Quadro I), como pelos *Bulinus* (Quadro II), sugere que outras passagens se seguirão sem dificuldade, estando,, deste modo, assegurada a manutenção contínua da estirpe de *S.bovis* em laboratório. A reforçar este facto deve referir-se o aumento significativo de Schistosomas obtidos da 7.ª para a 13.ª passagem (respectivamente de 70 000 para

QUADRO III

Manutenção da estirpe de Schistosoma bovis **em laboratório (durante 4 anos) após 13 passagens sucessivas em hamsters**

Passagens	N.º de Animais expostos positivos	(%)	Longevidade média (dias)	N.º de Vermes obtidos 0	0+	Sex ratio 0/0+	N.º de vermes por animal
1.ª	43	83.7	55	5 527	4 130	1.3	225
2.ª	114	96.3		6 408	3 486	1.8	87
3.ª	156	98.8	60	9 246	4 631	1.9	89
4.ª	171	97.7	66	8 884	3 916	2.3	105
5.ª	113	94.2	82	3 172	1 878	1.7	59
6.ª	170	99.4	64	14 697	8 043	1.8	134
7.ª	202	97.6	60	14 000	7 791	1.8	108
8.ª	207	96.7	55	19 437	9 707	2.0	141
9.ª	174	99.4	56	10 527	6 869	1.5	100
10.ª	262	99.2	51	21 273	14 456	1.5	136
11.ª	198	99.0	49	22 115	11 298	2.0	169
12.ª	341	99.4	54	24 848	18 858	1.3	148
13.ª	390	99.5	55	26 043	15 735	1.7	107
Total	2541					1.6	122
Média		98.4	57	186 177	110 798		

230 000), revelando uma adaptação crescente entre o hospedeiro e o parasita.

Por último, as conhecidas dificuldades de manutenção da estirpe de *S.haematobium* em laboratório, fizeram que a maioria dos laboratórios em todo o mundo utilizem o antigénio de *S.mansoni*, no imunodignóstico da esquistossomíase vesical, face ao parentesco antigénico entre estas estirpes [4] e, à maior facilidade de manutenção no laboratório do *S.mansoni*. Estudos realizados por um de nós, de colaboração com a Escola francesa de Lyon, sobre a aplicação pela 1.ª vez da técnica da imunofluorescência ao *S.haematobium* vieram demonstrar a vantagem da utilização do antigénio homólogo, relativamente ao antigénio de *S.mansoni* [10], sobretudo quando a taxa de anticorpos é baixa, conforme concluimos posteriormente em 1973 [6] e 1974 [7], com um maior número de soros. Considerando, todavia as importantes dificuldades de dispor de antigénio homólogo e, o parentesco antigénico mais estreito entre o *S.haematobium* e o *S.bovis*, do que entre o *S.haematobium* e o *S.mansoni*, como foi demonstrado por Sampaio Silva, M. L. e col. em 1974 [16], propõe-se que o *S.bovis*, que é mais fácil de manter em laboratório, seja utilizado como fonte de antigénios para o serodiagnóstico da esquistossomíase vesical, o que se reveste de grande significado na prática clínica desta grave afecção.

Sumário

Em continuação de estudos preliminares realizados em 1974, sobre a adaptação e manutenção em laboratório da estirpe de *Schistosoma bovis* de Salamanca (Espanha) através de sucessivas passagens nas diferentes populações dos moluscos estudados e em hamsters, os autores demonstram no presente trabalho que é fácil a manutenção daquela estirpe em laboratório, visto que no espaço de 4 anos consecutivos, atingiram a 14.ª passagem naqueles moluscos estudados e a 13.ª passagem nos hamsters. Com efeito a partir de 2572 *Planorbarius metidjensis* e de 4328 *Bulinus* sp. submetidos a infecção experimental 53 6 % e 58,3 % respectivamente estavam positivos, dando origem à produção de grande número de cercárias. Dos 2541 hamsters expostos a estas cercárias, 98,4 % mostraram-se positivos, permitindo a colheita de mais de 300 000 *Schistosomas* que foram utilizados na preparação de antigénios e outros estudos.

Considerando as importantes dificuldades de manutenção em laboratório do *S.haematobium* para o diagnóstico de rotina e, o parentesco antigénico mais estreito entre o *S.haematobium* e o *S. bovis* do que entre o *S.haematobium* e o *S.mansoni*, os autores propõem que o *S.bovis*, que é mais fáccil de manter em laboratório, seja utilizado como fonte de antigénios para o serodiagnóstico e outros estudos de esquitossomíase vesical.

Summary

In addition, to the preliminary studies presented in 1974, on the adaptation and maintenance of *Schistosoma bovis* strain from Salamanca (Spain) in laboratory through successive passsages in different snails populations and in hamsters, the authors show, in this work, that it is easy to maintain this strain in laboratory. In fact, they have reached the 14th passage in the snails populations studied and the 13th in hamsters, during four consecutive years. From 2,570 *Planorbarius metidjensis* and 4,328 *Bulinus* sp. exposed to the experimental infection, 53.6 % and 58.6 % were infected, respectively, allowing a large number of cercariae. From 2,541 hamstres exposed to the cercariae 98.4 % were positive, allowing to collect more than 300 000 *Schistosomes* for antigens and other studies.

Considering the important difficulties to maintain in laboratory *S.haematobium* strain for routine purpose and, the closer relationship between *S.haematobium* and *S.bovis*, than between *S.haematobium* and *S.mansoni*, the authors suggest that *S.bovis* which is easy to maintain, can be valuably used as a source of antigens for immunodiagnosis and other studies of *Schistosoma haematobium* infections.

REFERÊNCIAS

1 — BRUMPT, E. et WERBLUNSKY, S. (1928) — Bull. Soc. Path. exot. **21**: 8.

2 — CAPRON, A.; DEBLOCK, S.; BIGUET, J.; CLAY, A.; ADENIS, L. & VERNES, A. (1965) — Bull. O. M. S. **32**: 755.

3 — CAPRON, A.; VERNES, J.; BIGUET, J. e ROSÉ, F. (1966) — Ann. Parasit. **41**, N.º 2: 123.

4 — FRAGA DE AZEVEDO, J.; XAVIER SAMPAIO, M. L. (1965) — An. Inst. Med. Trop. **22**: 1/4, 35.

5 — FRAGA DE AZEVEDO, J.; XAVIER SAMPAIO, M. L.; MATTOS DOS SANTOS, M. A. e AVELINO, I. C.

(1969) — J. Soc. Ciências Médicas, Lisboa, Tomo CXXXIII, **8**: 607.

6 — KIEN TRUONG, T.; MOJON, M.; TRAN, M. S. et SILVA SAMPAIO, M. L. (1973) — Proceedings of IX Congress of Tropical Medecine, Atenas.

7 — KIEN TRUONG, T.; MOJON, M.; TRAN, M. S. et SILVA SAMPAIO, M. L. (1974) — Proceedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

8 — MOORE, O. V. et MELENEY, H. E. (1954) — J. Parasit. **40**: 392.

9 — POTHIER, M. et XAVIER SAMPAIO, M. L. (1969) — Ann. Par. Hum Comp., t. **44** N.º 4, 387

10 — POTHIER, M. et XAVIER SAMPAIO, M. L. (1969) — C. Rend. Acad. Scien. Paris, t. **269**, 600.

11 — RAMAJO, M. V. (1972) — Rev. Iber. Parasit. **32** (3/4): 207.

12 — International Register of Living Helminth Species and Strains (1967) — O. M. S. págs. 5, 10 e 12.

13 — SILVA SAMPAIO, M. L.; SIMON VICENTE, F.; AVELINO, I. C. and RAMAJO, M. V. (1974) — Proceedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

14 — SILVA SAMPAIO, M. L.; SIMON VICENTE, F.; RAMAJO, M. V. and AVELINO, I. C. (1974) — Proceedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

15 — SILVA SAMPAIO, M. L.; FRAGA DE AZEVEDO, J. and AVELINO, I. C. (1974) — Proceedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

16 — SILVA SAMPAIO, M. L. and MOTA, J. F. (1974) — Proceedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

17 — SILVA SAMPAIO, M. L.; CAPRON, A. and WILKINS, A. (1974) — Proceedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

18 — SIMON VICENTE, F. (1969) — S. C. Biol. Inf. Col. Vet. de España **187**: 41.

19 — SIMON VICENTE, F.; SAMPAIO SILVA, M. L.; RAMAJO, M. V. and AVELINO, I. C. (1974) — Proceedings of III International Congress of Parasitology, Munich.

20 — STUNKART, M. W. (1946) — J. Parasit. **32**: 539.

21 — XAVIER SAMPAIO, M. L.; FRAGA DE AZEVEDO, J. et AVELINO, I. C. (1968) — Bull. Soc. Path. exot., Tomo **61**: 52.

22 — XAVIER SAMPAIO, M. L. and FRAGA DE AZEVEDO, J. (1965) — An. Inst. Med. Trop. **22** (1/4): 57.

23 — XAVIER SAMPAIO, M. L. e FRAGA DE AZEVEDO, J. (1970) — XXIX Congresso Luso-Espanhol para o Progresso das Ciências, Março.

INQUÉRITO PILOTO SOBRE A PREVALÊNCIA DAS PARASITOSES INTESTINAIS NUMA POPULAÇÃO INFANTIL DA FREGUESIA DE VIZELA (GUIMARÃES)

M. L. Sampaio Silva [1] *
I. Conceição Avelino [1]

Introdução

Embora tenha sido salientado por vários autores, entre os quais, os peritos da O. M. S. [3, 4], o importante papel que as parasitoses intestinais e, em particular, a ascaridíase e a tricuríase, desempenham à escala mundial na patologia infantil, no nosso País, não dispomos de estudos clínicos e estatísticos, sobre os prejuízos que o parasitismo determina no desenvolvimento físico e mental, crescimento, nutrição e sua repercussão no estado geral de saúde das crianças portuguesas. Do mesmo modo, são também raros os estudos referentes à prevalência, distribuição, associações parasitárias e intensidade de parasitismo, na idade pré-escolar, mesmo para a ascaridíase e tricuríase, as helmintíases mais frequentes naquele grupo etário [3, 4].

No sentido de contribuir para o estudo deste assunto o Serviço de Parasitologia do Instituto Nacional de Saúde (INSA) no Porto, tem vindo a realizar desde 1971 vários inquéritos nas zonas rurais do Distrito de Braga [7, 8, 9] e, a partir de 1976, também no Distrito do Porto [10].

No presente trabalho serão apresentados os resultados observados numa população infantil dos 0 aos 7 anos da Freguesia de Vizela (Concelho de Guimarães), no que diz respeito à prevalência e aos outros parâmetros anteriormente mencionados.

Tratando este inquérito dum estudo piloto sobre a prevalência das parasitoses intestinais em idade pré-escolar, incidiu sobre um número representativo, mas relativamente pequeno de crianças, com o objectivo de podermos tirar conclusões mais rapidamente, e, com a experiência adquirida, promover a realização de inquéritos mais vastos noutras áreas do Concelho de Guimarães, bem como noutras regiões do norte do País, incluindo o Distrito do Porto.

Material e Métodos

A população estudada abrange um total de 204 crianças, 101 do sexo feminino e 103 do sexo masculino, provenientes de 80 famílias, as quais correspondem a um total de 572 indivíduos. A população estudada está circunscrita a uma área bem definida da Freguesia de Vizela (Concelho de Guimarães), pertencente à

(1) Instituto Nacional de Saúde — Porto, Portugal.
* Xavier Sampaio, M. L. — nome anterior deste autor.

zona de actividade do Centro de Saúde de Vizela e, não difere das populações das restantes áreas, no que diz respeito às condições bio-ecológicas, características sócio-económicas e culturais, conforme já referimos em trabalho anterior [10].

A prevalência, intensidade de parasitismo e associações parasitárias foram determinadas para o grupo etário dos 0 aos 7 anos e não para o dos 0 aos 5 anos [3, 4], porquanto na área estudada, as crianças só começam a frequentar a escola primária a partir dos 7 anos. Os parâmetros referidos anteriormente foram determinados ano por ano, para o grupo etário dos 12 aos 83 meses e, no total da população, dos 0 aos 83 meses.

A colheita de fezes foi feita ao domicílio em recipientes próprios devidamente etiquetados que eram entregues às mães por um elemento da equipa do Serviço de Parasitologia do INSA ou do Centro de Saúde de Vizela, que no acto da entrega preenchida a ficha correspondente dava as instruções necessárias. As amostras eram depois enviadas ao nosso laboratório por intermédio do Centro de Saúde de Vizela.

O método utilizado para a pesquisa de ovos de helmintas e cistos de protozoários nas fezes foi o método de Ritchie [5]. Para avaliação da intensidade de parasitismo (expressa pelo número de ovos por grama de fezes), empregamos o método de Stoll-Hauseer [11]. Os limites exactos de confiança correspondentes aos níveis de significância de 95 % foram determinados de acordo com as tabelas científicas editadas pela Geigy [2].

Resultados

Os resultados referentes à percentagem de crianças parasitadas com um ou vários parasitas associados e os respectivos limites exactos de confiança vêm expressos no Quadro I. Assim para um total de 204 crianças dos 0 aos 7 anos de idade, 181 estavam positivas, o que corresponde à elevada taxa de prevalência de 88,7 %. Considerando agora o grupo etário dos 0 aos 11 meses verificamos que estas crianças, apesar de lactentes, se apresentam parasitadas na elevada taxa de 54,6 %, sendo de 36,4 % os casos de infecção simples e de 18,2 % os de infecção dupla, não se encontrando, porém, crianças com três ou quatro parasitas. No grupo etário dos 11 aos 83 meses observamos logo a partir dos 2 anos, uma elevada percentagem de crianças (53 %) com dois parasitas, sendo este tipo de associação parasitária o mais frequente. Embora a taxa de crianças com um só parasita seja inferior às biparasitadas aquele valor é mais elevado do que os correspondentes às crianças com três e, sobretudo com quatro parasitas (apenas um caso).

No que se refere à prevalência das diferentes espécies de parasitas estudados, os resultados obtidos e os respectivos limites exactos de confiança para o *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* vêm expressos no Quadro II e os corrrespondentes aos restantes parasitas detectados no Quadro II (cont.). Assim verificamos (Quadro II) que a prevalência mais elevada corresponde ao *A. lumbricoides* (72,1 %), seguida de perto pelo *T. trichiura* (69,1 %) e depois pela *Giardia lamblia* (Quadro II cont.) com uma taxa de 23,5 %. A prevalência observada para o *Hymenolepis nana* e *Enterobius vermicularis* é bastante mais baixa, visto que apenas detectamos dois casos para qualquer daquelas helmintíases. Incidindo este inquérito piloto apenas sobre os parasitas intestinais cujo diagnóstico laboratorial é feito através dos elementos parasitários presentes nas fezes, os resultados expressos para a oxiuríase não são significativos, uma vez que não utilizamos os métodos adequados de pesquisa para esta helmintíase *.

A intensidade de parasitismo para a ascaridíase e tricuríase, vem expresso no Quadro III. Assim, no grupo etário dos 0 aos 11 meses relativamente à ascaridíase verificamos que a média do número de ovos por grama de fezes para um total de 3 crianças foi de 7833. Estes valores não diferem muito dos valores médios encontrados para as 193 crianças observadas no grupo etário dos 12 aos 83 meses, os quais foram respectivamente de 8119 e de 8109. Para a tricuríase o grupo etário com menos de um ano, apenas com um caso positivo, apresenta uma carga parasitária de 400 ovos/g de fezes, bastante inferior à do grupo etário dos 12 aos 83 meses, cujo valor foi de 1170 (com um valor mínimo de 594 ovos/g de fezes e máximo de 1806). Para os dois casos de parasitismo por *H. nana* a média do número de ovos/g de fezes foi de 855 e nos dois casos de *E. vermicularis* a intensidade parasitária foi avaliada pelo número de vermes presentes nas fezes (8 em média), visto não termos encontrado ovos.

* Aqueles métodos estão sendo aplicados em inquéritos conduzidos separadamente para a oxiuríase, cujos resultados serão oportunamente publicados.

QUADRO I

Distribuição por grupos etários da percentagem de exames positivos e do número de espécies de parasitas obtidas numa população infantil de 204 crianças dos 0 aos 6 anos da freguesia de Vizela

Idade (meses)	N.º total exames	Exames positivos N.º	Exames positivos %	L. E. C.	Espécies de parasitas obtidas por amostras 1 N.º	1 %	2 N.º	2 %	3 N.º	3 %	4 N.º	4 %
0 — 11	11	6	54,55	23,38 — 83,25	4	36,36	2	18,18	—		—	
12 — 23	41	34	82,93	67,94 — 92,85	13	38,24	18	52,94	3	8,82	—	
24 — 35	43	35	81,40	66,60 — 91,61	9	25,71	19	54,29	7	20,00	—	
36 — 47	32	31	96,88	83,78 — 99,92	7	22,58	21	67,74	3	9,68	—	
48 — 59	37	36	97,30	85,84 — 99,93	11	30,56	21	58,33	4	11,11	—	
60 — 71	25	24	96,00	79,65 — 99,90	2	8,33	16	66,67	6	25,00	—	
72 — 83	15	15	100,00	78,20 — 100,00	3	20,00	9	60,00	2	13,33	1	6,67
TOTAL 12 — 83	193	175	90,67	85,63 — 94,38	45	25,71	104	59,43	25	14,29	1	0,57
TOTAL 0 — 83	204	181	88,73	83,54 — 92,72	49	27,07	106	58,56	25	13,81	1	0,55

L. E. C. — Limites exactos de confiança a 95 %.

QUADRO II

Distribuição por grupos etários da prevalência das diferentes espécies de parasitas detectados numa população infantil de 204 crianças dos 0 aos 6 anos de idade da freguesia de Vizela

Idade (meses)	N.º total exames	Ascaris lumbricoides N.º	%	L. E. C.	Trichuris trichiura N.º	%	L. E. C.
0 — 11	11	4	36,36	10,93 — 69,21	3	27,27	6,02 — 60,97
12 — 23	41	26	63,41	46,94 — 77,88	22	53,66	37,42 — 69,34
24 — 35	43	29	67,44	51,46 — 80,92	28	65,12	49,07 — 78,99
36 — 47	32	24	75,00	56,60 — 88,54	25	78,13	60,03 — 90,72
48 — 59	37	28	75,68	58,80 — 88,23	28	75,68	58,80 — 88,23
60 — 71	25	23	92,00	73,97 — 99,02	22	88,00	68,78 — 97,45
72 — 83	15	13	86,67	59,54 — 98,34	13	88,67	59,54 — 98,34
TOTAL 12 — 83	193	143	74,09	67,30 — 80,09	138	71,50	64,57 — 77,72
TOTAL 0 — 83	204	147	72,06	63,41 — 76,39	141	69,12	62,27 — 75,36

L. E. C. — Limites exactos de confiança a 95 %.

QUADRO II *(Continuação)*

Idade (meses)	N.º total exames	Hymenolepis nana N.º	%	L. E. C.	Enterobius vermicularis N.º	%	L. E. C.	Giardia lamblia N.º	%	L. E. C.
0 — 11	11	—			—			1	9,09	0,23 — 41,28
12 — 23	41	—			1	2,44	0,06 — 12,86	9	21,95	10,56 — 37,61
24 — 35	43	—			1	2,33	0,06 — 12,29	10	23,26	11,76 — 38,63
36 — 47	32	—			—			9	28,13	13,75 — 46,75
48 — 59	37	1	2,70	0,07 — 14,16	—			8	21,62	9,83 — 38,21
60 — 71	25	—			—			7	28,00	12,07 — 49,39
72 — 83	15	1	6,67	0,17 — 31,95	—			4	26,67	7,79 — 55,10
TOTAL 12 — 83	193	2	1,04	0,13 — 3,70	2	1,04	0,13 — 3,70	47	24,35	18,95 — 31,05
TOTAL 0 — 83	204	2	0,98	0,12 — 3,51	2	0,98	0,12 — 3,51	48	23,53	17,91 — 29,92

L. E. C. — Limites exactos de confiança a 95 %.

QUADRO III

Distribuição por grupos etários da intensidade de parasitismo por Ascaris lumbricoides **e** Trichuris trichiura **numa população infantil de 204 crianças de 0 a 6 anos de idade da freguesia de Vizela**

Idade (meses)	N.º total exames	ASCARIDIASE		TRICURÍASE	
		N.º de casos positivos	N.º médio de ovos/grama de fezes	N.º de casos positivos	N.º médio de ovos/grama de fezes
0 — 11	11	3	7833	1	400
12 — 23	41	18	8511	13	1315
24 — 35	43	11	7327	11	764
36 — 47	32	14	6929	14	1061
48 — 59	37	15	9913	16	1806
60 — 71	25	16	8013	16	1116
72 — 83	15	9	7378	9	594
TOTAL 12 — 83	193	83	8119	79	1170
TOTAL 0 — 83	204	86	8109	80	1161

Para melhor avaliação da intensidade de parasitismo, tanto para a ascaridíase como para a tricuríase, elaboramos o Quadro IV, no qual verificamos que no parasitismo por *T. trichiura* predominam as infecções ligeiras e não detectamos casos de infecções graves, visto que não encontrámos crianças com mais de 20 000 ovos/g de fezes [3, 4]. Para o *A. lumbricoides* a percentagem de infecções médias é maior que a de infecções ligeiras e registamos 5 casos de infecção intensa (mais de 30 000 ovos/g de fezes) [3].

Conclusões e Comentários

Relativamente à população infantil estudada verifica-se que a ascaridíase e a tricuríase são as parasitoses de prevalência mais elevada como é habitual nas populações pré-escolares [3, 4].

A taxa de 23,5 % observada para a giardíase é também importante, contrariamente ao que sucede com o parasitismo por *H. nana* e *E. vermicularis*, embora os resultados para a oxiuríase não sejam significativos pelas razões anteriormente expostas.

As taxas de 72,1 % para o *A. lumbricoides* e 69,1 % para o *T. trichiura* demonstram que relativamente aos valores da prevalência, aqueles parasitas têm uma importância paralela na população pré-escolar estudada. Estes valores não se afastam muito dos que observamos num estudo que realizamos nesta área no total da população [7], nem dos valores observados por outros autores nas regiões tropicais e subtropicais [3, 4], sendo bastante mais elevados dos que os detectados noutros países da Europa [4].

Dum modo geral verifica-se que a taxa de prevalência aumenta com a idade, mas é de sublinhar que na população com um ano de vida já se encontram algumas crianças parasitadas, não só por *A. lumbricoides* (36,4 %) e por *T. trichiura* (27,5 %), como também por *G. lamblia* (9,1 %), o que corresponde à elevada prevalência global de 54,6 %. Neste grupo de lactentes as infecções simples são mais frequentes que as infecções múltiplas e entre estas apenas observámos casos de biparasitismo.

No que se refere à intensidade de parasitismo notamos um comportamento ligeiramente diferente, nas parasitoses mais prevalentes. Assim, enquanto que na tricuríase predominam as infecções ligeiras e não observámos infecções intensas, na ascaridíase predominam as infecções médias e encontramos cinco casos de infecção grave (mais de 30 000 ovos/g de fezes), sendo estes valores porém, bastante inferiores aos referidos por outros autores em estudos feitos nas regiões tropicais e subtropicais [1, 3, 4].

Sendo escassos e pouco representativos os estudos feitos entre nós relativamente à intensidade de parasitismo nas populações pré-escolares, não dispomos de dados para comparação dos resultados obtidos no presente trabalho com estudos feitos em outras áreas do País.

É, contudo, de sublinhar que, em qualquer dos casos, 57,3 % das crianças da população estudada apresentam duas espécies de parasitas e 15,5 % três, o que contribui para aumentar consideravelmente a carga parasitária.

Pelos factos expostos somos levados a concluir que a ascaridíase, tricuríase e giardíase constituem importante problema de saúde pública para a comunidade estudada. Nestas condições, é conveniente a realização de estudos semelhantes, não só em outras áreas do Concelho de Guimarães, mas também em todo o País, com prioridade para a região nortenha, onde, de uma maneira geral as condições bio-ecológicas são mais propícias ao desenvolvimento dos parasitas e, em especial, dos geo-helmintas.

Tais estudos têm como objectivo chamar a atenção dos médicos e, em especial dos pediatras, para o diagnóstico das doenças parasitárias, sobretudo depois de se ter demonstrado a correlação que existe entre o parasitismo, e os fenómenos de má nutrição, sobretudo nas populações cuja situação nutricional é já deficiente [3, 4, 6].

É de salientar, todavia, que tais objectivos só serão totalmente atingidos se, a par do estudo da prevalência e do tratamento, se processar uma educação sanitária contínua, que deve começar logo na pré-primária, bem como melhoria do padrão de vida das populações, nomeadamente no que se refere ao saneamento básico.

Resumo

É referido sumariamente o importante papel das parasitoses intestinais na patologia infantil, a carência de estudos sobre este assunto e a sua repercussão no estado geral de saúde das crianças portuguesas.

QUADRO IV

Distribuição por grupos etários da frequência das pequenas, médias e grandes infecções por Ascaris lumbricoides **e por** Trichuris trichiura **numa população infantil de 204 crianças dos 0 aos 6 anos de idade da freguesia de Vizela**

Idade (meses)	N.º total exames	Ascaris lumbricoides 0 — 5000 N.º	%	5001 — 20 000 N.º	%	20 001 — 35 000 N.º	%	N.º total exames	Trichuris trichiura 0 — 1000 N.º	%	1001 — 2000 N.º	%	2001 — 3000 N.º	%	3000 N.º	%
0 — 11	3	2	66,67	1	33,33	—		1	1	100,00	—		—		—	
12 — 23	18	9	50,00	6	33,33	3	16,67	13	9	69,23	1	7,69	2	15,38	4	7,69
24 — 35	11	4	36,36	7	63,64	—		11	8	72,73	3	27,27	—		—	
36 — 47	14	8	57,14	5	35,71	1	7,14	14	9	64,29	3	21,43	1	7,14	1	7,14
48 — 59	15	4	26,67	9	60,00	2	13,33	16	6	37,50	4	25,00	4	25,00	2	12,50
60 — 71	16	6	37,50	10	62,50	—		16	12	75,00	2	12,50	1	6,25	1	6,25
72 — 83	9	3	33,33	4	44,44	2	22,22	9	7	77,78	2	22,22	—		—	
TOTAL 12 — 83	83	34	40,96	41	49,40	8	9,64	79	51	64,56	15	18,99	8	10,13	4	5,06
TOTAL 0 — 83	86	36	41,86	42	48,84	8	9,30	80	52	65,00	15	18,75	8	10,00	4	5,00

Regista-se a prevalência e intensidade de infecção de diversas parasitoses intestinais, detectadas em 242 crianças dos 0 aos 7 anos de idade, num inquérito piloto realizado numa área bem circunscrita da Freguesia de Vizela (Concelho de Guimarães).

As elevadas prevalências, juntamente com os outros parâmetros estudados demonstram que a ascaridíase, tricuríase e giardíase constituem um importante problema de saúde pública na comunidade estudada.

Summary

In this work the intestinal parasitosis is pointed out in the children's pathology as well as the lack of investigation on this matter in our country.

We registered the prevalence and intensity of parasitism concerning several intestinal parasites detected by a pilot study on 242 children, aged from 0 to seven years, inhabiting a well determined area of Vizela (Guimarães) in the north of Portugal.

The high prevalence, the occurrence of parasitic asociations and the intensity of the parasitism show that both the ascaridiasis and trichuriasis, as well as the giardiasis, are important problems of public health within the community we have studied.

Agradecimentos

Os autores querem expressar os seus maiores agradecimentos ao Dr. J. Pinho da Silva, Director do Centro de Saúde de Vizela quando do início dos trabalhos, ao Dr. A. Bilimoria que lhe sucedeu, bem como ao Sr. A. Fonseca e Castro, então Provedor do Hospital da Misericórdia de Vizela e Director do Patronato de Vizela, pelo apoio e facilidades concedidas. Os agradecimentos são extensivos ao pessoal do Centro de Saúde e à Irmã Maria do Patronato de Vizela, pela sua valiosa colaboração na colheita das fezes.

BIBLIOGRAFIA

1 — DUNN, F. L. — «Intestinal parasitism in Malayan aborigenes» Bull. Org. Mond. Sant. 46: 99, 1972.

2 — GEIGY, Documenta — Tables Scientifiques, 6ª Édition, J. R. Geigy, Basle (Switzerland).

3 — Organisation Mondiale de la Santé, Comité d'experts des Helminthiases: Helminthes tranmis par le sol. Org. Mond. Sant. Ser. Rapp. Techn. N.º 277, 1964.

4 — Organisation Mondiale de la Santé, Comité d'experts: Lutte contre l'ascaridiase. Org. Mond. Sant. Ser. Rapp. Techn. N.º 379, 1967.

5 — RITCHIE, L. S.; WYKOFF, D. E.; FRICK, L. P. — «Statistical evaluation of the formalin ether (406 MGL) fecal sedimentation concentration procedure». Am. J. Trop. Med y Hyg. 7: 150-157, 1958.

6 — SCRIMSHAW, N. S.; TAYLOR, C. E.; GORDON, J. E. — «Inteactions of nutrition and infection». Word. Health Org., Monographie, séries N.º 57, Génève, 1968.

7 — SILVA SAMPAIO, M. L. e AVELINO, I. C. — «Inquérito piloto sobre a prevalência das parasitoses intestinais numa população da Freguesia de Vizela (Guimarães) (para publicação).

8 — SILVA SAMPAIO, M. L.; AVELINO, I. C. e PEIXOTO, M. M. — «Prevalência das parasitoses intestinais numa população infantil de Amares (Braga) (em publicação).

9 — SILVA SAMPAIO, M. L.; AVELINO, I. C. e PEIXOTO, M. M. — «Prevalência das parasitoses intestinais numa população de Amares (Braga) (em publicação).

10 — SILVA SAMPAIO, M. L.; PEIXOTO, M. M.; BERMONTE, M. L. e MANSILHA, A. — «Prevalência das parasitoses intestinais numa população escolar da Freguesia de Lavra (Matosinhos)». Apresentado nas 2.as Jornadas de Doenças Infecto-Contagiosas, Porto, Janeiro de 1979.

11 — STOLL, N. R. & HAUSEER, W. C. — «Concerning two options in dilution egg counting: small drop and displacement». Am. J. Hyg. 6 (supl. Março), 134-145, 1926.

ENSAIO PILOTO COM DOSE ÚNICA DE TINIDAZOL NO TRATAMENTO DA GIARDÍASE

F. M. Coutinho da Costa (1)
M. L. Sampaio Silva (2) *
M. M. Peixoto (3)
M. A. Bastos (4)

Introdução

A incidência das infestações por *Giardia lamblia* intestinalis, muito variável de país pa a país e mesmo de região para região, segundo as condições humanas e ambienciais que presidem à consecução do ciclo evolutivo do flagelado, constitui em algumas delas, problema importante no domínio da parasitologia.

Em certas zonas de Portugal, estudos recentes permitem situar a incidência da giardíase entre 14,5 % e 26,1 %, sendo certo que os grupos etários das crianças são os mais afectados.

Conquanto a infestação se apresente assintomática em grande número de casos; diversas perturbações nomeadamente do tipo gastrointestinal e fenómenos de mal absorção lhe são atribuídos.

A necessidade do estudo de um processo cómodo e prático de tratamento da giardíase levou os autores, após um prévio ensaio com o tinidazol administrado a um grupo reduzido de crianças na dose única de 30 mg/Kg de peso, a ensaiar esse mesmo esquema na prática clínica, em ordem a confirmar a eficácia da terapêutica e a assinalar a frequência de eventuais efeitos secundários.

Metodologia

Seleccionou-se um grupo de 200 crianças, de idade compreendida entre 6 e 10 anos, com exames coprológicos positivos para quistos de Giardia lamblia intestinalis.

O método utilizado nestes exames foi o da concentração de Ritchie e coloração pelo lugol.

A cada uma destas crianças administrou-se o tinidazol, em tratamento único, na dose de 30 mg/Kg de peso e, durante uma semana foram mantidas sob vigilância médica, principalmente em ordem à detecção de eventuais efeitos secundários da droga.

Nenhuma restrição alimentar foi imposta salvo o consumo de bebidas alcoólicas no dia do tratamento e nos dois dias imediatos.

---

(1) Inspector de Saúde — Inspecção de Saúde — Coimbra, Portugal.
(2) Chefe do Laboratório de Parasitologia do Instituto Nacional de Saúde — Porto, Portugal.
* Xavier Sampaio, M. L. — nome anterior deste autor.
(3) Assistente do Laboratório de Parasitologia do Instituto Nacional de Saúde — Porto, Portugal.
(4) Preparadora do Laboratório de Parasitologia do Instituto Nacional de Saúde — Porto, Portugal.

Ao 7.º, 8.º e 9.º dia após a administração da terapêutica efectuaram-se a todos os componentes do grupo, exames parasitológicos de fezes, com recurso também ao método de enriquecimento de Ritchie e à coloração pelo lugol, a fim de se concluir sobre a eficácia da terapêutica instituída.

Resultados

Adoptou-se o critério de considerar como fracasso da terapêutica a existência de quistos de Giardia lamblia em um, dois ou três dos exames de controlo praticados ao 7.º, 8.º e 9.º dias.

Deste modo as análises positivas para quistos de Giardia lamblia ao 7.º di aapós a administração da terapêutica, por exemplo, conquanto negativas nos dois exames seguintes, foram consideradas como malogro do tratamento.

Dentro deste conceito, das 200 crianças submetidas a tratamento, apenas 5 continuaram a apresentar quistos do flagelado em um ou mais dos exames de controlo, o que permite situar em 97,5 % o índice de curas parasitológicas.

A observação e o interrogatório das crianças e seus familiares apenas permitiu detectar um único caso de náuseas e outro de vómitos, passageiros, não se tendo evidenciado qualquer outro sinal de toxicidade ou intolerância ao medicamento, na dose utilizada.

Discussão

Os promissores resultados obtidos no presente ensaio, aliás concordantes com estudo anteriormente levado a efeito, permitem adiantar uma nova fase no tratamento da Giardíase, em crianças.

Com efeito, os esquemas até agora generalizados, previam a necessidade de recurso a vários dias de tratamento, pelo que o presente ensaio utilizando terapêutica em dose única, praticamente isento de efeitos colaterais, representa um meio eficaz, cómodo e económico de lutar contra esta flagelíase.

Por outro lado os resultados obtidos com os esquemas alongados de tratamento tradicionalmente usados no combate à giardíase, embora com recurso aos fármacos modernos, não se mostram superiores às percentagens de curas (97,5 %) obtidas com o tinidazol na dose única de 30 mg/Kg de peso.

Especialmente em regiões ou países onde a giardíase ocupa lugar de relevo na nosologia local, o processo agora ensaiado de tratamento com dose única de tinidazol, apresenta-se como uma contribuição válida no domínio da Saúde Pública, por permitir encarar a possibilidade de tratamentos em massa de uma forma prática e segura e, deste modo, considerar com mais confiança a perspectiva de controlo desta flagelíase.

Resumo

Na sequência de prévio ensaio com dose única de tinidazol (30 mg/Kg peso) no tratamento da giardíase, os autores estudaram a eficácia deste esquema de tratamento e a frequência do aparecimento de efeitos secundários, na prática clínica, em 200 crianças com idades compreendidas entre 6 e 10 anos, parasitadas por Giardia lamblia intestinalis.

Os resultados obtidos, concordantes com o ensaio prévio, permitem situar a percentagem de desparasitações em 97,5 % e concluir pela excelente tolerância do medicamento.

Summary

In addition to a clinical trial carried out previously with a single dose of tinidazole (30 mg/Kg of body weight) in the treatment of giardiasis, the authors studied the efficacy of this dosage regimen and its results and frequency of side effects in clinical practice in 200 children with ages ranging from 6 to 10 years old, infested with Giardia lamblia intestinalis.

The results obtained, which correlate with the previous trial, were 97.5 % desinfestation with an excellent toleration to the drug.

BIBLIOGRAFIA

ANDERSON, T. et al. — Outbreak of giardiasis: effect of a new antiflagellate drug, tinidazole. Brit. Med. J., 1972, 2, 449-451.

FARID, Z. et al. — Tinidazole in treatment of giardiasis. The Lancet, September 21, 1974.

FORSSELL, J. et al. — Tinidazole — a new antiflagellate drug. Studies of its effect against Giardia lamblia in man. Progress in Chemotherapy, Vol. 1, 1974.

PETERSON, Tor. — Single-dose tinidazole therapy for giardiasis. Brit. Med. J., 15 February 1975.

SAWER, P. et al. — Tinidazole: a review of its antiprotozoal activity and therapeutic efficacy. Drugs, Vol. II, N.º 6, 1976.

TRATAMENTO DA GIARDÍASE EM PEDIATRIA COM UMA DOSE ÚNICA DE TINIDAZOL

M. L. Sampaio Silva (1) *
F. M. Coutinho da Costa (2)
M. M. Peixoto (3)
M. A. Bastos (4)
M. J. Queirós (5)
J. M. Calheiros (6)

Introdução

Embora haja portadores assintomáticos de *Giardia lamblia intestinalis*, a maior parte das vezes, sobretudo em crianças, esta protozoose pode causar perturbações gastro-intestinais agudas, bem como fenómenos de mal absorção, afectando consideravelmente o estado geral do indivíduo, dos quais as avitaminoses e, outras complicações mais graves, são significativa expressão.

Do exposto compreende-se a necessidade da giardíase ser devidamente tratada. Com essa finalidade vários medicamentos têm sido utilizados, como a Atebrina, a Cloroquina, a Camoquina, o Acranil, a Violeta de Genciana e, mais recentemente, o Metronidazol (Flagyl), a Furazolidona (Giarlam) e o Tinidazol (Fasigyn). A Atebrina e Flagyl, devido à sua elevada eficácia, eram até há pouco tempo os medicamentos preferidos. Todavia, segundo vários autores, podem determinar fenómenos secundários, provocando ainda a Atebrina desagradável coloração amarelada da pele.

Quanto ao Tinidazol, vários investigadores provaram que este produto não só era bem tolerado, como também era bastante eficaz, pois que, utilizando-o na dose de 300 mg diários durante 7 dias, conseguiram uma percentagem global de curas superior a 90 %.

Petterson, T. (1975), entusiasmado com os resultados obtidos com uma dose única de tinidazol no tratamento da tricomoníase, ensaia para a giardíase a dose única de 2 g em 53 adultos e 9 crianças dos 3 aos 10 anos, tendo obtido uma percentagem global de curas de 90 % e apenas 15 % de doentes com ligeiros efeitos colaterais.

Com base no que foi anteriormente descrito, tivemos como objectivo, no presente

(1) Chefe do Laboratório de Parasitologia — Instituto Nacional de Saúde (INSA) — Porto, Portugal.
* Xavier Sampaio, M. L. — nome anterior deste autor.
(2) Inspector de Saúde — Inspecção de Saúde — Coimbra, Portugal.
(3) Assistente do Laboratório de Parasitologia do INSA — Porto, Portugal.
(4) Preparadora do Laboratório de Parasitologia do INSA — Porto, Portugal.
(5) Chefe do Laboratório de Química Clínica do INSA — Porto, Portugal.
(6) Assistente do Departamento de Saúde Cumunitária do Instituto de Ciências Biomédicas «Abel Salazar» — Porto, Portugal.

trabalho, estudar a eficácia e a tolerância de uma dose única de 30 mg/Kg de peso, em 30 crianças de 6 a 10 anos de idade para, em face dos resultados obtidos, aplicarmos este mesmo esquema terapêutico a um maior número de crianças.

Metodologia

No presente trabalho foram incluídas 30 crianças de idades compreendidas entre os 6 e os 10 anos, 16 do sexo masculino e 14 do sexo feminino, provenientes de populações das escolas primárias das zonas rurais e urbanas do Norte do País, com exames coprológicos positivos para cistos de *G. lamblia*.

O método utilizado nestes exames foi o de concentração de Ritchie e coloração pelo lugol.

Todas as crianças antes do tratamento foram submetidas a um exame clínico completo, bem como a provas renais, hepáticas e hematológicas.

Excluiram-se todos os doentes que apresentavam afecções hepátáicas, renais, alterações bronco-pulmonares ou neuro-psíquicas.

O ensaio terapêutico consistiu na administração de 30 mg/Kg de peso, dado após o almoço numa dose única. Para isso as crianças eram reunidas nas Escolas ou em Casas do Povo onde, em presença das mães ou das professoras, se lhes administrava o medicamento, impondo-se como única restrição alimentar a abstenção de bebidas alcoólicas no dia do tratamento e nos dois dias imediatos. Durante o ensaio as crianças foram mantidas sob cuidadosa vigilância médica.

Os controlos parasitológicos foram efectuados ao 7.º, 8.º e 9.º dias, utilizando as técnicas anteriormente referidas.

Os exames hematológicos e as provas renais e hepáticas foram repetidas no 7.º dia após a instituição da terapêutica.

Considerando que, na selecção de 30 crianças positivas para a *Giardia lamblia*, teríamos que atender, não só à prevalência das populações escolares estudadas, mas também às crianças que teriam de ser eliminadas por não se encontrarem nas condições de saúde adequadas, por não darem as 3 amostras de fezes ou por faltarem às colheitas ou ao tratamento, procedeu-se ao exame parasitológico dum total de 600 crianças. Este número foi calculado com base na prevalência que encontramos em estudos anteriores feitos em outras escolas do Norte do País e, com uma margem de segurança necessária, para os estudos a realizar.

Resultados

A prevalência encontrada nas 600 crianças, a partir das quais seleccionamos as 30 para a realização do presente estudo, foi de 18 % nas escolas urbanas e de 30 % nas escolas rurais, o que corresponde à taxa global de 24 %.

Das 30 crianças tratadas com uma dose única de 30 mg/Kg de peso de tinidazol, apenas uma se mostrou positiva para a *G. lamblia*, após os 3 controlos de fezes, o que corresponde a uma percentagem de curas de 96,6 %.

O critério seguido para a avaliação do efeito terapêutico do medicamento, foi considerar como falência do mesmo, a positividade de qualquer das 3 análises de controlo.

O tratamento foi bem tolerado e, após minucioso interrogatório às crianças e às mães, não foram mencionados vómitos, náuseas ou outras manifestações secundárias.

Ao fim do tratamento notou-se, em todos os casos com sintomatologia, franca recuperação do estado geral e desaparecimento dos sintomas. Tanto o eritrograma e o leucograma, como as provas renais e hepáticas permaneceram dentro dos limites normais antes e uma semana depois do tratamento.

Discussão

Considerando:

— que, devido ao incremento das relações entre os povos dos diferentes países, a giardíase se tornou cada vez mais frequente, constituindo actualmente um problema à escala mundial, como provam as recentes epidemias observadas na Finlândia, Suíça e nos Estados Unidos;

— que, Portugal não constitui uma excepção, antes pelo contrário, como o demonstram as taxas de 18 a 30 % encontradas no presente trabalho nas 600 crianças observadas nas escolas rurais e urbanas no Norte do País, bem como as prevalências de 16 % e 29 % que temos encontrado, respectivamente, na casuística do Laboratório de Parasitologia do INSA e, em inquéritos, que vimos realizando desde 1972 em várias áreas do Norte do País;

— as dificuldades das pessoas, em particular as crianças, se submeterem a esquemas prolongados de tratamento, os quais não se mostraram superiores à percentagem de curas de 96,6 % obtidas no presente trabalho, com a dose única de tinidazol de 30 mg/Kg de peso.

Somos levados a concluir:

— que a posologia ensaiada representa um verdadeiro progresso na quimioterápia infantil da giardíase;

— que este mesmo esquema terapêutico, ensaiado num maior número de crianças, com resultados idênticos aos obtidos neste trabalho, poderá passar a ser utilizado na prática da clínica pediátrica, bem como nos tratamentos em massa daqueles países em que a giardíase infantil constitui um problema de Saúde Pública.

Resumo

A eficácia e a ocorrência de efeitos colaterais com a dose única de 30 mg/Kg de peso de tinidazol, foram estudados no tratamento de 30 crianças dos 6 aos 10 anos, com exames coprológicos positivos para a *Giardia lamblia intestinalis*, a partir de populações escolares de áreas rurais e urbanas do Norte de Portugal, onde, em 600 crianças observadas, se encontrou a prevalência global de 24 %.

O recurso a exames hematológicos e a provas renais e hepáticas, permitiu verificar a excelente tolerância do medicamento na dose utilizada, não se tendo verificado quaisquer efeitos secundários.

Os exames coprológicos mostraram a elevada percentagem de 96,6 % de curas parasitológicas.

Summary

The efficacy of tinidazole and the occurence of side effects with the single dose of 30 mg/K of body weight were studied in the treatment of 30 children ranging from 6 to 10 years old, with positive coprologic test for *Giardia lamblia intestinalis*, among the school population in rural and urban areas in the North of Portugal, where, among 600 children observed, the global prevalence was found to be of 24 %.

With the help of hematological examinations and renal and hepatic tests, we observed an excellent tolerance to the drug with the dosage used, with no side effects observed.

Coprologic examination showed a high percentage of 96,7 parasitological cures.

BIBLIOGRAFIA

ANDERSON, T.; FORSSELL, J. e STERNER, G. — Outbreak of Giardiasis: effect of a new antiflagellate drug, Tinidazole. British Medical Journal, 2; 449-451, 1972.

BASSILY, S.; FARID, Z.; MIKHAIL, J. W. et al. — The treatment of **Giardia lamblia** infection with mepacrine, metronidazole and furazolidone. J. Trop. Med. Hyg. 73; 15-18, 1970.

FARID, Z. et al. — Tinidazole in treatment of giardiasis. The Lancet — September 21 — 1974.

FORSSELL, J. et al. — Tinidazole — a new antiflagellate drug. Studies of its effect against **Giardia lamblia** in. man. Progress in Chemotherapy — Vol. I — 1974.

HOSKINS, L. C.; WINAWER, S. J.; BROITMAN, S. A. et al. — Clinical giardiasis and malabsorption gastroenterology, 53; 265-267 — 1967.

MARTIN, S. e WOLFE — Giardiasis. Jama, 233; 1362-1365, 1975.

PETTERSSON, T. — The effect of Tinidazole (Fasigyn) in the treatment of Giardiasis resistant to metronidazole. In the 8th International Congress of Chemotherapy — Athens. Abstract A., 453, 1973.

PETTERSON, Tor. — Single dose Tinidazole therapy for giardiasis. British Medical Journal, 15 February, 19 .

SAWYER, PHYLLIS et al. — Tinidazole: a review of it's antiprotozoal activity and therapeutic efficacy — Drugs — Vol. II, N.º 6, 1976.

JARDLEY, J. H.; TAKANO, J. et al. — Epithelial and other mucosal lesions of jejunum in giardiasis. Jejunal biopsy studies. Bull. Johns Hopkins Hospital 115; 386-406, 1964.

POLIOMIELITE

I — Prevalência de anticorpos em indivíduos dos 2-25 anos

M. Irene Pires Nunes (1)
J. Soares de Oliveira (2)
F. Galvão de Melo (3)
Laura Ayres (4)

Summary

A seroepidemiological survey on immunity to polioviruses type 1, 2 and 3 was undertaken in 1978, thirteen years since oral pollovaccine was introduced in Portugal.

Sera from 1413 subjects, aged between 2 and 25 years, collected in 14 districts were tested for neutralizing antibodies.

Type 1 antibody was found in 84,2 %, type 2 in 93,3 % and type 3 in 79,8 %. Antibodies to the three types of poliovirus were present in 66,5 %.

Only 1,3 % of the sera proved to be devoid of any antibody (titer < 1:8).

In the future, another survey should be carried out on subjects of other ages groups.

Introdução

Embora a poliomielite nunca tenha constituído, em Portugal, problema de saúde pública, a campanha de vacinação em massa levada a efeito em Outubro de 1965 fez baixar nitidamente o número de casos ocorridos em cada ano (Graf. 1), situação esta em tudo semelhante à verificada em outros países com programas de vacinação instituídos anteriormente àquela data.

A eficácia da vacina é incontroversa.

Paradoxalmente, a constatação deste facto não garante, no entanto, que a poliomielite esteja totalmente controlada e que não possa, dum momento para o outro, originar epidemias de maior ou menor gravidade, mesmo em países com serviços de saúde de alto nível, onde a cobertura vacinal de um modo geral é elevada.

O surto ocorrido na Holanda em 1978, num grupo populacional de indivíduos não vacinados, é um exemplo flagrante de que estirpes de vírus polio, virulentas, podem facilmente introduzir-se em países com índices de saúde dos melhores do mundo, como são os do referido país, causando situações inesperadas e indesejadas (8, 15).

O seu carácter universal e a circunstância de se não ter conseguido controlar a doença num grande número de países em vias de de-

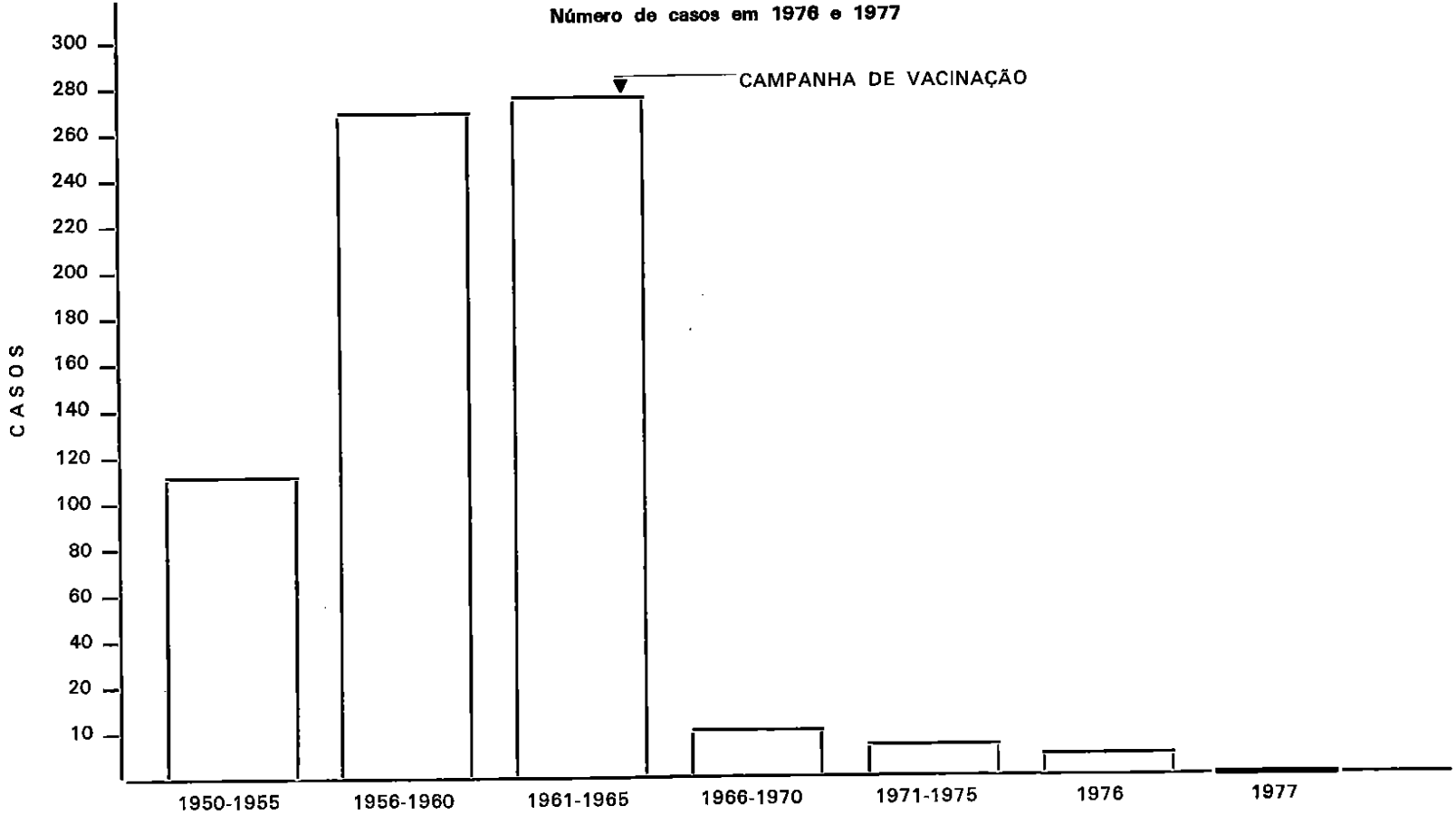
(1) Técnico Principal do Instituto Nacional de Saúde.
(2) Epidemiologista do Instituto Nacional de Saúde.
(3) Biostatista da Escola Nacional de Saúde Pública.
(4) Investigador do Instituto Nacional de Saúde.

GRÁF. 1

POLIOMIELITE EM PORTUGAL (Continente)

Número médio anual em 1950-1955, 1956-1960, 1961-1965, 1966-1970 e 1971-1975

Número de casos em 1976 e 1977



Fonte: Direcção-Geral de Saúde — Serv. Estatística.

senvolvimento, nomeadamente nos de clima tropical e sub-tropical onde o problema está longe de ser resolvido, constituiram certamente factores primordiais que levaram à inclusão desta doença no grupo das a abranger pelo Programa Alargado de Vacinação (PAV) da OMS, resolução WHA 27.25 da 27.ª Assembleia Mundial da Saúde (14).

Através da prática deste programa, proposto como iniciativa prioritária a todos os países membros, pretende-se imunizar, até 1990, contra a difteria, tétano, tuberculose, tosse convulsa, poliomielite e sarampo todas as crianças do mundo (15).

Como se depreende, a inclusão da poliomielite no grupo das doenças visadas pelo PAV, reflecte bem a actualidade do problema, apesar da aplicação de milhões de doses de vacina ao longo destas últimas décadas.

A disparidade que se verifica no que diz respeito à situação epidemiológica da poliomielite considerada a nível internacional e a facilidade com que, hoje em dia, se transita de país para país, são factores que pela importância de que se revestem, exigem dos serviços de saúde um permanente estado de alerta concretizável, na prática, pela montagem de sistemas de vigilância eficazes e aptos para detectarem as anomalias epidemiológicas que, insidiosamente, possam criar as condições propícias ao aparecimento de surtos de poliomielite, evitáveis, no entanto, se o número de indivíduos possuidores de anticorpos atingir nível elevado. Este nível deverá ser avaliado, de tempos a tempos, por meio de inquéritos serológicos, cuja importância se reconhece ser cada vez maior, à medida que, por efeito da vacina, e na grande maioria dos países, os casos de doença vão diminuindo (1), dando às populações a ilusão de que a poliomielite faz parte das doenças do passado. Consequentemente, tal ilusão poderia levá-las a relegarem para plano secundário a imprescindibilidade de aplicar às crianças o número total de doses de vacina, preconizado pelos serviços de saúde.

Percentagens bastante variadas de indivíduos sem anticorpos detectáveis para a poliomielite têm sido referidas em trabalhos da autoria de investigadores de diversos países, dotados de bons serviços de saúde (11, 12, 16).

Estes dados vêm realçar a importância dos inquéritos serológicos e a necessidade que existe em se proceder, espaçadamente, a trabalhos desta natureza.

O estudo que apresentamos foi realizado em 14 distritos do continente, e tem por objectivo avaliar o estado imunitário de indivíduos dos 2 aos 25 anos relativamente ao vírus da poliomielite, tipos 1, 2 e 3.

Tendo o laboratório de Virologia do Instituto Nacional de Saúde do Porto procedido a estudo semelhante nos distritos de Viana do Castelo, Porto, Braga e Bragança, não foram estes, logicamente, considerados na nossa investigação.

Pensamos, futuramente, completar os resultados aqui apresentados com os referentes a outros grupos etários que nos propomos estudar.

Material e métodos

Organização do inquérito

Definido o objectivo do projecto, concluída a fase de estruturação e planeamento, passou-se à de divulgação e de pedido de adesão ao estudo programado junto dos Directores de Saúde dos distritos de Aveiro, Beja, Castelo Branco, Coimbra, Évora, Faro, Guarda, Leiria, Lisboa, Portalegre, Santarém, Setúbal, Vila Real e Viseu (Quadro I).

Garantida de imediato a colaboração solicitada, passámos, posteriormente, a transmitir o plano de trabalho, em pormenor, ficando ao critério dos Directores de Saúde a selecção dos respectivos Centros com capacidade e possibilidade de assegurarem as colheitas necessárias.

O material destinado a recolha de sangues foi parcialmente fornecido pelo laboratório de Virologia do INSA, assim como as normas de colheita e devolução dos mesmos.

A circunstância de os indivíduos estarem ou não vacinados não condicionou o critério de seleccionamento, se bem que os dados referentes à sua história vacinal fizessem parte das informações pedidas no boletim de identificação.

Na impossibilidade de se colher, durante todo o mês de Outubro de 1978, o número de sangues previamente estipulado como amostra representativa, fomos obrigados a prolongar aquele prazo, de modo a solucionar dificuldades surgidas em algumas localidades, aliás compreensivas se atendermos à natureza da colheita e à pouca idade de muitos indivíduos a quem ela era pedida.

QUADRO I


V.Castelo
Braga
Bragança
V. Real
Porto
Aveiro
Viseu
Guarda
Coimbra
Castelo Branco
Leiria
Santarém
Portalegre
Lisboa
Setúbal
Évora
Beja
Faro
Distritos onde se realizou o inquérito.
Número de Centros de Saúde responsáveis pelas colheitas de sangue.

QUADRO II

Distribuição de anticorpos da poliomielite em indivíduos dos 2 aos 25 anos

(Título de anticorpos ⩾ 1:8)

Grupo Etário (Anos)	N.º Soros	TIPO DE VIRUS																					
		1 + 2 + 3		1 + 2		1 + 3		2 + 3		1		2		3		TOTAL						SEM	
																1 (1, 1+2, 1+3 e 1+2+3)		2 (2, 2+1, 2+3 e 2+1+3)		3 (3, 3+1, 3+2 e 3+1+2)		1, 2 e 3	
		N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
2-4	248	192	77,5	19	7,6	2	0,8	28	11,3	0	0,0	4	1,6	0	0,0	213	85,8	243	97,9	222	89,5	3	1,2
5-9	309	211	68,3	37	12,0	9	2,9	28	9,1	1	0,3	18	5,9	1	0,3	258	83,4	294	95,1	249	80,5	4	1,2
10-14	280	174	62,2	46	16,5	6	2,1	24	8,5	3	1,1	20	7,1	1	0,4	229	81,7	264	94,2	205	73,2	6	2,1
15-19	294	172	58,6	47	16,0	13	4,4	34	11,5	8	2,7	15	5,1	3	1,0	240	81,6	268	91,2	222	75,5	2	0,7
20-25	282	190	67,4	35	12,5	21	7,4	14	5,0	4	1,4	10	3,5	4	1,4	250	88,6	249	88,3	229	81,2	4	1,4
Total	1413	939	66,5	184	13,0	51	3,6	128	9,1	16	1,1	67	4,8	9	0,6	1190	84,2	1318	93,3	1127	79,8	19	1,3

A amostra calculada foi de 1500.

Não obstante as dificuldades referidas, conseguiram-se 1413 amostras de sangue correspondentes aos seguintes grupos etários: 2-4 anos (248 amostras), 5-9 anos (309 amostras), 10-14 anos (280 amostras), 15-19 anos (294 amostras) e 20-25 anos (282 amostras) — colhidas nos Centros de Saúde de Abrantes, Albergaria-a-Velha, Alcobaça, Aljustrel, Almada, Alter-do-Chão, Arronches, Aveiro, Batalha, Beja, Benavente, Boticas, Campo Maior, Cantanhede, Castelo Branco, Celorico da Beira, Chamusca, Coimbra, Condeixa, Covilhã, Cuba, Elvas, Espinho, Estremoz, Évora, Faro, Ferreira do Alentejo, Figueira de Castelo Rodrigo, Fornos de Algodres, Gavião, Gouveia, Grândola, Guarda, Idanha-a-Nova, Lamego, Leiria, Lisboa, Lousã, Mação, Mangualde, Marinha Grande, Mesão Frio, Montemor-o-Novo, Montemor-o-Velho, Moura, Nelas, Nisa, Odemira, Oliveira do Bairro, Penela, Ponte de Sôr, Portel, Portimão, Porto de Mós, Redondo, Santa Marta de Penaguião, Santarém, São Pedro do Sul, Sátão, Seia, Seixal, Sertã, Setúbal, Soure, Tavira, Tomar, Tondela, Valpaços, Vendas Novas, Vila do Bispo, Vila Real, Vila Real de Santo António e Viseu.

Os sangues chegados ao laboratório eram submetidos a centrifugação ligeira e os soros congelados até serem analisados.

Detecção de Anticorpos

A detecção de anticorpos neutralizantes antipoliomielíticos tipos 1, 2 e 3 foi feita no soro diluído a 1:8 em meio «Eagle minimum essential» adicionado de penicilina (100 unid./ /ml), estreptomicina (100 μg/ml) e inactivados a 56º C durante 30 min.

Como antigénios usámos as estirpes Mahoney (polio 1), YSK (polio 2) e Saukett (polio 3).

Misturas, em volumes iguais, de soros e $10^{2,0}$ TCID50/0,1 ml dos respectivos antigénios, depois de 2 horas a banho-maria a 37º C, foram inoculadas em culturas de células HEp-2 (50 000/tubo e 48 horas de crescimento) mantidas em meio «Eagle minimum essential», 2 % de soro de vitela, penicilina e estreptomicina nas concentrações acima referidas.

A leitura do teste foi feita decorridos 5 dias de incubação a 37º C e considerada como válida desde que o controlo das doses dos antigénios usadas indicasse estarem dentro de limites aceitáveis ($10^{2,0 \pm 0,5}$ TCID50/0,1 ml).

Os soros com títulos iguais ou superiores a 1:8 foram tomados como positivos e negativos os inferiores a 1:8.

Resultados

O quadro II mostra a distribuição dos anticorpos neutralizantes antipoliomielíticos tipos 1, 2 e 3 pelos vários grupos etários seleccionados para o estudo em questão.

Da análise dos resultados obtidos, respeitantes a 1413 indivíduos dos 2-25 anos, 1190 (84,2 %), 1318 (93,3 %), 1127 (79,8 %) apresentavam títulos de anticorpos ⩾ 1:8, respectivamente para o vírus polio 1, polio 2 e polio 3 e 939 (66,5 %) tinham anticorpos para todos os três tipos de vírus. Apenas em 19 (1,3 %) dos indivíduos não foi possível detectar qualquer tipo de anticorpos.

Verificou-se ainda que 363 indivíduos (25,7 %) eram seropositivos para dois tipos de vírus (1+2 ou 1+3 ou 2+3) e 92 (6,5 %) somente para um único (1 ou 2 ou 3).

Discussão

A avaliação dos indivíduos susceptíveis ou imunes ao vírus da poliomielite por meio de reacções serológicas não é isenta de dificuldades, atendendo a que os resultados dependem consideravelmente da técnica usada e da diluição óptima que consiga traduzir o nível de anticorpos necessário à protecção dos indivíduos contra a manifestação clínica da doença.

A definição deste nível de anticorpos não está estabelecido admitindo-se mesmo poder variar de indivíduo para indivíduo (4).

Em estudos semelhantes realizados em diferentes países e regiões, as diluições de soro usadas vão vulgarmente de 1:2 a 1:10 (1, 2, 4, 7, 19).

Os resultados que apresentamos consideramo-los como passíveis de alteração, pelo facto de não nos termos decidido por uma diluição mais baixa.

Numa recente publicação, SABIN chama a atenção e insiste no facto de os inquéritos serológicos só conseguirem avaliar completamente o estado imunitário de uma população quando as técnicas usadas obedeçam a determinadas condições, podendo ser uma delas a de se usar o soro não diluído (17).

Ainda na opinião do mesmo investigador, a imunidade à infecção, incluindo a produzida pela vacina oral, está associada nalgumas pessoas a níveis de anticorpos muito baixos, ou mesmo não detectáveis, em presença da resistência intestinal à reeinfecção (18).

Já há alguns anos, BÖTTIGER & COL., (4) perante a situação verificada na Finlândia (50% de crianças com menos de cinco anos seronegativas para um ou mais tipos de vírus polio e nenhum caso de doença-LAPINLEIMU, 1967), (9), admitiam a possibilidade de níveis de anticorpos idênticos aos referidos por SABIN poderem conferir protecção. Experiências realizadas, anteriormente, na Suécia, apoiavam a hipótese daqueles investigadores (3).

Segundo os mesmos autores, pelo menos 90 % das crianças finlandesas tinham sido vacinadas (vacina inactivada).

Desconhecemos, nesta altura, qual a percentagem de indivíduos seropositivos existentes na Finlândia mas podemos afirmar que, naquele país, e, até 1977, a incidência da poliomielite paralítica continuava reduzida a zero (15).

No nosso estudo, as percentagens de indivíduos, por grupo etário, com anticorpos para todos os três tipos de vírus (quadro II), situou-se em níveis considerados geralmente sub-óptimos apresentando, no entanto, valores mais elevados nos grupos etários da população mais jovem: 77,5 % para o grupo dos 2-4 anos e 68,3 % para o grupo dos 5-9 anos, correspondendo ao grupo dos 15-19 anos a percentagem mais baixa (58,6 %) logo seguida do grupo dos 10-14 anos com 62,2 %.

É evidente, que os resultados obtidos não atingem algumas das taxas de seroconversão conseguidas em países como a Suécia, U. S. A. e mesmo a Itália (4, 5. 17, 19), ressalvadas as diferenças resultantes da influência que possa ter tido a diluição usada em cada um daqueles estudos.

No entanto, os nossos resultados quando comparados com os obtidos por MORTTIMER e CUNNIGHAM (12) em investigações idênticas por eles realizadas em Inglaterra evidenciam uma ligeira vantagem, com relevância para o número de indivíduos sem anticorpos para os três tipos de vírus, situando-se mesmo entre os valores máximos e mínimos das percentagens obtidas por MacLEOD e COL., relativas a 1119 indivíduos dos 4-6 anos por eles investigados (11).

Quanto às taxas de seroconversão, considerando individualmente cada um dos três tipos de vírus, os valores mais elevados verificaram-se com o vírus polio tipo 2 em todos os grupos etários com excepção do grupo dos 20-25 anos em que, inexplicavelmente, baixa para 88,3 % quando no grupo dos 15-19 anos ainda se mantinha em 91,2 %.

A maior antigenicidade do vírus polio tipo 2 tem sido referida por vários investigadores entre eles BÖTTIGER e COL (4).

Relativamente ao vírus polio tipo 1 os valores atingidos são satisfatórios em todos os grupos etários. Não podemos afirmar o mesmo no caso do vírus polio tipo 3.

As percentagens que se obtiveram em quatro dos cinco grupos estudados são de todas as mais baixas. Entretanto, atingem nos grupos etários dos 2-4 e 5-9 anos 89,5 % e 80,5 %, respectivamente.

Sendo estes indivíduos os mais vulneráveis à infecção, pensamos poder afirmar que a situação não é tão preocupante como poderia parecer numa análise mais superficial.

No que diz respeito às seroconversões verificadas no grupo etário dos 20-25 anos não encontramos facilmente justificação para o aumento que sofrem as relativas aos vírus tipo 1 e 3 baixando, embora ligeiramente, a do vírus polio tipo 2.

A completar os resultados que apresentamos pensamos realizar investigação semelhante extensiva a outros grupos populacionais.

Para DÖMÖK e COL. (6), a eficácia dos programas de vacinação deve ser avaliada mais em termos de redução da incidência da doença do que em termos de taxas de seroconversão.

No entanto, o valor dos inquéritos serológicos não é de modo algum posto em causa pelos referidos investigadores.

O conhecimento do número de susceptíveis à doença, especialmente nos grupos populacionais mais jovens, pode indicar, antecipadamente, qual o risco que corre uma comunidade face a uma epidemia.

Resumo

Com o objectivo de se avaliar o estado imunitário da população em relação ao vírus da poliomielite, procedeu-se a um inquérito serológico realizado em 14 distritos do continente, tendo sido investigados 1413 soros de

indivíduos dos seguintes grupos etários: 2-4, 5-9, 10-14, 15-19 e 20-25 anos.

A detecção de anticorpos neutralizantes antipoliomielíticos tipos 1, 2 e 3 foi processada no soro diluído a 1:8.

Os resultados obtidos e comentados, serão, dentro de algum tempo, complementados com os de outros grupos etários.

REFERÊNCIAS

1 — BAINTON, D.; FREEMAN, M.; MAGRATH, D. I.; SHEFFIELD, F.; SMITH, J. W. G. (1979) — Immunity of children to diphtheria, tetanus and poliomyelitis. Br. Med. J., 1:854-857.

2 — BERNARD, J. G.; COLBERT, L.; DARBON, A.; DIOUX, R.; DOUKHAN, G.; GIRIER, L.; MONTAGNON, B. & SERVANT, P. (1962) — Étude immunologique de la vaccination associée antidiphtérique, antitétanique, antityphoparatyphoïdique et antipoliomyélitique. Bull. WHO, 26: 699-725.

3 — BÖTTIGER, M. & LAGERCRANTZ, R. (1969) — Immunization with inactivated poliovirus vaccine and attenuated type 3 poliovirus. I. Vaccination with the WM3 strain in 20 families. J. Pediat. 75 (1): 30-38.

4 — BÖTTIGER, M.; ZETTERBERG, B. & SELENSTEDT, C. R. (1972) — Seroimmunity to poliomyelitis in Sweeden after the use of inactivated poliovirus vaccine for 10 years. Bull. WHO, 46: 141-149.

5 — CESARIO, T. C.; JONES, V.; POLAND, J. D. & CHIN, T. D. Y. (1969) Persistence of poliovirus neutralizing antibodies four years after immunization with live attenuated vaccine. Am. J. Epidemiol. 90 (2): 157-161.

6 — DÖMÖK, I. & MAGRATH, D. I. (1979) — Guide to poliovirus isolation and serological techniques. WHO (public. offset n.º 46).

7 — EVANS, A. S.; CASALS, J.; OPTON, E. M.; BORMAN, E. K.; LEVINE, L. & CUADRADO, R. R. (1969) — A nationwide serum survey of colombian military recruits, 1966 — Amer. J. Epidemiol. 90 (4): 292-303.

8 — FURESZ, J. (1979) — Poliomyelitis outbreaks in the Netherlands and Canada. Can. Med. Assoc. J. 120: 905-906.

9 — LAPINLEIMU, K. (1967) — Sero-immune pattern of poliomyelitis type I and III in a population vaccinated with inactivated polio vaccine. Cit. por BÖTTIGER & COL. (1972). Bul. WHO, 46: 141-149.

10 — LINNEMANN, C. C.; STEFANOVIC, G.; SHEA, L.; MAY, D. B. & SCHIFF, G. M. (1974) — Poliovirus antibody in urban school children. J. Pediat., 84 (3): 404-406.

11 — MAcLEOD, D. R. E.; ING, W. K.; BELCOURT, R. J. P.; PEARSON, E. W. & BELL, J. S. (1975) — Antibody status to poliomyelitis, measles, rubella, diphteria and tetanus, Ontario, 1969-1970: deficiencies discovered and remedies required. Can. Med. Assoc. J. 113: 619-623.

12 — MORTTIMER, P. P. & CUNNINGHAM, P. (1975) — Sero-immunity to poliovirus in children and young women: England 1972-1974. J. Hyg. (Camb.), 74: 283-287.

13 — OBERHOFER, T. R.; BROWN, G. C. & MONTO, A. S. (1975) — Seroimmunity to poliomyelitis in an american community. Am. J. Epidemiol., 101 (4): 333-339.

14 — Off. Rec. n.º 217, WHO, 1974.

15 — Poliomyelitis in 1977. WHO, Wkly. Epidem. Rec., n.º 53, 1978.

16 — REID, D.; BELL, E. J.; GRIST, N. R. & WILSON, T. S. (1973) — Poliomyelitis: a gap in immunity? Lancet, 2: 899-900.

17 — SABIN, A. B. (1979) — Perspectives on current use of some virus vaccines in the USA. Pediatr. Res., 13: 674-683.

18 — SABIN, A. B. (1979) — Op. cit (17).

19 — VOLPI, A.; RAGONA, G.; BIONDI, W.; ROCCHI, G. & ARCHETTI, I. (1976) — Seroimmunity to polioviruses in an urban population of Italy. Bull. WHO, 54: 275-278.

Agradecimentos

Aos Directores de Saúde dos distritos de Aveiro, Beja, Castelo Branco, Coimbra, Évora, Faro, Guarda, Leiria, Lisboa, Portalegre, Santarém, Setúbal, Vila Real e Viseu,

Aos Directores dos Centros de Saúde de Abrantes, Albergaria-a-Velha, Alcobaça, Aljustrel, Almada, Alter do Chão, Arronches, Aveiro, Batalha, Beja, Benavente, Boticas, Campo Maior, Cantanhede, Castelo Branco, Celorico da Beira, Chamusca, Coimbra, Condeixa, Covilhã, Cuba, Elvas, Espinho, Estremoz, Évora, Faro, Ferreira do Alentejo, Figueira do Castelo Rodrigo, Fornos de Algodres, Gavião, Gouveia, Grândola, Guarda, Idanha-a-Nova, Lamego, Leiria, Lisboa, Lousã, Mação, Mangualde, Marinha Grande, Mesão Frio, Montemor-o-Novo, Montemor-o-Velho, Moura, Nelas, Nisa, Odemira, Oliveira do Bairro, Penela, Ponte de Sôr, Portel, Portimão, Porto de Mós, Redondo, Santa Marta de Penaguião, Santarém, São Pedro do Sul, Sátão, Seia, Seixal, Sertã, Setúbal, Soure, Tavira, Tomar, Tondela, Valpaços, Vendas Novas, Vila do Bispo, Vila Real, Vila Real de Santo António e Viseu,

A todos os Técnicos de Laboratório e de Enfermagem,

A todos os que permitiram que lhes fosse colhido sangue ou a seus familiares,

A todos os que, mesmo indirectamente, nos ajudaram,

À Dr.ª Amélia Leitão e Dr. Bandeira Costa da Direcção-Geral de Saúde pelos dados fornecidos,

deixamos expressos os nossos agradecimentos pela colaboração desinteressada que nos prestaram sem a qual não teria sido possível realizar este trabalho.

Uma palavra especial para as Sr.ªs D. Gilda Mareco Costa e Arminda Perez Pardal pela aplicação e dedicação como executaram as técnicas e outras tarefas que lhes competiram.

O VÍRUS DA GRIPE A (H_1 N_1) EM PORTUGAL

M. V. T. de Figueiredo *

1. As epidemias (H_1 N_1) no passado

O vírus (H_1 N_1) apareceu primeiramente em 1946 na Austrália, espalhou-se através do Mundo nos anos seguintes, tendo sido totalmente substituído pela estirpe asiática (H_2 N_2) em 1957. A primeira epidemia parece ter ocorrido na América em 1947, num campo militar, tendo havido outros surtos epidémicos em 1949-50, 1950-51 e em 1952-53.

A epidemia, tanto na América como nas outras partes do globo, foi extensa mas sempre de carácter benigno, com taxas de mortalidade baixas.

Este comportamento da estirpe (H_1 N_1) em 1947 pôde explicar-se, mais tarde, por se ter verificado uma variação antigénica, dos antigénios de superfície do tipo «drift» em relação à estirpe anterior (H_0 N_1), estando portanto as populações parcialmente imunizadas.

2. As epidemias (H_1 N_1) em 1977

2.1. Na Rússia

Em princípios de Novembro, em Moscovo, isolou-se de um rapaz de 22 anos, com síndrome gripal, um vírus da gripe que foi classificado como gripe A (H_1 N_1). Poucos dias depois, desencadeou-se um surto epidémico entre estudantes de uma escola náutica, com idades compreendidas entre os 15 e os 20 anos, tendo sido isoladas várias estirpes (H_1 N_1). Rapidamente, a epidemia atingia várias cidades russas sendo sempre principalmente afectadas crianças e jovens adultos. No grupo etário dos 7-14 anos a percentagem dos afectados foi de 13 %, sendo esta taxa mínima no grupo dos maiores de 20 anos. Todas as estirpes isoladas estavam relacionadas com as estirpes A/USSR/90/77 (H_1 N_1) e A/FM/ /1/47 (H_1 N_1).

2.2. Em Hong-Kong

Em Hong-Kong, em Novembro de 1977, verificou-se um marcado absentismo em escolas primárias e secundárias tendo sido isoladas algumas estirpes idênticas à estirpe A/FM/ /1/47 (H_1 N_1). Todas as estirpes isoladas foram provenientes de indivíduos com idades inferiores a 24 anos e a maioria, de indivíduos não internados em hospitais, o que reflecte o carácter habitualmente benigno das infecções causadas por estes vírus.

Em 1977 o panorama imunitário das populações em relação à estirpe (H_1 N_1) era totalmente diferente do de 1947. Em 1977 o reaparecimento desta estirpe constituiu uma variação «shift», observando-se grande variação antigénica nos dois antigénios de superfície em relação aos antigénios da estirpe de Hong-Kong (H_3 N_2) prevalente no globo há 10 anos; os indivíduos com idades inferiores a 20 anos não tinham tido qualquer experiência passada com esta estirpe, o que justifica ser sido este o grupo etário mais atingido.

---

* Técnico Principal do INSA.

Recentemente, verificou-se que todos os genes RNA desta estirpe são idênticos aos dos genes da estirpe inicial de 1947, pelo que se pensa que se trate da mesma estirpe.

O actual regresso de estirpe (H_1 N_1), confundiu os investigadores ligados ao problema da epidemiologia da gripe.

Várias hipóteses se podem pôr para explicar o seu reaparecimento [4] mas nenhuma delas neste momento se pode confirmar.

A partir de 1977-78 a OMS recebeu notícia do isolamento desta estirpe «histórica» em vários países através de todo o mundo; mas, enquanto em 1957 e em 1968, quando igualmente ocorreram variações tipo «shift», as estirpes novas substituiram total e rapidamente as estirpes em circulação na altura, desde 1977 até agora continuam em circulação simultaneamente duas estirpes do tipo A (H_3 N_2) e (H_1 N_1). Esta situação não era conhecida até à data. Resta-nos esperar e ver se a situação se mantém na próxima época de gripe.

3. O vírus (H_1 N_1) em Portugal

Em Portugal, em soros colhidos em 1976, antes do reaparecimento da estirpe (H_1 N_1), verificámos que, como acontecia em outras partes do globo [1, 2], indivíduos com idades inferiores ou iguais a 20 anos não tinham tido contacto com esta estirpe (Quadro n.º 1).

Assim, verificámos num inquérito serológico conduzido em indivíduos do Bairro da Musgueira em Lisboa, (soros estes que nos foram gentilmente cedidos pelo Sr. Dr. Pereira Miguel do Núcleo de Cardiologia Preventiva) que cerca de 70 % dos indivíduos com idades superiores a 20 anos tinham no soro títulos de anticorpos inibidores de hemaglutinação superiores ou iguais a 10, para a estirpe A/ /USSR/90/77 (H_1 N_1), enquanto que 95 % dos indivíduos com idades inferiores ou iguais a 20 anos revelaram títulos inferiores a 10.

Em 1978-79 (de Outubro a Maio) estudámos o impacto que a estirpe (H_1 N_1) teve numa população da zona de Lisboa, com idade inferior ou igual a 20 anos; usámos soros que deram entrada no serviço de Virologia para outros fins que não gripe.

Verificámos que até fins de 1978, a média geométrica dos títulos de inibição de hemaglutinação (mG tit IH) se mantém entre os 4,9-5 enquanto a partir de Janeiro de 1979 essa média subiu sensivelmente, com valores entre 15.7 — 11.8 (Quadro n.º 2).

QUADRO 1

Prevalência de anticorpos inibidores de hemaglutinação (IH) para o vírus da gripe A (H_1 N_1) em soros de 1976 de indivíduos de uma zona de Lisboa (Musgueira)

		Títulos IH					%
grupos etários (anos)	n.º soros estudados	< 10	10	20	40	80	< 10
≤ 20	20	19	1	0	0	0	95
21-30	20	7	5	7	1	0	35
31-50	20	5	5	7	3	0	25
50	20	6	10	4	0	0	30

QUADRO 2

Incidência das infecções por gripe A ($H_1 N_1$) numa população da zona de Lisboa no grupo etário ⩽ 20 anos, em 1978-79

	Títulos IH							%	m G tit. IH
	n.º soros estud.	< 10	10	20	40	80	160	⩾ 10	
Out. 1978	22	22	0	0	0	0	0	0	4,9
Nov. 1978	19	19	0	0	0	0	0	0	4,9
Dez. 1978	23	22	1	0	0	0	0	4,3	5,0
Jan. 1979	24	2	5	17	0	0	0	91,6	15,2
Fev. 1979	24	10	3	7	3	1	0	58,3	11,8
Mar. 1979	24	8	3	5	7	1	0	66,7	14,8
Abr. 1979	24	7	3	7	6	0	1	70,8	15,7
Maio 1979	24	6	9	5	3	1	0	75,0	11,9

Nota: Títulos < 10, consideram-se = 5 para determinação das m G.

Conclusão

Parece poder concluir-se dos resultados que em Portugal a estirpe ($H_1 N_1$), terá feito a sua aparição, ou pelo menos a sua disseminação em fins de 1978 princípios de 1979.

BIBLIOGRAFIA

1 — Weekly Epid. Record (OMS) n.º 50, 1977.
2 — Weekly Epid. Record (OMS) n.º 1, 1978.
3 — LAVER, W. G. e WEBSTER, R. G. (1973) — Studies on the origin of pandemic influenza. Virology, 51, 383-391.
4 — LAVER, W. G. — Ecology of influenza viruses in lower mammals and birds. Brith. Med. Bull. (1979), Vol. 35, n.º 1, 29-33.

VIGILÂNCIA DA GRIPE EM PORTUGAL

M. V. T. de Figueiredo *

1. Necessidade de vigilância da gripe

A gripe é uma doença que na sua forma epidémica dissemina-se com extrema rapidez, não respeitando fronteiras, podendo desorganizar por completo as nações atingidas.

O controlo da gripe constitui um problema complexo em Saúde Pública.

Os vírus responsáveis por este síndroma não são agentes estáveis (em particular os do grupo A) ao contrário do que acontece com muitos outros vírus; sofrem continuamente variações antigénicas, que quando extensas (variações «shift»), alteram o panorama da imunidade já adquirida para as estirpes prevalentes anteriormente. Por esta razão, para controlar eficazmente a gripe, há necessidade de manter uma vigilância não só virológica como epidemiológica.

Epidemiologicametnte há necessidade de se saber em cada época a extensão e gravidade de uma epidemia; virologicamente é necessário conhecer a composição antigénica dos vírus isolados em cada surto. Os dois estudos, virológico e epidemiológico, sempre que possível, devem ser conduzidos em paralelo, sendo contudo sem sombra de dúvida o mais importante o primeiro. A detecção precoce das variações antigénicas é da maior importância na previsão de futuras epidemias e no controlo das mesmas, por selecção das variantes apropriadas à produção de vacina eficaz para cada época.

O estudo do estado imunitário das populações é ainda particularmente importante quando da escolha do esquema de vacinação.

Habitualmente cada variante que surge, substitui rapidamente as anteriormente prevalentes.

A coexistência de distintas variantes antigénicas como tem vindo a acontecer em 1977-78 e 1978-79, com as duas variantes de gripe A ($H_3 H_2$) e ($H_1 N_1$) muitas vezes isoladas do mesmo surto epidémico, é uma situação considerada anormal.

2. «Programa gripe» da OMS

O reconhecimento da importância internacional da gripe e do necessário esforço conjunto de todas as Nações, levou a OMS em 1947, por altura do 4.º Congresso Internacional de Microbiologia em Copenhagen, a estabelecer o «Programa gripe», isto na altura em que surgia uma nova estirpe ($H_1 N_1$) que dava origem a uma epidemia de certa extensão e sem se dispor de meios rápidos de produção de vacinas.

O «Programa gripe» de então, propunha a criação de uma larga rede de Laboratórios Nacionais, espalhados por todo o Mundo, de um Laboratório Central em Londres, de um Centro para o estudo das estirpes isoladas, em

* Técnico Principal do INSA.

New York ficando em Geneve na OMS o Centro de colheitas e distribuição de todas as informações. Actualmente há cerca de 100 Centros Nacionais espalhados por 70 países, todos coordenados pela OMS em Geneve e dois Centros Internacionais de referência e investigação, um em Londres e outro servindo as Américas, em Atlanta na Geórgia.

A organização deste «Programa gripe», está esquematizada diagramaticamente na fig. 1.

O principal objectivo deste programa é a vigilância virológica a nível nacional, permitindo obter nos Laboratórios de Referência Mundiais estirpes de gripe isoladas nos laboratórios periféricos nacionais com a máxima brevidade, para que as possíveis variantes sejam rapidamente analisadas e enviadas aos competentes laboratórios produtores de vacinas.

Um segundo objectivo será obter o maior número de informações epidemiológicas.

A vigilância epidemiológica pode ser conseguida indirectamente pela colecção e análise das taxas de morbilidade e mortalidade referentes à gripe.

Os dados de morbilidade assentam unicamente em diagnósticos clínicos; mas, sendo difícil clinicamente fazer um diagnóstico seguro de gripe, mesmo em períodos de franca epidemia, muitas vezes as taxas obtidas para a morbilidade por gripe, traduzem na realidade a morbilidade por doença respiratória aguda, de uma maneira geral. No entanto, vários anos de experiência têm mostrado que há correlação entre o aumento destas taxas e a presença do vírus da gripe na comunidade.

Similarmente, as taxas semanais de mortalidade por gripe, reflectem o conjunto de mortes não só por gripe, como por bronquites ou pneumonias. No entanto, continua a aceitar-se que em determinado ano o excesso do número de mortes por doença respiratória, reflecte a actividade por gripe nesse ano, podendo estas taxas ser usadas como medida retrospectiva do impacto da gripe.

Se todos os países possuíssem eficientes serviços de estatística, seria uma maneira simples e válida de comparar o impacto da gripe nos diferentes pontos do Mundo.

3. Vigilância da gripe em Portugal

O Centro Nacional da Gripe criado desde 1950 sob a direcção do Sr. Prof. Dr. Arnaldo Sampaio tem procurado cumprir a missão que lhe cabe na complexa rede Internacional do «Programa Gripe» da OMS. A vigilância virológica, tem sido tarefa nem sempre fácil, pela dificuldade de obtenção de notificação dos surtos epidémicos. Todos os vírus isolados, são preliminarmente classificados e enviados ao Centro Mundial de Londres no National Inst. for Medical Research em Mill Hill, para posteriores estudos.

A vigilância epidemiológica, dado que o nosso País não dispõe de estatísticas rápidas e seguras é conseguida como aconselha a OMS para países com dificuldades semelhantes às nossas ([4]) através da avaliação semanal dos níveis de anticorpos para as estirpes prevalentes.

De momento estudamos uma população da área de Lisboa.

Com a colaboração dos Centros de Saúde, pensamos num futuro conseguir uma amostra representativa de todo o País.

3.1. Material e Métodos

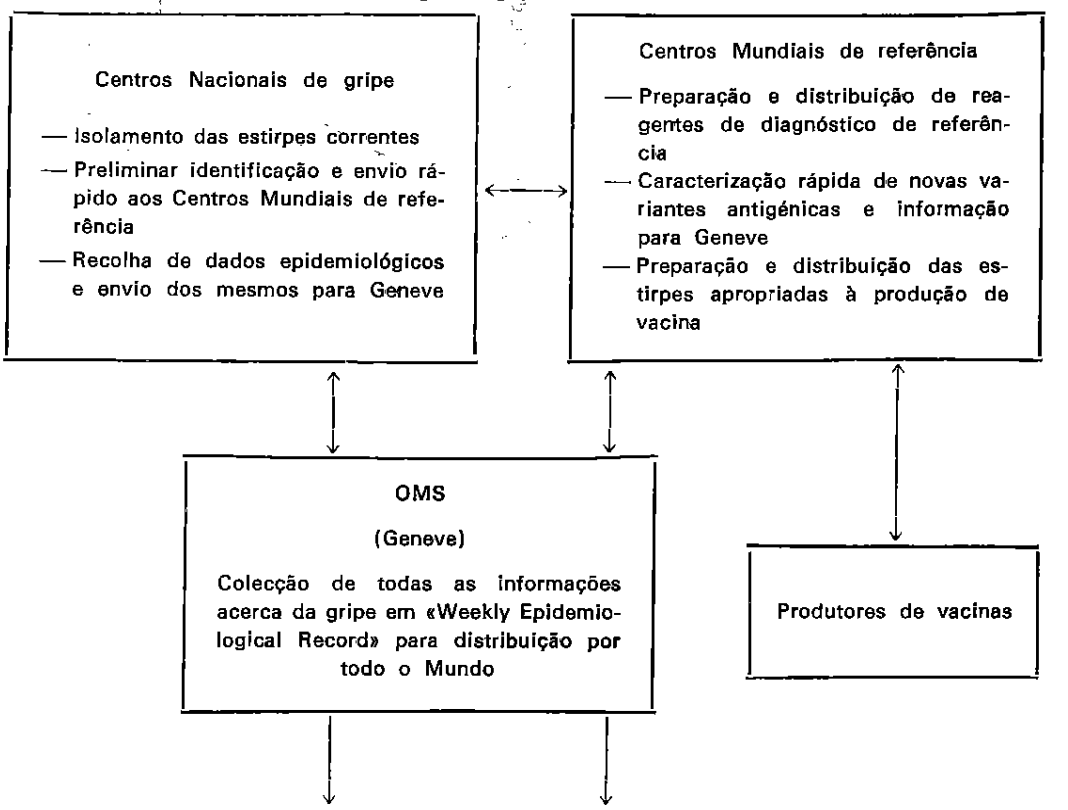
Os exsudados faríngeos para isolamento dos vírus são colhidos por zaragatoas faríngeas ou gargarejos em soro fisiológico e transportados ao laboratório em meio de transporte. O isolamento dos vírus é feito em ovos embrionados de galinha com 10-11 dias de incubação.

Dos casos de doença são também colhidos dois sangues, um na fase aguda outro na de convalescença 2 a 3 semanas após o início da doença. Estes sangues são analisados no sentido de se detectar subida de anticorpos para a gripe por reacções de fixação de complemento, usando microtécnica.

Para medir o impacto da gripe por avaliação serológica dos níveis de anticorpos, estudamos 30 soros semanais de doentes que acorrem ao serviço de Virologia para outros fins que não gripe, (quase todos para determinação do nível de anticorpos para a rubéola) pertencentes ao grupo etário 20-30 anos. Estes soros são analisados por reacções de inibição da hemaglutinação (IH) em presença das estirpes prevalentes na época em curso. Todos os soros são tratados com 100 unidade de RDE (Receptor Destroing Ensyme) para destruição dos inibidores inespecíficos. Para efeito do cálculo da média geométrica, soros com títulos inferiores a 10 são considerados iguais a 5.

FIG. 1

«Programa gripe» da OMS *



* Diagrama adaptado do trabalho de Pereira, M. S., 1979

3.2. **Resultados em 1977-78 e 1978-79**

Em 1977-78 as estirpes de gripe A isoladas, revelaram-se idênticas à estirpe A/Texas/ /1/77 ($H_3 N_2$) pequena variante (variante «drift») da estirpe A/Hon-Kong/68 ($H_3 N_2$).

Não se isolaram estirpes de gripe B.

Em 1978-79 as estirpes isoladas foram pertencentes ao grupo B e semelhantes à estirpe B/Hong-Kong/8/73.

Atribuimos a falha de isolamento de vírus da gripe A em 1978-79, não só ao pequeno número de amostras estudadas, como também, possivelmente, ao termos sido forçados a substituir por dificuldades no fornecimento, os ovos Leghorn que vínhamos usando, por ovos produzidos por um híbrido da raça Leghorn possivelmente com sensibilidade inferior para o isolamento do vírus da gripe A.

Na vigilância serológica verificámos que tanto na época de gripe de 1977-78 como na de 1978-79 houve predomínio de gripe A sobre a gripe B.

Em 1977-78 (Quadro I) os níveis mais elevados de anticorpos IH observaram-se na 3.ª semana de Janeiro, enquanto em 1978-79 (Quadro II) se observaram em Novembro, 46.ª semana do ano, tendo-se observado de seguida um declínio progressivo.

BIBLIOGRAFIA

1 — ASSAAD, F. and col. (1973) — Use of excess mortality from respiratory diseases in the study of Influenza. Bull. Org. Mond. Sante, 1973, 49: 219-233.

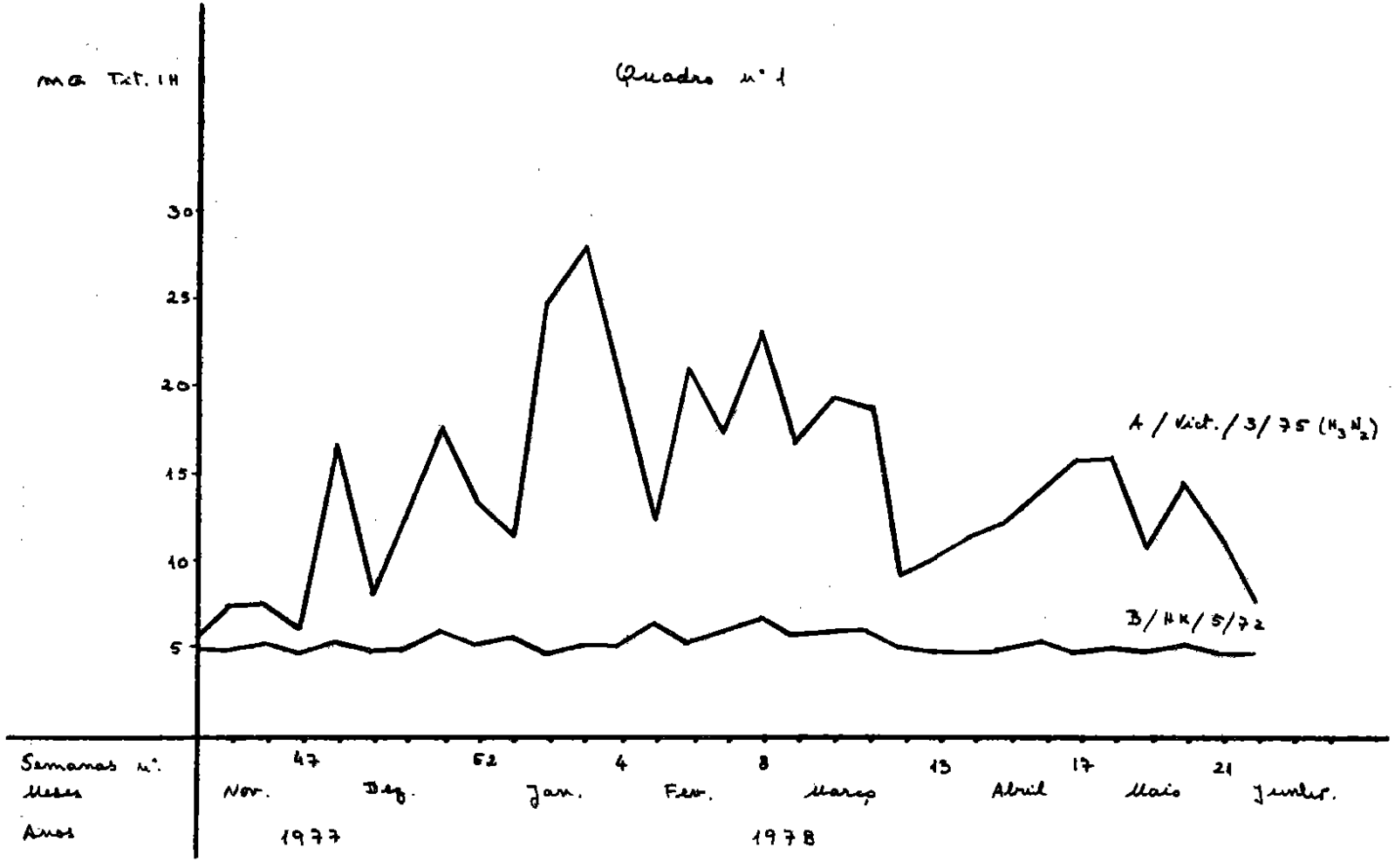
2 — ASSAAD, F. et col. (1977) — International Influenza surveillance. Rev. Epid. et Santé, Publ. (1977), Vol. 25, n.º 5-6, 441445.

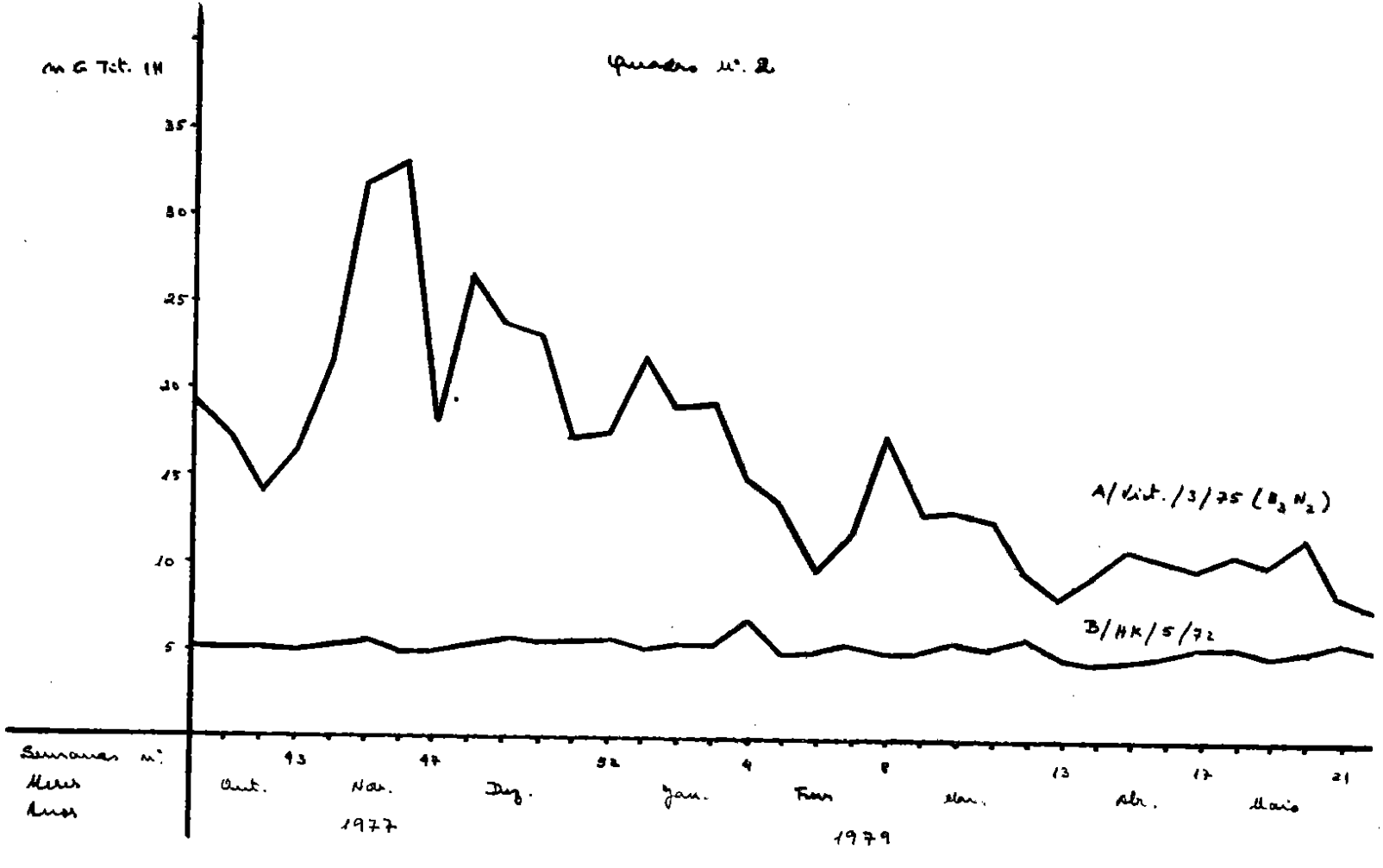
3 — HANNOUN et col. (1977) — Surveillance of influenza in France. Rev. Epid. et Sante Publ. (1977), 25: 447-457.

4 — PEREIRA, M. S.; ASSAAD, F. A. e DELON, P. J. (1978) — Influenza surveillance. Bull. WHO 56 (2): 193-203 (1978).

5 — PEREIRA, M. S. (1979) — Global surveillance of Influenza. Brit. Med. Bull. (1979), Vol. 35, 1, 9-14,

6 — RUBIN, R. J. and col. (1975) — Influenza surveillance in the United States 1972-1979. Amar. J. Epidemiolog. 1975, 102, 225-232.


mm Tit. IH
Quadro n° 1
30
25
20
15
10
5
A / Vict. / 3 / 75 (H3N2)
B / HK / 5 / 72
Semanas n°:
47
52
4
8
13
17
21
Meses
Nov.
Dez.
Jan.
Fev.
Março
Abril
Maio
Junho
Anos
1977
1978


Quadro n°. 2
m G Tit. IH
35
30
25
20
15
10
5
A/Lit./3/75 (B_3N_2)
B/HK/5/72
Semanas n°
Meses
Anos
43
47
52
4
8
13
17
21
Out.
Nov.
Dez.
Jan.
Fev.
Mar.
Abr.
Maio
1977
1979

OS ARBOVÍRUS EM SAÚDE PÚBLICA

Armindo Filipe
Instituto Nacional de Saúde
Escola Nacional de Saúde Pública
Av. Padre Cruz — LISBOA

Introdução. Arbovírus. Definição. Conceito ecológico.

Nos últimos anos tem-se procurado chamar a atenção e despertar o interesse entre nós, para a importância que têm os agentes da Família dos Arbovírus, não só em Saúde Pública, mas também em economia animal.

Os conhecimentos de que se dispõe neste momento acerca da presença e actividade dos Arbovírus em Portugal e respectiva importância em Patologia Humana são ainda bastante limitados. Por outro lado já no que diz respeito à repercussão da actividade dos arbovírus na economia animal, os resultados têm sido desastrosos. O vírus da Peste Suína Africana está na origem de vários milhões de contos de prejuízo, acumulados nos últimos 20 anos, como resultado da presença enzootica deste vírus ([31]).

Não é pois, demais, insistir em dar maior difusão acerca de diversos aspectos relacionados com a maneira como se processa a sobrevivência na natureza desta Família de vírus. Interessa destacar porque razão se trata de um grupo de vírus altamente patogénicos para o homem. Do mesmo modo interessa assinalar qual a importância que estes vírus podem ter para Portugal e porque razão convém estar atento a esta ameaça para a Saúde Pública.

Durante muito tempo, os vírus animais transmitidos biologicamente por intermédio de artrópodos — os arbovírus — apenas fizeram convergir sobre si as atenções, sempre que se encontravam associados, de alguma maneira, a epidemias ou epizootias de graves repercussões.

Ao observarmos o quadro onde se encontram discriminados os países e anos em que vários arbovírus foram isolados, num período compreendido entre 1900 e 1949 (Quadro I) verificamos que durante esse tempo foram identificados e classificados no Catálogo dos Arbovírus, cerca de 35 vírus novos ([2]). Todos ou quase todos os agentes isolados nessa época, estiveram associados, inicialmente, ao desencadear de epidemias graves, de grandes dimensões, tais como: a Febre Amarela, a Febre do Vale do Rift, os vírus do Complexo Dengue, a Peste Suína Africana, as várias En-

* Do Inglês: Arthropod-borne virus.

QUADRO I

Arbovírus isolados durante a primeira metade deste século (2)

Década	Continente	País	Vírus
1900-09	África	África do Sul	Língua Azul
1910-19	África	Kénia	Peste Suína Africana, Doença das Ovelhas de Nairobi
1920-29	África Europa América do Norte	Nigéria Escócia U. S. A.	Febre Amarela Louping ill Estomatite Vesiculosa (Indiana, USA)
1930-39	África Ásia América do Norte América do Sul	Kénia África do Sul Uganda Japão U. R. S. S. U. S. A. Venezuela	Febre do Vale do Rift Peste Equina Bwamba, West Nile Encefalite Japonesa B Encefalite Verno-estival Russa Encefalomielite Equina Oriental Encefalite de S. Louis Encefalomielite Equina Ocidental Encefalomielite Equina da Venezuela
1940-49	África Ásia Austrália Europa América do Norte América do Sul	Uganda Japão U. R. S. S. U. S. A. (Hawai) Nova Guiné Checoslováquia Itália U. S. A. Brasil Colômbia	Bunyamwera, Ntaya, Floresta de Semliki Uganda S, Zika Negishi Omsk Dengue 1 Dengue 2 Hanzalova Febre dos Flebotomos, de Nápoles e Sicília Encefalite da Califórnia, Febre das carraças do Colorado, Trivittatus Ilhéus Anopheles A; Anopheles B; Wylomya

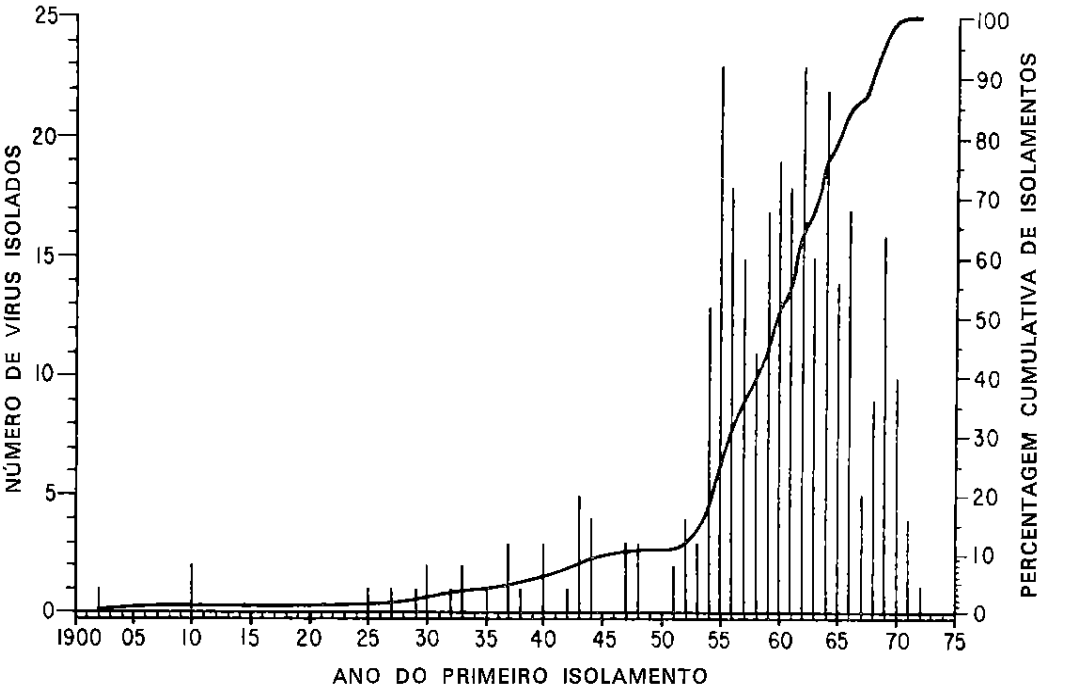
cefalomielites Equinas das Américas, etc., isto para apenas citar alguns dos 35 agentes então assinalados ([9]).

Dificuldades técnicas de natureza diversa condicionaram o progresso e desenvolvimento de toda a Virologia até ao início da década de 50. Os estudos com os Arbovírus estiveram também, igualmente, dependentes da consolidação de certos conhecimentos em outros domínios, como a Bioquímica e a Biofísica. Contudo, a verdade é que provas simples, hoje utilizadas como rotina, tais como a prova de inibição da hemaglutinação, limitaram durante muitos anos a realização de trabalhos com este grupo de agentes. De facto, se observarmos a curva do Quadro II, podemos verificar que foi durante a década de 50 que o isolamento dos arbovírus entrou em franco progresso. Isto aconteceu, entre outras razões, porque também na mesma época vários problemas técnicos relacionados com a aplicação das provas serológicas em arbovirologia, foram resolvidos satisfatoriamente.

A aplicação da prova de inibição da hemaglutinação ao estudo dos arbovírus, associada à prova de fixação do complemento e à prova de neutralização, utilizadas igualmente no diagnóstico virológico, tornaram possível a Casals, em 1957, formular o conceito de Grupo Antigénico ([8]). Esta definição, fundamental para a sistematização dos conhecimentos em Virologia, foi igualmente da maior importância para

QUADRO II

Ano de isolamento dos vírus registados no Catálogo de Arbovírus (2)



o avanço dos trabalhos a efectuar com os arbovírus. A definição de grupo antigénico diz-nos que «vírus pertencendo ao mesmo grupo antigénico partilham entre si estruturas antigénicas comuns».

Este conceito juntamente com a informação cada vez maior obtida acerca da epidemiologia e ecologia dos arbovírus e, como tal, da transmissão biológica por intermédio dos artrópodos hematófagos, permitiram dar uma certa unidade biológica a este grupo de vírus.

Em 1960, a Organização Mundial de Saúde designou um grupo de peritos para fazer o primeiro estudo sobre a Família dos Arbovírus. Foi então apresentada a definição ainda hoje aceite: «Arbovírus são vírus cuja sobrevivência na natureza é feita por transmissão biológica entre artrópodos hematófagos e hospedeiros vertebrados susceptíveis. Estes vírus multiplicam-se e produzem virémia nos hospedeiros vertebrados. Multiplicam-se nos tecidos dos artrópodos e após um período de incubação extrínseca são transmitidos a novos vertebrados por picada do artrópodo infectado» ([35]).

Quando um artrópodo hematófago faz uma colheita de sangue num vertebrado em virémia, o vírus é recolhido pelo artrópodo juntamente com o sangue. Depois o agente atravessa o estômago e acaba por se ir alojar nas glândulas salivares. Ali, o vírus efectua a sua replicação atingindo elevados níveis de concentração. Isto permite que posteriormente o artrópodo possa reinocular esse agente a um novo vertebrado quando tem necessidade de voltar a fazer uma nova colheita de sangue.

Este aspecto acerca da replicação do vírus nos tecidos dos artrópodos é o que se designa por transmissão biológica. É este processo de sobrevivência dos arbovírus na natureza que concede características biológicas especiais a este grupo de vírus.

Actualmente, todos os vírus são agrupados de acordo com diversas propriedades físico-químicas. No entanto, no caso dos arbovírus a definição baseia-se num conceito puramente ecológico que continua a ser utilizado para efeito de estudos epidemiológicos.

Os primeiros trabalhos de sistematização, realizados com os arbovírus, foram feitos por

Casals e Brown em 1954 [7] e por Casals em 1957 [8]. No entanto, nessa época, se observarmos o Quadro II, o número total de arbovírus isolados não tinha atingido ainda os 50 vírus.

À medida que os conhecimentos acerca das propriedades físico-químicas e estruturais dos arbovírus conhecidos iam progredindo, surgiam os pormenores que mostravam que este grupo de vírus era morfológica e estruturalmente muito heterogéneo. Em cerca de 25 anos de estudo intensivo (1953/1978), este grupo de vírus passou de 44 para 408, em Dezembro de 1978 [2]. O número de Grupos Antigénicos passou para cerca de 55 (Quadro III). Para um numeroso grupo de vírus ainda não existem elementos suficientes que os permita reunir a algum ou alguns dos grupos antigénicos conhecidos. Deste modo, permanecem à parte 91 vírus, ainda mal estudados e acerca dos quais a informação de que se dispõe é muito limitada.

Ao entrarmos na década dos anos 80 a Família dos Arbovírus embora agrupada por conveniência, com base em aspectos ecológicos constitui o maior e um dos mais importantes grupos de vírus. Durante as reuniões científicas de Supetar em 1978 [39] e de Smolenice em 1979 [25], foi várias vezes realçado, que o estudo deste grupo de vírus continua a ser de maior importância, ainda que seja apenas abordado numa visão puramente epidemiológica e ecológica.

Os arbovírus encontram-se dispersos por todas as latitudes do Globo e nos mais variados biótipos. No Quadro IV podemos verificar que, a predominância inicial de isolamento dos vírus tem sido feita em países situados em regiões tropicais, zonas onde as condiçõeõs ecológicas são ideais para o desenvolvimento de populações de artrópodos. No entanto, também no continente europeu foram isolados pela primeira vez 23 novos agentes, isto antes da sua presença ser assinalada em outros continentes. De qualquer modo o número de arbovírus que foram isolados na Europa nos últimos anos é superior a 40 [28] (Quadro VII).

As dificuldades existentes para incorporar todos os arbovírus num sistema coerente de classificação de vírus levaram Casals [10] a advogar os seguintes princípios:

1 — «O termo ARBOVÍRUS designa um conceito epidemiológico que nada tem a ver com os conceitos correntes, aceites nas classificações adoptadas para agrupamento do vírus, e, assim, o termo ARBOVÍRUS não deve figurar nessas classificações»;

2 — O conjunto dos ARBOVÍRUS não pode ser incorporado como um todo, numa divisão de um sistema universal e por isso os seus componentes, individualmente ou em grupos antigenicamente relacionados, devem ser repartidos e distribuídos pelos diferentes grupos taxonómicos de um sistema de classificação universalmente aceite;

3 — A classificação dos viriões com ácido nucleico do tipo ARN, simetria cúbica e membrana, são aceites na generalidade dos sistemas de classificação adoptados. Alguns ARBOVÍRUS, em especial os que foram classificados nos grupos antigénicos A e B, podem ser incorporados neste sistema de taxonomia. Mas também é verdade que outros vírus que não são ARBOVÍRUS podem ser incluídos no mesmo grupo.

Arbovírus. Doenças Transmissíveis

Na maioria dos laboratórios de virologia onde se trabalha com arbovírus, estes agentes passaram a ser estudados de acordo com dois tipos de orientação. Num dos casos foi dada prioridade ao estudo dos arbovírus nos diversos aspectos epidemiológicos. O estudo da ecologia destes vírus passou a ocupar um lugar fundamental. Este tipo de orientação para as pesquisas com os arbovírus tem sido seguido particularmente nos países onde os arbovírus constituem problemas em Saúde Pública. No segundo caso, alguns arbovírus têm sido escolhidos como modelo para projectos de investigação a realizar no sentido de contribuir para o esclarecimento de certos problemas a nível estrutural e molecular. Alguns arbovírus são de facto vírus muito simples, o que os torna um material excelente para certos tipos de trabalho em que as técnicas de bioquímica são muito utilizadas.

De qualquer modo e desde há muitos anos, os estudos realizados com os arbovírus têm contribuído para a introdução de novos conceitos no estudo da Patologia das Doenças Transmissíveis

Assim, e recordando o estudo clássico de uma doença infecciosa, é suficientemente conhecido que o conjunto de sintomas começa por caracterizar e definir uma determinada

QUADRO III

Grupos antigénicos dos 408 vírus registados no Catálogo dos Arbovírus em 31-12-78 (2)

Grupo Antigénico	Abreviação	N.º de vírus por grupo	% do total
A	A	24	5,9
Peste Equina	AHS	1	0,2
Anopheles A	ANA	3	0,7
Anopheles B	ANB	2	0,5
B	B	60	14,7
Bakau	BAK	2	0,5
Língua Azul	BLU	1	0,2
Boteke	BTK	2	0,5
Bunyamwera Supergrupo		93	22,8
Bunyamwera Supergrupo: Bunyamwera	BUN	18	
Bunyamwera Supergrupo: Bwamba	BWA	2	
Bunyamwera Supergrupo: C	C	11	
Bunyamwera Supergrupo: Califórnia	CAL	13	
Bunyamwera Supergrupo: Capim	CAP	6	
Bunyamwera Supergrupo: Guama	GMA	6	
Bunyamwera Supergrupo: Koongol	KOO	2	
Bunyamwera Supergrupo: Mirim	MIR	2	
Bunyamwera Supergrupo: Olifantsvlei	OLI	3	
Bunyamwera Supergrupo: Patois	PAT	4	
Bunyamwera Supergrupo: Simbu	SIM	17	
Bunyamwera Supergrupo: Tete	TETE	5	
Bunyamwera Supergrupo: não agrupados		4	
Changuinola	CGL	2	0,5
Colorado tick fever	CTF	2	0,5
Congo	CON	2	0,5
Corriparta	COR	2	0,5
Dera Ghazi Khan	DGK	5	1,2
Epizootic hemorrhagic disease	EHD	1	0,2
Eubenangee	EUB	2	0,5
Hart Park	HP	5	1,2
Hughes	HUG	4	1,0
Kaisodi	KSO	3	0,7
Kemerovo	KEM	16	3,9
Kwatta	KWA	1	0,2
Malakal	MAL	2	0,5
Mapputta	MAP	3	0,7
Marburg	MBG	2	0,5
Matariya	MTY	3	0,7
Doenças das avelhas de Nairobi	NSD	3	0,7
Nyando	NDO	1	0,2
Palyam	PAL	4	1,0
Febre dos Flebotomos	PHL	24	5,9
Qalyub	QYB	2	0,5
Quaranfil	QRF	2	0,5
Sakhalin	SAK	4	1,0
Sawgrass	SAW	2	0,5
Tacaribe	TCR	9	2,2
Tanjong Rabok	TR	2	0,5
Thogoto	THO	1	0,2
Timbo	TIM	2	0,5
Turlock	TUR	3	0,7
Uukuniemi	UUK	5	1,2
Estomatite vesiculosa	VSV	7	1,7
Wallal	WAL	1	0,2
Warrego	WAR	2	0,5
Não agrupados		91	22,3
Total		408	

QUADRO IV

Primeiro isolamento dos 408 vírus registados no Catálogo dos Arbovírus em 31-12-1978, distribuídos por Continente, País e década do isolamento inicial (2)

Continente	País ou Região	Antes de 1930	1930-39	1940-49	1950-59	1960-69	1970-78	Total
África	Camarões					2		2
	Imp. Cent. Africano					11	19	30
	Egipto				5	7	3	15
	Kénia	2	1			1		4
	Nigéria	1			2	6		9
	Senegal					10		10
	Seychelles						1	1
	África do Sul	1	1		15	1	1	19
	Sudão					1		1
	Uganda		2	5	6	4		17
	Zaire						1	1
	Totais	4	4	5	28	43	25	109
Ásia	Camboja					1		1
	Índia				12	9	2	23
	Irão					2	1	3
	Israel				1			1
	Japão		1	1	6	1		9
	Malásia				7	5	3	15
	W. Paquistão					3		3
	Golfo Pérsico					1		1
	Singapura					1		1
	Tailândia					1		1
	URSS (Este)		1	1		5	9	16
	Totais	0	2	2	26	29	15	74
Australásia e Ilhas do Pacífico	Austrália				1	25	7	33
	USA (Hawai)			1				1
	Ilha Johnston					1		1
	Nova Guiné			1				1
	Nova Zelândia					1		1
	Filipinas				2			2
	Totais	0	0	2	3	27	7	39
Europa	Checoslováquia			1	2	4	1	8
	Finlândia				1	2		3
	França					2		3
	Rep. Fed. Alemanha					1	2	3
	Itália			2				2
	Escócia	1					2	3
	URSS (Ocidental)				1		1	2
	Totais	1	0	3	4	9	6	23
América do Norte	Canadá				1	1	3	5
	Guatemala					1		1
	México					2	1	3
	Panamá				3	15	3	21
	U. S. A.	1	3	3	10	26	6	49
	Totais	1	3	3	14	45	13	79
América do Sul	Argentina				1			1
	Bolívia					1		1
	Brasil			1	18	27	3	49
	Colômbia			3	2	2		7
	Guiana Francesa					1	3	4
	Peru					2		2
	Surinam					1		1
	Trindade				13	5		18
	Venezuela		1					1
	Totais	0	1	4	34	39	6	84
	TOTAL	6	10	19	109	192	72	408

afecção. Os dados epidemiológicos podem permitir antever a presença, ou não, de um agente etiológico transmissível e provável responsável pela origem da doença. A hipótese põe-se, muito antes de suceder o próprio isolamento do agente. Por outro lado, a análise do conjunto de elementos de que se dispõe, pode permitir caracterizar a existência de uma identidade nova, no conjunto das situações já conhecidas. Numa segunda fase do estudo da doença procura-se isolar e caracterizar o agente etiológico responsável pela doença. Em seguida, procuram-se estudar e definir todos os parâmetros que permitam afirmar que o agente isolado é o responsável pela situação clínica anteriormente descrita. Depois estabelecem-se os parâmetros epidemiológicos respectivos. De uma maneira geral, pode-se dizer que esta é a metodologia utilizada para o estudo de uma entidade nosológica de origem infecciosa. Ora com o estudo dos arbovírus acontece que deu-se uma inversão da metodologia acabada de apresentar.

A primeira situação descrita nestas condições surgiu acidentalmente em 1937, a propósito de um caso de um síndroma febril indeterminado. Nessa altura foi isolado do sangue de um doente um agente então desconhecido. Posteriormente este foi identificado como um vírus e recebeu o nome de vírus West Nile ([36]).

Este agente cujos estudos efectuados vários anos mais tarde mostraram tratar-se de um arbovírus, foi isolado de um doente, antes de haver conhecimento da doença que provocava. Mais tarde, diversos quadros clínicos foram identificados como sendo da responsabilidade deste vírus ([21]).

No homem a doença provocada pelo vírus West Nile pode apresentar-se segundo duas formas. Numa delas aparece como um síndroma febril agudo, por vezes com recaídas, seguida de um longo período caracterizado por astenia e prostração. Na segunda forma, a doença tem uma fase febril bifásica. Ao síndroma febril sucede-se uma encefalite por vezes grave. Entre estas duas situações existem diversas formas, algumas inaparentes e só detectáveis como resultado da realização de inquéritos serológicos.

Em vários destes casos foi isolado, sempre o mesmo agente e, foi também sempre encontrada seroconversão positiva. Na década de 60, em quase todos os países da bacia do Mediterrâneo foi detectada actividade deste vírus. Em alguns casos assistiu-se ao desenrolar de epidemias atacando o homem: Israel ([3]), França ([22]), Egipto ([13]). Em certas regiões onde existiam equídeos ocorreram epizootias entre os cavalos: Egipto ([36]), França ([22]), Portugal ([16]). Em 1969 o vírus foi isolado em Portugal a partir de mosquitos *Anopheles maculipennis* ([14]). Esta actividade do vírus West Nile, coincidiu com o interesse geral que suscitou o estudo dos arbovírus. Este facto veio permitir que fosse perfeitamente estudada a patogeneidade deste vírus. O vírus causador da «Febre de West Nile», como é hoje conhecido, surge na literatura médica como um agente que permitiu criar uma metodologia nova no estudo da Patologia das Doenças Infecciosas e contribuiu decisivamente para o progresso da epidemiologia dos arbovírus.

Arbovírus. Patologia e Patogenia

De acordo com a informação disponível no final do ano passado (1978) eram então conhecidos 92 arbovírus, ou vírus estudados habitualmente pelos arbovirologistas, como sendo agentes patogénicos para o homem. Como responsáveis por infecções contraídas no laboratório foram identificados 54 vírus (Quadro V ([2]). Alguns agentes provocaram doença no pessoal técnico que trabalhou com estes vírus no laboratório (caso dos vírus do Grupo Tacaribe). No entanto, são desconhecidas quais as doenças que podem provocar no homem, quando este de algum modo, se introduz no ciclo biológico de circulação do vírus na natureza.

Alguns arbovírus estão na origem de epidemias muito graves, outros são causadores de doenças benignas, outros ainda provocam infecções inaparentes. Numerosas vezes só os inquéritos serológicos têm podido mostrar que alguns vírus permanecem activos na natureza e podem produzir infecções no homem.

Ao estudar a importância dos arbovírus em Patologia Humana é importante ter em atenção dois factos ligados à replicação destes vírus nos hospedeiros vertebrados. Em primeiro lugar, convém recordar que todos estes vírus são potencialmente neurotrópicos para os mamíferos. O isolamento dos arbovírus é feito sempre por inoculação no murganho recém-nascido. Qualquer que seja a via de inoculação no citado animal de laboratório, a evolução da doença no murganho sensível, conduz sempre ao aparecimento de uma afecção do sistema nervoso central e termina com a morte do animal. É no sistema nervoso deste animal,

QUADRO V

Arbóvírus associados a doenças do homem, adquiridas na Natureza ou no Laboratório
Números conhecidos em 31-12-1978 (2)

GRUPO ANTIGÉNICO	N.º total de vírus no Grupo	Infecções na Natureza	Infecções no Laboratório
A	24	10	8
Peste Equina	1	0	0
Anopheles A	3	0	0
Anopheles B	2	0	0
B	60	28	24
Bakau	2	0	0
Língua Azul	1	0	0
Boteke	2	0	0
Bunyamwera Supergrupo			
Bunyamwera Supergrupo: Bunyamwera	18	5	2
Bunyamwera Supergrupo: Bwamba	2	1	0
Bunyamwera Supergrupo: C	11	9	2
Bunyamwera Supergrupo: Califórnia	13	5	0
Bunyamwera Supergrupo: Capim	6	0	0
Bunyamwera Supergrupo: Guama	6	2	0
Bunyamwera Supergrupo: Koongol	2	0	0
Bunyamwera Supergrupo: Mirim	2	0	0
Bunyamwera Supergrupo: Olifantsvlei	3	0	0
Bunyamwera Supergrupo: Patois	4	0	0
Bunyamwera Supergrupo: Simbu	17	2	1
Bunyamwera Supergrupo: Tete	5	0	0
Bunyamwera Supergrupo: Não agrupado	4	0	0
Changuinola	2	1	0
Febre das carraças do Colorado	2	1	1
Congo	2	1	1
Corriparta	2	0	0
Dera Ghazi Khan	5	0	0
Doença hemorrágico-epizoótica	1	0	0
Eubenangee	2	0	0
Hart Park	5	0	0
Hughes	4	0	0
Kaisodi	3	0	0
Kamerovo	16	1	1
Kwatta	1	0	0
Malakal	2	0	0
Mapputta	3	0	0
Marburg	2	2	2
Matariya	3	0	0
Doenças das ovelhas de Nairobi	3	3	2
Nyando	1	1	0
Palyam	4	0	0
Febre dos Flebotomos	25	5	0
Qalyub	2	0	0
Quaranfil	2	1	0
Sakhalalin	4	0	0
Sawgrass	2	0	0
Tacaribe	9	3	5
Tanjong Rabok	2	0	0
Thogoto	1	0	0
Timbo	2	0	0
Turlock	3	0	0
Uukuniemi	5	0	0
Estomatite vesiculosa	7	4	3
Wallal	1	0	0
Warrego	2	0	0
Não agrupados	91	6	2
	408	92	54

que os arbovírus replicam com muita facilidade e rapidamente atingem elevadas concentrações de vírus. Por outro lado, é também nas células endoteliais dos vasos de alguns órgãos, onde alguns destes vírus encontram condições excepcionais de replicação. Fácil se torna compreender, as consequências resultantes desta particular afinidade dos vírus, para certos tipos de células do organismo, quando a replicação viral se efectua nos capilares de órgãos vitais. É exemplo sobejamente conhecido e típico, a patologia da Febre Amarela. Durante uma epidemia desta virose podem ser encontrados casos clínicos que vão desde «síndromas do tipo gripal», até febres hemorrágicas; do característico «vómito negro» até às encefalites ([34]).

De qualquer modo e como resultado da replicação dos arbovírus no homem, podem ser classificados 3 grandes grupos de síndromas:

1 — síndroma febril, com ou sem manifestações exantemáticas;

2 — encefalites;

3 — febres hemorrágicas.

Quando uma arbovirose se desenvolve com as características de uma epidemia é quase sempre possível encontrar indivíduos doentes apresentando os diversos tipos de síndromas assinalados. Contudo as febres hemorrágicas não aparecem em todas as afecções causadas por arbovírus.

Em numerosas doenças a sintomologia que os doentes apresentam é muito semelhante, embora causada por vírus diferentes. Nestes casos só o laboratório de arbovírus poderá demonstrar qual o vírus causador da doença (Quadro VI) ([15]).

Por outro lado, o diagnóstico exacto da afecção é particularmente importante, pois constitui um guia orientador para a luta a desenvolver contra o vector. Na maioria dos casos de epidemia, para as quais não existe protecção eficaz, com a excepção da Febre Amarela, a luta contra o vector é o único meio de combate que pode obter algum sucesso.

Como a própria definição de arbovírus nos diz, a sobrevivência e propagação destes vírus na natureza, está intimamente ligada à existência de condições ecológicas, favoráveis ao aumento das populações de artrópodos hematófagos. Desde logo se compreende que seja nas regiões tropicais, que tenha sido detectada maior actividade dos arbovírus. Ali os artrópodos hematófagos sobrevivem durante todas as estações do ano.

Repare-se no Quadro IV. A maioria dos isolamentos de arbovírus realizou-se em laboratórios localizados em países das regiões tropicais, o que está de facto intimamente associado à existência de melhores condições para a proliferação de populações de artrópodos infectados.

Arbovírus na Europa. As aves migradoras como transportadoras de vírus

Na Europa, durante a primeira metade deste século, os arbovírus não pareciam, aparentemente, estar ligados à existência de problemas importantes em Saúde Pública. Como tal, não suscitaram até recentemente o interesse dos diferentes laboratórios a trabalharem em virologia. Exceptuam-se, no entanto, aqueles casos em que a actividade dos vários vírus estava associada à existência de doenças com características especiais de evolução, que despertaram desde sempre a atenção dos clínicos. Foi, entre outros, o caso de doenças como a Encefalite Verno-Estival Russa (Encefalite Transmitida por carraças) e o Louping ill.

Apesar de tudo, não deixa de ser interessante assinalar aqui, que também em diversas regiões da Europa e em várias zonas junto do círculo polar ártico, existem nichos ecológicos onde se podem observar grandes populações do mosquitos durante os períodos quentes ([24]). Uma situação deste tipo pode, por exemplo, ser observada na região norte da Finlândia. Na Lapónia, as condições ecológicas são desfavoráveis para os artrópodos durante a maior parte do ano. No entanto, no curto período do Verão, os mosquitos são um tormento para os turistas e animais vivendo na região. Todavia apesar das condições ecológicas serem inóspitas foi há alguns anos isolado naquela região o vírus Inkoo, um vírus do Complexo da Encefalite da Califórnia ([4]).

Um outro exemplo de nichos ecológicos de arbovírus, existente na Europa, está situado na reserva da Camarga, no Sul de França. As condições ecológicas são ali favoráveis à sobrevivência de populações de artrópodos hematófagos.

Os estudos sobre arbovírus efectuados no local permitiram o isolamento de diversos agentes (West Nile, Tahyna, Ponteves e Grand Arbaud) ([23]).

QUADRO VI

Quadro comparativo da sintomatologia das doenças provocadas pelos vírus O'Nyong Nyong; Chikungunya; West Nile; Complexo Dengue; e febre dos Flebotomos (15)

	O'Nyong Nyong	Chikungunya	West Nile	Complexo Dengue	Febre dos Flebotomos
Período de incubação	Provavelmente não inferior a 8 dias	3/12 dias	3/6 dias	5/8 dias	2/6
Início da doença...	Súbito	Súbito	Súbito	Súbito	Súbito
Temperatura	Não bifásica	Bifásica	Em alguns casos bifásica	Não bifásica embora em alguns casos bifásica	Não bifásica
Artralgias	Moderadas a intensas	Intensas	Intensas	Intensas	Moderadas a intensas
Exantema	Papular ou maculopapular (semelhante ao sarampo). Irritante	Semeelhante ao do vírus O'Nyong Nyong	Maculopapular (especialmente no tronco)	Maculopapular ou escarlatiniforme. Dura 3/4 dias	Não é frequente. Ocasionalmente, urticária ou eritema multiforme
Cefaleias...	Muito frequentes	Pouco frequentes	Intensas	Intensas a frequentes	Muito frequentes
Dor retro-ocular	Muito comum	Ausente	Frequente	Frequente	Muito comum aquando de movimentos
Bradicardia	Sem bradicardia	Bradicardia ocorrendo na 2.ª fase da doença	?	Com bradicardia relativa inicialmente. Bradicardia na convalescença	Bradicardia no final do período febril
Sintomas respiratórios	Faringite, tosse seca	Ausente	Faringite, tosse seca	Faringite, tosse	Faringite, traqueobronquite
Sintomas do sistema nervoso central	Ausente	Ausente	Por vezes sinais de meningite e encefalite	Ausentes	Ausentes
Sintomas gastro intestinais	Sintomatologia ligeira	Semelhante ao O'NN	Perturbações diversas, diarreias	Constipação desconforto epigástrico, cólicas, espasmos, hemorragias (casos no Extremo Oriente)	Na fase prodromica constipação, diarreia na fase de convalescença
Sangue	Leucopenia e relativa linfocitose	Semelhante ao O'NN	Leucopenia com linfocifose	Leucopenia	Leupenia no 2.º e 3.º dia de doença, os linfocitos podem aumentar de 40 para 65 %
Urina...	Normal	Normal	?	Normal	Normal
Recorrência	Parecem raras	Sem recorrência	Sem concorrência	?	22 % com segundo ataque

A elevada densidade populacional dos países europeus e as condições ecológicas existentes na maior parte da Europa, não são propícias à presença da maior parte dos vírus transmitidos por mosquitos.

No que diz respeito aos vírus transmitidos por carraças, a sua sobrevivência na natureza processa-se de modo diferente dos vírus transmitidos por mosquitos. Os vírus que têm as carraças como vectores, podem sob.eviver endemicamente por tempo indefinido em nichos ecológicos restritos. Ao contrário do que sucede habitualmente com a maioria dos vírus transmitidos por mosquitos, os vírus que são transmitidos por intermédio de carraças passam através do ovo para as gerações seguintes de artrópodos. Nestas condições sucede que em determinadas áreas, pode manter-se a sobrevivência do vírus sem que haja ou seja necessária a intervenção de hospedeiros vertebrados intermediários. No fundo, é como se em determinados nichos ecológicos existissem ciclos de replicação silenciosos. Dada a dificuldade em lutar eficazmente contra estes artrópodos, uma zona onde existem carraças infectadas é uma área que permanece enzoótica, e em que dificilmente se poderá erradicar a virose.

A importância das aves migradoras e residentes, no transporte à distância dos arbovírus, é suficientemente conhecida ([13]). Diversos trabalhos têm sido feitos em vários continentes e todos têm mostrado a responsabilidade das aves migradoras no transporte e disseminação dos arbovírus.

Dada a situação geográfica de Portugal as aves migradoras são os vertebrados que podem ter maior importância para a introdução de novos arbovírus oriundos de focos endémicos situados na África ou na Ásia. Por outro lado, as aves migradoras podem contribuir igualmente para o movimento de certos vírus dentro da própria Europa.

Vistas nesta perspectiva, interessa assinalar que as aves podem ser associadas de duas maneiras ao transporte de vírus. Ao serem picados por um artrópodo infectado, estes vertebrados podem fazer uma infecção por um vírus, seguida pouco depois por uma virémia. Se isto sucede, pouco antes das aves iniciarem o voo migratório, há possibilidade de a fase de virémia vir a ocorrer quando a ave já se encontra a várias centenas ou milhares de quilómetros do foco original de actividade da virose.

Nestas condições, ao ser picada por um artrópodo hematófago, pode ser criado, eventualmente, um novo foco enzoótico.

Uma outra maneira, pela qual as aves podem contribuir para a disseminação a longas distâncias de doenças de origem viral, está ligada ao facto de as aves poderem transportar carraças durante o voo.

Certas carraças podem permanecer agarradas ao hospedeiro vertebrado durante vários dias, enquanto fazem a refeição de sangue. Isto permite-lhes serem transportadas a milhares de quilómetros de distância da área inicial de reprodução.

Arbovírus em Portugal

Em 1969/70 pudemos realizar um estudo serológico com soros de aves migradoras e residentes, capturadas em várias regiões de Portugal. Foram estudadas 400 aves, capturadas em 11 locais diferentes do País. Os resultados obtidos permitiram encontrar 13 aves com anticorpos contra arbovírus. Nesse trabalho não procurámos isolar vírus. Por isso não sabemos se algumas das aves se encontravam em fase de virémia e como tal estavam em condições de contribuir para a introdução e ou disseminação de algum vírus em Portugal ([13]).

Contudo a ameaça das aves migradoras permanece constante. Na Fig. 1, podemos observar um exemplo, de como as aves podem ser associadas ao transporte de vírus dentro da própria Europa. Várias aves conhecidas pelo nome de Garajau — *Sterna sandvicensis* que tinham sido inicialmente capturadas em regiões como a Ucrânia, a Suécia, a Dinamarca e a Escócia, foram posteriormente capturadas em Portugal. Este, foi um exemplo seleccionado de entre os vários citados num trabalho realizado pelo Centro de Estudos de Migrações e Protecção de Aves (CEMPA) da Secretaria de Estado do Ambiente ([6]). Serve no entanto, para nos mostrar que estas aves podem ser transportadoras potenciais de vários vírus. Destacamos contudo, pela sua importância, a Febre Hemorrágica da Crimeia (vector: *Hyalomma marginatum*) a Encefalite Transmitida por Carraças (vector: *Ixodes ricinus*) e o Louping ill (vector: *Ixodes ricinus*) ([28]). A confirmar este tipo de movimentação de vírus no espaço intercontinental, temos o facto do vírus Dhori, ter sido recentemente isolado em Portugal ([19]). Este vírus fora isolado inicialmente

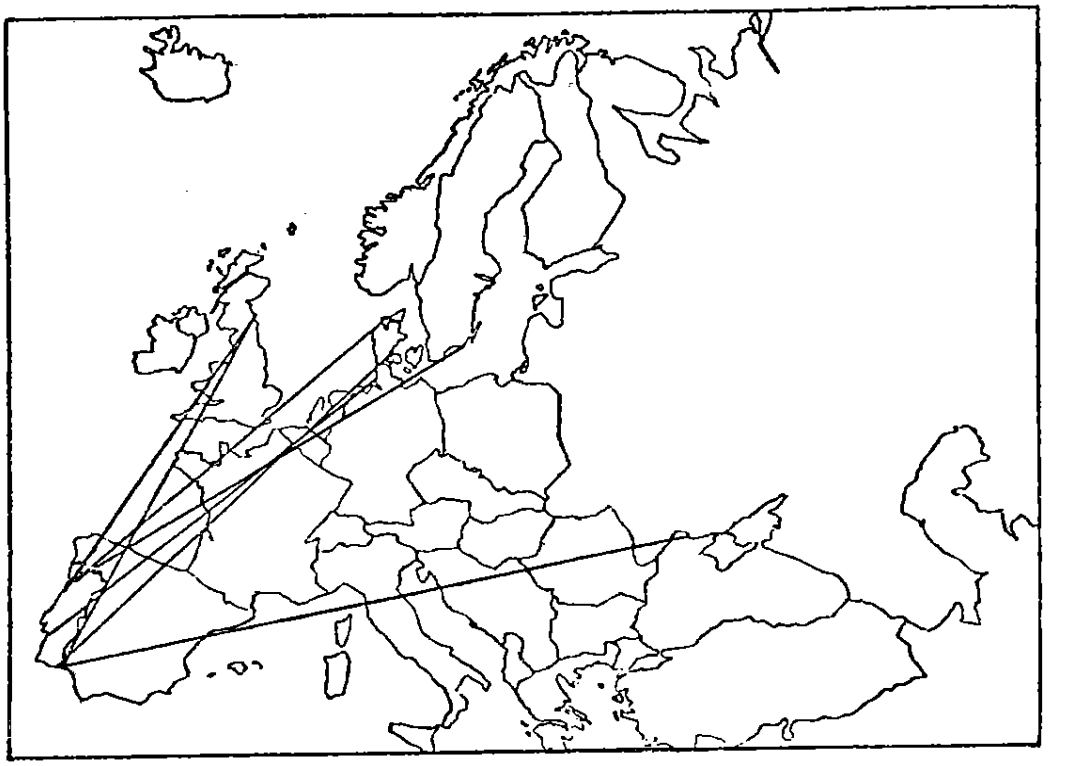


FIG. 1

Exemplo do voo das aves migrantes na Europa. Países onde o GARAJAU — **Sterna sandvicensis** — foi anilhado antes de ser recapturado em Portugal ([6])

na Índia ([1]), posteriormente na URSS ([5]) e depois no Egipto ([38]).

Para Portugal o estudo dos arbovírus têm interesse por várias razões. No país vizinho, a Espanha, conhece-se muito pouco acerca da actividade dos arbovírus. No entanto, o sul da Espanha é todos os anos um local de concentração e passagem de aves migradoras, em movimento entre a África Equatorial e a Europa Ocidental. É pois natural, que seja na área de concentração, junto à foz do rio Guadalquivir que surjam os primeiros sinais da presença de arbovírus na Península e oriundos de África. De facto os resultados preliminares obtidos com um inquérito serológico realizado com soros das populações vivendo na região parecem confirmar esta hipótese. Os soros examinados apresentaram grandes níveis de anticorpos contra vários grupos de arbovírus ([27]). Por outro lado a grande maioria das aves após a entrada em Espanha acaba por se distribuir por toda a Península Ibérica. Em Portugal é suficientemente conhecida, a partir da Primavera, a presença de numerosas aves migradoras em todo o território.

O sul de Portugal tem sofrido importantes alterações na sua estrutura ecológica que consistem fundamentalmente na criação de barragens e novas áreas de regadio. Este facto é interessante sob o ponto de vista biológico, pois proporciona condições ecológicas favoráveis à proliferação de pequenos mamíferos silvestres, hospedeiros vertebrados eventuais, para novas viroses, e contribui para o aumento das populações de artrópodos hematófagos ([11]).

A introdução de novos vírus em Portugal pode passar inicialmente despercebida quando esta se processa no sul do País. Convém recordar que a região a sul do Tejo é a área de menor densidade populacional de Portugal.

Este facto deve ser tomado em consideração ao estudarmos os arbovírus porque a introdução de novos vírus pode ser feita nas condições descritas.

QUADRO VII (a)

Arbovírus da Europa*

Vírus	Área de distribuição e ano de isolamento na Europa (1)	Principal vector na Europa T — Carraça M — Mosquito	Principal hospedeiro na Europa	Patogénico para o homem (2)
TOGAVIRIDADE				
Grupo Flavivírus				
Louping ill	Ilhas Britânicas —29	T *Ixodes*	Ovinos, outros mamíferos	+++
Complexo da Encefalite transmitida por carraças	Irlanda		Galinha selvagem	(lab. ++)
	Europa excepto Ilhas Britânicas e Península Ibérica (?)	T *Ixodes*		
EVER	URSS (—37)	»		+++
Hanzalova	CSSR —48	»		+++
Absetarov	CSSR — 51	»		+++
Hypr	CSSR — 53	»		
Kumlinge	Finlândia — 59	»		
West Nile	França (—63), CSSR, Hungria, Portugal, Roménia, URSS (Albânia, Áustria, Espanha)	M (+T) *Culex*, carraças	Aves, cavalos, roedores	+++
Tyuleniy (Dengue, Tipo 1)	Grécia (epidemia 1928)	M *Aedes*		+++
Grupo ALFAVÍRUS Sindbis	CSSR (—72), URSS, Áustria Finlândia	M *Culex?*	Aves, Criceto	+? ab (África++)
BUNYAVIRIDAE				
Grupo CALIFORNIA Tahyna	CSSR — 56 Europa Central e do Sul, excluindo as Ilhas Britânicas		Mamíferos	++
INKOO	Finlândia — 64	M *Aedes*	Mamíferos	+
Grupo BUNYAMWERA Batai=Colovo	CSSR (—60), Áustria, URSS, Jugoslávia, (RFA, Finlândia, Hungria, Roménia)	M *Aedes* M *Anopheles*	Mamíferos	++
Grupo TETE				
Bahig	Itália (68)		Aves	
Matruh	Itália (68)		Aves	

QUADRO VII (b)

Arbovírus da Europa

Vírus	Área de distribuição e ano de isolamento na Europa (1)	Principal vector na Europa T — Carraça M — Mosquito	Principal hospedeiro na Europa	Petogénico para o homem (2)
BUNYAVIRUS-LIKE				
Grupo UUKUNIEMI				
Uukuniemi	Finlândia — 60, CSSR, Hungria, Noruega, Polónia, URSS	T *Ixodes*	Aves, Mamíferos	ab
Grand Arbaud	França — 66	T *Argas*		
Ponteves	França — 66	T *Argas*		
Zaliv Terpeniya	URSS — 69	T *Ixodes*		
Grupo CHF*-CONGO				
CHF-Congo	URSS, Bulgária (Hungria), Jugoslávia, Grécia, Turquia	T *Hyalomma*	Mamíferos	+++
Grupo PHLEBOTOMUS				
Sicília	Itália**, Jugoslávia, Grécia, Turquia	Phlebotomus	Mamíferos	+++
Nápoles	Itália**, Jugoslávia		Mamíferos	+++
Grupo THOGOTO				
Thogoto	Itália (72)	T *Rhipicephalus*	Mamíferos	+
Grupo da doença dos ovinos de Nairobi				
Ganjan				
Grupo TURLOK				
M'Poko (Lednice)	CSSR (−63)	M *Culex*	Aves Marinhas	
NÃO AGRUPADOS				
Bhanja	Itália (67), Jugoslávia	T *Hoemaphysalis*	Mamíferos	+
ORBIVIRIDAE				
Grupo KEMEREVO				
Tribec	CSSR — 63, Itália, Roménia, URSS			
	Finlândia	T *Ixodes*	Mamíferos	ab
Lipovnik	CSSR — 63	T »	Colónia de aves marinhas?	ab
Cape Warth	Escócia (−73)	T »		
Okhotskiy	URSS — 69	T »	Aves	
Baku	URSS — 70	T *Ornithodorus*		

* Febre Hemorrágica da Crimeia.
** Isolamento do vírus anterior a 1950.

QUADRO VII (c)

Arbovírus da Europa

Vírus	Área de distribuição e ano de isolamento na Europa (1)	Principal vector na Europa T — Carraça M — Mosquito	Principal hospedeiro na Europa	Patogénico para o homem (2)
ORBIVÍRUS Grupo da FEBRE DAS CARRAÇAS DO COLORADO Eyach	Alemanha Federal (—72)	T *Ixodes*		?
Grupo da *LÍNGUA AZUL* Língua Azul	Península Ibérica (56, 57, 58)		Mamíferos	
Grupo da PESTE EQUINA Peste Equina	Espanha (65)		Mamíferos	
IRIDOVIRIDAE Peste Suína Africana	Portugal, Espanha (57, 60)	T *Ornithodoros*	Mamíferos	
CORNAVÍRUS-LIKE Runde	Norueza — 73	T *Ixodes*	Colónia de aves marinhas	
RHABDOVÍRUS-LIKE Grupo Marburgo	Alemanha Federal — 67 Jugoslávia	H? (replic. exper. em *Aedes aegypti*)	Macaco verde?	++
NÃO CLASSIFICADOS Grupo SAKHALIN Clo Mor	Escócia — 73	T *Ixodes*	Colónia de aves marinhas	
Grupo HUGHES Soldado	Bretanha (—74)	T *Ornithodoros*	Colónia de gaivotas	
NÃO AGRUPADOS Dhori Razdan	Portugal (—71) URSS (—73)	T *Hyalomma* T *Dermacentor*	Mamíferos	+

* Adaptado de (Oker-Blom).

(1) Quando a área está entre parêntesis apenas foram encontrados anticorpos; se o ano está entre parêntesis significa que o vírus foi isolado primeiro fora da Europa.

(2) + = 1—9, ++10—99, +++=mais de 100 casos na Europa.
ab — unicamente anticorpos.

A disseminação de vírus em zonas pouco habitadas pelo homem pode permitir que não seja detectada a sua presença desde o início, dada a escassa repercussão sobre a saúde do homem.

Os estudos realizados no sentido de procurar esclarecer a actividade dos arbovírus em Portugal conduziram até agora ao isolamento de três vírus. Destes foram devidamente identificados, o vírus West Nile e o vírus Dhori [14, 19]. O terceiro agente está em vias de caracterização final.

Os resultados obtidos com os inquéritos serológicos efectuados com soros da população humana e animal mostraram haver indicação serológica de actividade de diversos arbovírus [12, 17, 18]. Cerca de 3,3 % da população humana tinha anticorpos contra alguns arbovírus enquanto que a população de animais domésticos examinada tinha entre 3 a 16 % de anticorpos. Contudo os estudos acerca dos arbovírus estão longe de estar terminados (Quadro VIII).

Em Portugal existem várias espécies de carraças (Quadro IX), das quais algumas são já conhecidas como vectores, em África e na Europa, de numerosos vírus (Quadro X) [37, 26]. No que diz respeito às espécies de mosquitos identificados no sul de Portugal são quase todos, igualmente, responsáveis pela transmissão no continente europeu e em África de numerosos vírus (Quadro XI) [30, 32, 33]. No entanto, interessa assinalar, que não se pode considerar a existência de uma especificidade absoluta entre uma determinada espécie de artrópodo e um dado vírus. Por outras palavras não existe especificidade absoluta entre os arbovírus e os artrópodos hematófagos que podem ser os vectores responsáveis pela sua transmissão. A pouco e pouco os conhecimentos que se vão adquirindo acerca da ecologia dos Arbovírus vão alterando conceitos anteriores. Neste domínio da biologia dos vírus, as variáveis são múltiplas e intervêm de vários modos nos ciclos biológicos de replicação dos arbovírus na natureza. O exemplo mais recente acerca deste aspecto diz respeito à descoberta por Mouchet, no Império Centro Africano da transmissão do vírus da Febre Amarela por intermédio de carraças [39]. Esta descoberta vem alterar profundamente a epidemiologia da Febre Amarela no continente africano e abrir perspectivas para novos problemas.

Aparentemente, em Portugal, com excepção da Peste Suína Africana que é muito importante para a economia pecuária, os arbovírus não parecem constituir neste momento uma ameaça grave, imediata, em Saúde Pública. Contudo, por todas as razões que temos vindo a assina-

QUADRO VIII

Arbovírus isolados em Portugal ou de que há indicação serológica de actividade no País

Virus	Isolamento do vírus (origem e ano)	Anticorpos
CHIKUNGUNYA	?	Homem, animais domésticos
WEST NILE	*Anopheles maculipennis* (1969)	Homem, animais domésticos, aves
ENCEFALITE TRANSMITIDA POR CARRAÇAS	—	Homem, animais domésticos
TAHYNA	—	Animais domésticos
BATAI	—	Animais domésticos
SICILIA		Homem
DHORI	*Hyalomma marginatum* (1971)	—
LÍNGUA AZUL	Ovelha (1957/58)	—
PESTE SUÍNA AFRICANA (?) *	Suíno (1957/1960/—)	—
	Rhipicephalus sanguineus (1978)	—

* Vírus isolado a partir de **Rhipicephalus Sanguineus** capturados em ovelhas oriundas de Vila Viçosa. Vírus em fase de tipagem em Fort Collins, Colorado.

QUADRO IX

Carraças identificadas em Portugal (26, 37)

ESPÉCIES
Ixodes (Ixodes) hexagonus Leach, 1815
Ixodes (Ixodes) ricinus Lineu, 1758
Ixodes (Eschatocephalus) vespertilionis C. L. Kock, 1844
Rhipicephalus (Rhipicephalus) sanguineus sanguineus Latreille, 1806
Rhipicephalus (Rhipicephalus) bursa Canestrini & Fangazo, 1887
Rhipicephalus (Rhipicephalus) pusellus Gil, 1936
Boophilus annulatus Say, 1821
Hyalomma (Hyalloma) lusitanicum C. L. Kock, 1844
Hyalomma (Hyalomma) marginatum marginatum C. L. Kock, 1844
Dermacentor (Dermacentor) marginatus Suizer, 1976
Haemaphysalis (Heamaphysalis) punctata Canestrini & Fangazo, 1877
Haemaphysalis (Alloceraea) inermis inermis Birula, 1895
Argas (Carios) vespertilionis Latreille, 1802
Ornithodoros (Ornithodoros) erraticus Lucas, 1849

QUADRO X

Arbovírus transmitidos por carraças identificadas em Portugal

Espécies	Vírus isolados em África e na Europa
Ixodes ricinus	ARSETTAROV, EYACH, HANZALOVA, HYPR, KUMLINGE, LIPOVNIK, LOUPING ILL, RSSE, UUKUNIEMI, TRIBEC
Rhipicephalus sanguineus	DERA GHAZI KHAN, WAD MEDANI
Rhipicephalus bursa	DERA GHAZI KHAN, THOGOTO
Haemaphysalis punctata	BHANJA
Dermacentor marginatus	HYPR, OMSK HEM. FEV., RAZDAN
Hyalomma marginatum	CONGO, DHORI
Ornithodoros erraticus	PESTE SUÍNA AFRICANA, BANDIA, QALYUB

lar, pensamos que é necessário ter em consideração a existência deste numeroso grupo de vírus. É necessário aumentar e completar os conhecimentos já existentes acerca da presença destes vírus no País. Sobretudo, é necessário contribuir para que exista uma consciência exacta acerca da importância médica deste grupo de vírus. Só assim, será possível organizar uma colaboração efectiva entre os Hospitais Distritais, os Centros de Saúde e a Secção de Arbovírus do Laboratório de Virologia do Instituto Nacional de Saúde de Lisboa, no sentido de procurar esclarecer todas as situações que possam ser da responsabilidade dos vírus transmitidos por artrópodos e determinar qual a sua importância em Saúde Pública em Portugal

Agradecimento

À Sr.ª D. Ana Paula Uettwiller agradecemos a colaboração dada na preparação deste trabalho.

QUADRO XI

Mosquitos identificados no Sul de Portugal e a partir dos quais foram isolados diversos arbovírus em África e na Europa

Espécies	Vírus isolados em África e na Europa
Anopheles atroparvus (maculipennis)	WEST NILE, BATAI
Aedes caspius	TAHYNA
Aedes vittatus	FEBRE AMARELA
Culiseta annulata	TAHYNA
Culex modestus	WEST NILE, TAHYNA
Culex univittatus	SINDBIS, WEST NILE, WESSELSBRON, USUTU, MOUSSOURIL, NIGWAVUMA
Culex theileri	SINDBIS, WEST NILE, GERMISTON, SHUNI, FEBRE DO VALE DO RIFT
Culex pipiens	WEST NILE, TAHYNA, SINDBIS, TYULENY, OLIFANTSVLEI, FEBRE DO VALE DO RIFT

Adaptado de RIBEIRO et al. e de RAMOS et al. (30, 33).

REFERÊNCIAS

1 — ANDERSEN, C. R. e CASALS, J. — Indian J. Med. Res., 61, 1416, **1973**.

2 — Annual Report on the Catalogue of Arthropod-borne and Selected Vertebrate Viruses of the World. The American Committee on Arthropod-borne viruses. C. D. C., Atlanta, **1978**.

3 — BERNKOFF, H.; LEVINE, S e NERSON, R — J. Infect. Dis., 93, **1953**.

4 — BRUMMER-KORVENKONTIO, M. — Bunyamwera arbovirus supergroup in Finland. Commentaciones Biologicae, 76, **1974**.

5 — BUTENKO, A. M. e CHUMAKOV, M. P. — In Astrakan oblast. Zezizy Dokl. Vop. Med. Virus, Inst. Virus Imeni. Ivanovsky, P. I., Akad. Med. Nank. SSR, part 2, **1971**.

6 — CARVALHO, M. B. — Anilhas recuperadas em Portugal Continental e Insular entre 1964/72, de aves anilhadas na Europa. Centro de Estudos de Migrações e Protecção de Aves, **1975**.

7 — CASALS, J. e BROWN, L. V. — J. Exp. Med. 99, 429, **1954**.

8 — CASALS, J. — Trans. N. J. Acad. Scien., Ser. II, 19, 219, **1957**.

9 — CASALS, J. e CLARKE, D. H. — In Viral and Rickettsial Infections of Man, 4.ª Edit., Horefall, E. L. e Tamm, I, edit., Pitman Medical Publ. Ltd., Londres, **1965**.

10 — CASALS, J. — In Comparative Virology, Edit. Maramorosch, K. e Kurstak, E., Academic Press, Nova Iorque, Londres, **1971**.

11 — FILIPE, A. R. — Rev. Port. Ciên. Vet.; 64 (409/10), 7, **1969**.

12 — FILIPE, A. R. e PINTO, M. R. — Amer. J. Trop. Med. Hyg. 18, 423, **1969**.

13 — FILIPE, A. R. — Arch. f. gesam. Virusf. 35, 395, **1971**.

14 — FILIPE, A. R. — Acta Virologica, 16, 361, 1972.
15 — FILIPE, A. R.; CARVALHO, R. G. e PINTO, M. R. — An. Esc. Nac. Saúde Pública Med. Trop., 6 (1/4), 101, 1972.
16 — FILIPE, A. R.; SOBRAL, M. e CAMPANIÇO, F. C. — Rev. Port. Ciên. Vet., 68 (426), 90, 1973.
17 — FILIPE, A. R. — Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. — 68, 311, 1974.
18 — FILIPE, A. R. — An. Inst. Hig. Med. Trop. 2 (1/4), 271, 1975.
19 — FILIPE, A. R. e CASALS, J. — Intervirology, 11, 124, 1979.
20 — FILIPE, A. R. — In International Symposium New Aspects in Ecology of Arboviruses. Smolenice, Checoslováquia, 1979, em publicação.
21 — GOLDBLUM, N. — Proc. 6th Inst. Cong. Trop. Med. Malar, 5, 112, 1959.
22 — HANNOUN, C.; PANTHIER, R.; MOUCHET, J. e EOUZON, J. P. — C. R. Acad. Sc. Paris, 295, 4170, 1964.
23 — HANNOUN, C. — Bull. Inst. Pasteur, 69, 241, 1971.
24 — International Symposium for Arboviruses — Med. Biol., 53, 245, 1975.
25 — International Symposium New Aspects in Ecology of Arboviruses. Smolenice, Checoslováquia, 1979, em publicação.
26 — LEITÃO, J. L. S. — Mapa zooparasitário de Portugal, I — Ixodídeos, Lab. Parasit. Esc. Sup. Med. Vet., Lisboa, 1971.
27 — LOZAÑO OLIVARES, A. — Report of the delegate of Spain. 6th F. E. M. S. Symposium «Arboviruses in the Mediterranean Countries», Supetar, Yugoslávia, 1978, em publicação.
28 — OKER-BLOM, N. — In 6.° F. E. M. S. Symposium «Arboviruses in the Mediterranean Countries». Supetar, Yugoslávia, 1978, em publicação.
29 — PANTHIER, R.; HANNOUN, C.; ONDAR, J. e BEYTOUT, D. — C. R. Acad. Sci. (Paris), 262, 1308, 1966.
30 — RAMOS, H. C.; RIBEIRO, H.; PIRES, C. A. e CAPELA, R. A. — An. Inst. Hig. Med. Trop., 5 (1/4), 237, 1977/78.
31 — Relatório sobre a epizootia de Peste Suína Africana grassante em Portugal. Reunião de Avilã, Espanha, Março, 1978. Dir. Ger. Serv. Vet., 1978.
32 — RIBEIRO, H.; RAMOS, H. C.; CAPELA, R. A. e PIRES, C. A. — Garcia de Orta, Série Zool., 6 (1-2), 51, 1977.
33 — RIBEIRO, H.; RAMOS, H. C.; PIRES, C. A. e CAPELA, R. A. — An. Inst. Hig. Med. Trop., 5 (1/4), 201, 1977/78.
34 — STRODE, G. K., Edit. — Yellow Fever. McGraw-Hill, Nova Iorque e Londres, 1951.
35 — Study Group. Arthropod-borne viruses. Report of a study group. Wld. Hlth. Org., Techn. Rep., Ser. 219, 1961.
36 — TAYLOR, R. M.; WORK, T. H.; HURLBUT, H. S. e RIZK, F. — Amer. J. Trop. Med. Hyg. 5, 579, 1956.
37 — TENDEIRO, J. — Revisão sistemática dos Ixodídeos portugueses. Bol. Pecuário. (Lisboa), 30, 5, 1962.
38 — WILLIAMS, R. E.; HOOGSTRAAL, H.; CASALS, J.; KAISER, M. N. e MOUSSA, M. I. — J. Med. Ent., 10, 143, 1973.
39 — 6.° F. E. M. S. Symposium «Arboviruses in the Mediterranean Countries». Supetar, Yugoslávia, 1978, em publicação.

CARACTERÍSTICAS HIGIÉNICAS MICROBIOLÓGICAS DE PRODUTOS DE PASTELARIA (Lisboa)

Ricardina dos Anjos Dantas
Maria do Rosário L. Novais

Abstract

Two hundred and ninety three samples of different kinds of pastry products were analysed in order to determine their microbiological hygienic quality. The aim of this study was to contribute to the public health information as well as to the improvement of the national normalization and legislation of these products. The results are presented and discussed.

Introdução

As condições actuais de vida de grande parte da população portuguesa, sobretudo trabalhadora e estudantil, principalmente nos meios urbanos, proporcionam um consumo apreciável de produtos de pastelaria pelos diferentes grupos etários, em substituição dos alimentos que devem constituir as refeições — Pequeno almoço, Almoço e Merenda.

Trata-se de produtos alimentares, ricos em açúcar, de composição complexa e de preparação muito elaborada que, pela natureza dos seus constituintes, tecnologia de fabrico e ambiente onde são preparados e conservados se tornam susceptíveis de fácil contaminação microbiana, quer por germes já presentes na matéria-prima utilizada, quer pelos adquiridos do meio ambiente, ou pelos que lhes são transmitidos pelos manipuladores. Para que estes produtos pudessem apresentar boa qualidade higiénica seria necessário que:

— as matérias-primas fossem de boa qualidade;
— as condições de armazenamento das matérias-primas fossem adequadas à sua boa conservação;
— o local de confecção tivesse condições que permitam uma correcta manipulação, do ponto de vista higieno-sanitário;
— o pessoal ligado à produção fosse controlado pelos Serviços de Saúde periodicamente e sempre que necessário;
— as condições de exposição para venda permitissem manter a boa qualidade higiénica.

A ocorrência de surtos de toxi-infecção alimentar com origem na ingestão destes produtos não é rara e, em muitos casos, é determinada por contaminação maciça por *Salmonelas* ou *Estafilococos* produtores de coagulase ou, ainda, pela presença simultânea destes dois géneros bacterianos, como a experiência do nosso laboratório tem mostrado.

Considerou-se, assim, que o estudo das características higiénicas microbiológicas de alguns tipos de bolos com maior consumo teria muito interesse, não só como meio de informação no domínio da Saúde Pública, mas ainda como contributo útil para o aperfeiçoamento da Normalização e Legislação nacionais dos alimentos portugueses.

A selecção dos diferentes tipos de bolos estudados foi sugerida pela frequência de resultados de análises de rotina, no nosso laboratório, em que as amostras analisadas têm revelado características higiénicas deficientes ou más.

Entre os produtos analisados incluiram-se alguns bolos secos dos tipos — *bolo de arroz, queque, croissant* e *palmier*, cuja composição e processos de preparação contribuem para que as suas características higiénicas sejam, habitualmente, satisfatórias ou boas.

A comparação entre os resultados obtidos na análise destes bolos secos e os referentes aos bolos recheados ou com coberturas de cremes variados (pastéis, etc.), mais sujeitos a contaminação microbiana, pode demonstrar a necessidade de uma preparação e manutenção mais cuidadas destes últimos produtos.

Este estudo foi efectuado em 2 períodos — de Fevereiro a Dezembro de 1974 e de Janeiro de 1978 a Maio de 1979.

Material e métodos

Os produtos de pastelaria analisados foram agrupados segundo características de composição comuns, que podem influenciar a natureza e grau de contaminação. Constituiram-se, assim, nove grupos:

GRUPO I

— *Bolos com creme*
Estudaram-se 5 tipos — *pastel de nata, bom bocado, éclair, bola de Berlim* e *folhado com creme.*

GRUPO II

— *Bolos com chocolate*
Estudaram-se 3 tipos — *torta com chocolate, rim de chocolate* e *Garibaldi.*

GRUPO III

— *Bolos com chantilly*
Estudaram-se 7 tipos — *russo, cornucópia, duchesse, fantasia, delícia de ananás, delícia de chantilly* e *tíbia.*

GRUPO IV

— *Bolos com chocolate e chantilly*
Estudou-se 1 tipo — *delícia de chocolate.*

GRUPO V

— *Bolos com chantilly, calda de açúcar e rum*
Estudou-se 1 tipo — *babá.*

GRUPO VI

— *Bolos com chantilly e frutas cristalizadas*
Estudou-se 1 tipo — *fatia húngara.*

GRUPO VII

— *Pudins*
Estudaram-se 2 tipos — *Queijada e pudim de ovos.*

GRUPO VIII

— *Bolos com doce de ovos*
Estudaram-se 4 tipos — *torta com recheio de ovos, trouxa de ovos, guardanapo, barquinho e queijinho.*

GRUPO IX

— *Bolos secos*
Estudaram-se 4 tipos — *bolo de arroz, queque, croissant* e *palmier.*

Analisaram-se, na totalidade, 296 amostras correspondentes a 888 bolos de 28 tipos diferentes. Cada amostra era constituída por 3 bolos do mesmo tipo. Os ensaios bacteriológicos realizaram-se em 263 amostras, num total de 789 bolos, e os micológicos em 193 amostras (579 bolos), das quais 160 constituem uma alíquota das analisadas bacteriologicamente e 33 são amostras em que apenas se efectuou a análise micológica.

Preparação da amostra

Os bolos foram adquiridos em pastelarias de diferentes áreas de Lisboa, sem aviso prévio, entre as 12 e 13 horas, em embalagens cartonadas, próprias, com separação de cada um dos tipos estudados, e rapidamente transportados para o laboratório, onde foram conservados a + 4º C durante o mínimo tempo necessário à preparação da análise e sua efectivação.

A preparação da amostra obedeceu às normas de trabalho de um laboratório de Bacteriologia de Alimentos, utilizando-se como diluente o meio de triptona sal.

Pesquisas e determinações

Para esquema geral de análise seleccionaram-se as determinações que normalmente permitem avaliar as características higiénicas microbiológicas de produtos alimentares:

— *pesquisa e/ou contagem de germes patogénicos (Salmonelas, Estafilococos coagulase positiva, B. cereus);*
— *pesquisa e contagem de microrganismos indicadores de contaminação fecal (E. coli, outros coliformes enterococos);*
— *contagem de germes aeróbios mesófilos totais;*
— *contagem de fungos (leveduras e bolores).*

Salmonella

Não se procedeu a pré-enriquecimento em água peptonada tamponada.

A pesquisa efectuou-se em 30 g da amostra, após trituração e homogeneização convenientes, por sementeira em meios selectivos de enriquecimento — 15 g em 150 ml de caldo de «Tetrationato de sódio» (meio de Müller Kauffman — preparação do INSA) e 15 g em 150 ml de caldo de «Selenito de sódio» (Merck), incubados respectivamente a 37º C e a 43º C ± 1º C. Os isolamentos em meios sólidos de SS Agar (Difco) e de Bismuto Sulfito Agar (Difco) foram efectuados às 24 horas e 48 horas de incubação. As colónias suspeitas, após repicagem para meio de T. S. I., (preparação do INSA) foram sujeitas a testes bioquímicos e serológicos.

Staphylococcus coagulase positiva

A sua pesquisa e contagem efectuou-se a partir da diluição a $^1/_5$ e das diferentes diluições decimais, por sementeira em superfície, no meio de Manitol Salt Agar (preparação do INSA). Após incubação a 37º C durante 48 horas, as colónias suspeitas foram isoladas em meios de Gelose nutritiva e de Gelose Sangue e estudadas quanto à capacidade de hemólise e de produção das enzimas coagulase, fosfatase e Dnase (desoxiribonuclease).

Bacillus cereus

Em meio de Gelose de Sangue realizaram-se sementeiras em superfície, de 0,1 ml da diluição a $^1/_5$ e de diluições decimais. Após incubação a 37º C durante 24 horas procedeu-se à identificação das colónias suspeitas através de provas bioquímicas e de pesquisa de lecitinase.

Pesquisa e contagem de germes indicadores de qualidade higiénica

Germes coliformes e E. coli

Adoptou-se a técnica do N. M. P. mediante sementeiras em caldo lactosado biliado com verde brilhante, caracterizando-se E. coli pela prova de Mackenzie. Simultaneamente procedeu-se a enriquecimento por sementeira de 1 grama da amostra em caldo nutritivo do qual, após incubação a 37º C durante 18 horas, se procedeu a isolamento em meio de MacConkey Agar (Oxoid). Estudaram-se as culturas suspeitas através de provas bioquímicas. As estirpes de E. coli isoladas foram estudadas serologicamente.

Streptococcus do grupo D de Lancefield

Da diluição mãe e das diferentes diluições decimais efectuaram-se sementeiras de 0,1 ml, em superfície, em meio de M — Enterococcus Agar (BBL), com incubação a 37º C durante 48 horas. As colónias características estudaram-se mediante testes bioquímicos e provas de resistência.

Germes aeróbios mesófilos totais

Esta contagem efectuou-se em meio de TGEA (triptona, glucose, extracto de levedura, Agar) (Oxoid), por incorporação de 1 ml das diluições decimais adequadas, adoptando-se a técnica da dupla camada com gelose branca. A incubação processou-se a 30º C durante 72 horas, ± 2 horas.

Fungos (leveduras e bolores)

De diferentes diluições decimais apropriadas e após homogeneização muito suave, a fim de se evitar a possível fragmentação das hifas, efectuaram-se sementeiras de 0,1 ml em superfície, nos meios de PDA (Potato Dextrose Agar) (Difco) e de Malte Agar (Difco). A incubação processou-se a 25º C ± 1º C durante 5 dias.

Resultados e sua apreciação

Os resultados analíticos estão contidos nos Quadros I, II, III, IV, V e VI.

O Quadro I compreende os resultados dos ensaios bacteriológicos, expressos em níveis de concentração bacteriana, referentes a E. coli, outros coliformes enterococos, aeróbios mesófilos totais, Estafilococos e B. cereus, efectuados em 263 amostras correspondentes a 789 bolos. É indicado em *itálico* o valor mais baixo da contagem considerada já inaceitável.

O Quadro II diz respeito à percentagem de positividade dos germes referidos no Quadro I, em cada um dos 9 grupos de bolos estudados.

O Quadro III reúne os resultados bacteriológicos, para os 9 grupos, expressos em número de amostras e em percentagem, considerados de nível higiénico aceitável ou não aceitável, segundo o critério adoptado.

O Quadro IV contém os dados relativos a Fungos, expressos em número de leveduras e bolores e em níveis higiénicos aceitáveis e não aceitáveis, segundo o critério seguido. É indicado em *itálico* o valor mais baixo da contagem considerado já inaceitável.

O Quadro V refere os resultados dos exames micológicos, expressos em número de amostras e respectivas percentagens, por Grupo, que revelam contagens $\leqslant 5 \times 10^2$, $> 5\times10^2 - \leqslant 10^3$, $> 10^3 - \leqslant 10^4$, $> 10^4$, por grama de produto analisado.

O Quadro VI compreende o número e a percentagem de amostras que apresentam contagens de germes aeróbios mesófilos totais situadas em níveis $\leqslant 10^4$ e $> 10^4$ e de fungos (leveduras e bolores) correspondentes a níveis $\leqslant 5\times10^2$ e $> 5\times10^2$ por grama de produto analisado.

Na apreciação destes resultados adoptaram-se, como critério sanitário microbiológico susceptível de ser aplicado a este género de produtos e, como contribuição para um possível estudo a realizar pela Comissão Técnica Portuguesa de Normalização de Microbiologia de Géneros Alimentícios, os seguintes índices higiénicos:

- — *Escherichia coli* ... *ausência em 1 g*
- — *Outros coliformes* .. $\leqslant 10/g$
- — *Streptococcus do grupo D de Lancefield (enterococos)* $\leqslant 10^3/g$
- — *Salmonella* ..... *ausência em 30 g*
- — *Staphylococcus coagulase positiva* .. *ausência em 0,1 g*
- — *Contagem de germes aeróbios mesófilos totais* ..... $\leqslant 10^4$
- — *Contagem de Fungos (leveduras e bolores)* ..... $\leqslant 5\times10^2$

Estes índices são idênticos aos adoptados em Espanha (Métodos de Exame Microbiológico para Alimentos e Bebidas — Normas Recomendadas — Centro Nacional de Alimentação e Nutrição).

O critério de escolha que orientou a adopção de «$\leqslant 5\times10^2$», como número limite admissível para a contagem de fungos, baseou-se na nossa experiência laboratorial e em normalização estrangeira, como foi referido. Um limite de contagem menos exigente «$\leqslant 10^3$» por exemplo, não faria diminuir significativamente a percentagem de amostras, em estudo, consideradas com características higiénicas não aceitáveis, dado que o grau de contaminação é muito elevado em quase todos os grupos constituídos, excepção para os grupos VII e IX (Quadro VI).

Apreciação dos resultados microbiológicos por grupo de bolos

GRUPO I

Constituído por 51 amostras num total de 153 bolos com creme de pastelaria, este grupo revela um grau de contaminação importante em alguns tipos.

Análise bacteriológica

A análise dos Quadros I, II e III permite verificar que a percentagem de positividade para coliformes e enterococos é respectivamente de 68,6 % e de 56,9 %, sendo para E. coli de 29,4 % e para Estafilococos coagulase positiva de 27,5 %. Em relação aos resultados considerados aceitáveis ou não aceitáveis (Quadro III) a contagem de germes aeróbios mesófilos revela-se $> 10^4/g$ em 54,9 % das amostras, com maior incidência nos bolos de tipo «éclair» (Quadro I), em que a totalidade analisada apresenta contagem $> 10^5/g$, sendo em 5 amostras $> 10^6/g$ e, ainda, no tipo «bola de Berlim» em que 9 das 10 amostras estudadas têm contagem $> 10^4/g$ e, 4, $> 10^6/g$.

QUADRO I

RESULTADOS DOS EXAMES BACTERIOLÓGICOS DE 263 AMOSTRAS DE BOLOS À VENDA NA ÁREA DE LISBOA

Distribuição dos casos segundo níveis de concentração bacteriana

		PRODUTOS ANALISADOS	N.º Amostras	E. COLI						OUTROS COLIFORMES						ENTEROCOCOS								AERÓBIOS MESOFILOS TOTAIS										ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA								B. CEREUS		
				0	$> 0 \leq 10$	$> 10 \leq 10^2$	$> 10^2 \leq 10^3$	$> 10^3 \leq 2{,}4\times10^3$	$> 2{,}4\times10^3$	0	$> 0 \leq 10$	$> 10 \leq 10^2$	$> 10^2 \leq 10^3$	$> 10^3 \leq 2{,}4\times10^3$	$\geq 2{,}4\times10^3$	0	$> 0 \leq 10$	$> 10 \leq 10^2$	$> 10^2 \leq 10^3$	$> 10^3 \leq 10^4$	$> 10^4 \leq 10^5$	$> 10^5 \leq 10^6$	$> 10^6 \leq 10^7$	0	$> 0 \leq 10$	$> 10 \leq 10^2$	$> 10^2 \leq 10^3$	$> 10^3 \leq 10^4$	$> 10^4 \leq 10^5$	$> 10^5 \leq 10^6$	$> 10^6 \leq 10^7$	$> 10^7 \leq 10^8$	$> 10^8$	0	$> 0 \leq 10$	$> 10 \leq 10^2$	$> 10^2 \leq 10^3$	$> 10^3 \leq 10^4$	$> 10^4 \leq 10^5$	$> 10^5 \leq 10^6$	$> 10^6 \leq 10^7$	0	$> 0 \leq 10$	$> 10 \leq 10^2$
Grupo I	Bolos com creme	Éclair	10	6	3	1	—	—	—	—	2	—	2	1	5	2	—	2	2	3	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	1	4	—	5	—	2	3	—	—	—	—	8	—	2
		Pastel de nata	10	8	2	—	—	—	—	6	1	2	1	—	—	7	—	2	—	1	—	—	—	—	1	3	3	—	1	1	1	—	—	—	8	—	2	—	—	—	—	—	7	—	3
		Bom bocado	11	10	1	—	—	—	—	7	3	1	—	—	—	6	—	5	—	—	—	—	—	—	—	1	8	2	—	—	—	—	—	—	9	—	1	1	—	—	—	—	9	—	2
		Bola de Berlim	10	7	2	1	—	—	—	1	—	1	3	—	5	2	—	7	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—	3	2	2	1	1	8	2	—	—	—	—	—	—	9	—	2
		Folhado com creme	10	5	4	1	—	—	—	2	5	2	—	—	1	5	—	4	1	—	—	—	—	—	—	—	1	3	3	1	2	—	—	7	—	2	—	—	—	1	—	10	—	—
Grupo II	Bolos com chocolate	Torta com chocolate	10	6	1	3	—	—	—	1	1	4	3	—	1	2	—	3	3	2	—	—	—	—	—	—	—	2	1	3	3	1	—	4	—	4	—	—	1	1	—	9	—	1
		Rim de chocolate	10	7	2	1	—	—	—	1	—	1	2	—	6	—	—	4	2	3	1	—	—	—	—	—	—	1	2	2	1	3	1	5	—	4	1	—	—	—	—	9	—	1
		Garibaldi	10	6	3	—	—	—	1	1	2	4	1	—	2	—	1	5	1	2	—	1	—	—	—	—	1	1	—	3	3	2	—	5	—	4	1	—	—	—	—	8	—	2
Grupo III	Bolos com chantilly	Russo	10	6	2	1	—	1	—	—	2	4	2	—	2	2	—	5	1	—	1	1	—	—	—	—	—	—	6	1	—	2	1	4	—	4	1	—	1	—	—	10	—	—
		Cornucópia	10	8	—	1	—	1	—	2	3	3	—	—	2	1	—	5	2	—	—	—	2	—	—	—	—	—	1	2	4	1	2	—	3	—	4	2	1	—	—	—	9	—	1
		Duchèsse	10	—	2	5	2	1	—	—	—	—	5	1	4	1	2	—	—	—	1	6	—	—	—	—	—	—	—	1	—	8	1	5	—	1	4	—	—	—	—	10	—	—
		Fantasia	10	5	2	2	—	—	1	—	3	3	2	—	2	—	—	6	1	—	1	2	—	—	—	—	—	1	1	4	1	2	1	4	—	3	—	—	1	2	—	9	—	1
		Delícia de ananás	10	1	5	2	2	—	—	—	—	1	4	1	4	2	—	2	1	1	2	—	2	—	—	—	—	—	—	—	2	8	—	7	—	2	—	1	—	—	—	9	—	1
		Delícia de chantilly	10	5	—	4	1	—	—	—	2	3	3	—	2	2	—	3	2	1	1	1	—	—	—	1	—	1	—	1	2	5	—	5	—	2	1	—	—	2	—	10	—	—
		Tíbia	10	3	1	1	3	—	2	—	2	1	1	—	6	1	—	4	—	1	3	—	1	—	—	—	—	—	1	1	3	3	2	2	—	3	2	2	—	1	—	9	—	1
Grupo IV		Delícia de chocolate (bolos com chocolate e chantilly)	10	6	3	—	1	—	—	—	1	6	1	—	2	1	—	3	1	4	—	1	—	—	—	—	—	—	2	2	3	2	1	5	—	2	2	—	—	1	—	10	—	—
Grupo V		Babá (Bolos com chantilly, calda de açúcar e rum)	11	2	1	1	3	3	1	1	—	1	—	—	9	1	—	1	—	—	5	4	—	—	—	—	—	—	1	—	—	10	—	4	—	5	2	—	—	—	—	11	—	—
Grupo VI		Fatia húngara (Bolos com chantilly e frutas cristalizadas)	10	9	1	—	—	—	—	1	1	4	3	—	1	1	—	8	1	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	5	—	1	—	4	—	6	—	—	—	—	—	9	—	1
Grupo VII	Pudins	Queijada	10	10	—	—	—	—	—	9	1	—	—	—	—	6	—	4	—	—	—	—	—	—	—	2	3	3	1	—	1	—	—	10	—	—	—	—	—	—	—	7	—	3
		Pudim de ovos	10	7	3	—	—	—	—	7	3	—	—	—	—	4	—	4	1	1	—	—	—	—	—	1	2	3	2	2	—	—	—	5	—	4	1	—	—	—	—	9	—	1
Grupo VIII	Bolos com doce de ovos	Torta com recheio de ovos	10	9	1	—	—	—	—	1	4	1	1	1	2	3	—	4	2	—	1	—	—	—	—	—	—	2	—	4	1	1	2	4	—	5	—	—	—	—	1	9	—	1
		Trouxa de ovos	10	8	2	—	—	—	—	—	2	4	3	—	1	1	—	6	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	5	3	1	1	—	2	—	4	1	—	—	—	—	10	—	—
		Guardanapo	10	8	2	—	—	—	—	1	3	2	3	—	1	3	—	5	1	1	—	—	—	—	—	—	—	1	4	1	—	3	1	5	—	2	1	1	—	—	1	8	—	2
		Barquinho e queijinho	11	11	—	—	—	—	—	6	4	1	—	—	—	5	—	5	1	—	—	—	—	—	—	1	2	6	—	1	1	—	—	10	—	1	—	—	—	—	—	11	—	—
Grupo IX	Bolos secos	Bolo de arroz	5	5	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	1	—	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	3	—	2
		Queque	5	5	—	—	—	—	—	3	—	2	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	5	—	—
		Croissant	5	5	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	4	—	1	—	—	—	—	—	—	—	2	3	—	—	—	—	—	—	4	—	1	—	—	—	—	—	5	—	—
		Palmier	5	5	—	—	—	—	—	3	2	—	—	—	—	4	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	4	1	—	—	—	—	—	4	—	—	1	—	—	—	—	5	—	—

QUADRO II

Percentagem de positividade por grupo no total das amostras de bolos analisados

	Amostras analisadas	E. coli		Outros coliformes		Enterococos		Aeróbios mesófilos totais		Estafilococos coagulase possitiva		B. cereus	
		Amostras positivas	%	Amostras positivas	%	Amostras positivas	%	N.º Amostras $> 10^4/g$	%	Amostras positivas	%	Amostras positivas	%
Grupo I — Bolos com creme	51	15	29,4	35	68,6	29	56,9	28	54,9	14	27,5	8	15,7
Grupo II — Bolos com chocolate	30	11	36,7	27	90,0	28	93,3	25	83,3	16	53,3	4	13,3
Grupo III — Bolos com chantilly	70	42	60,0	68	97,1	61	87,1	66	94,3	40	57,1	4	5,7
Grupo IV — Bolos com chocolate e chantilly	10	4	40,0	10	100	10	100	10	100	5	50,0	0	—
Grupo V — Bolos com chantilly, calda de açúcar e rum	11	9	81,8	10	90,9	10	90,9	11	100	7	63,6	0	—
Grupo VI — Bolos com chantilly e frutas cristalizadas	10	1	10,0	9	90,0	9	90,0	8	80,0	6	60,0	1	10,0
Grupo VII — Pudins	20	3	15,0	4	20,0	10	50.0	6	30,0	5	25,0	4	20,0
Grupo VIII — Bolos com doce de ovos	41	5	12,2	33	80,5	29	70,7	29	70,7	20	48,8	3	7,3
Grupo IX — Bolos secos	20	0	0,0	4	20,0	2	10,0	0	0,0	2	10,0	2	10,0

QUADRO III

Resultados bacteriológicos, por grupo, expressos em número de amostras e em %, dos produtos considerados de nível higiénico aceitável ou não aceitável, segundo o critério adoptado em relação aos índices higiénicos estudados

Grupos	N.º Amostras	E. COLI				OUTROS COLIFORMES				ENTEROCOCOS				AERÓBIOS MESÓFILOS TOTAIS				ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA				B. CEREUS	
		Satisfazem 0/g	%	Não satisfazem > 0/g	%	Satisfazem ⩽ 10/g	%	Não satisfazem > 10/g	%	Satisfazem ⩽ 10^3/g	%	Não satisfazem > 10^3/g	%	Satisfazem ⩽ 10^4/g	%	Não satisfazem > 10^4/g	%	Satisfazem ⩽ 10/g	%	Não satisfazem > 10/g	%	Satisfazem ⩽ 10^2/g	%
Grupo I	51	36	70,6	15	29,4	27	52,9	24	47,1	46	90,2	5	9,8	23	45,1	28	54,9	37	72,5	14	27,5	51	100
Grupo II	30	19	63,3	11	36,7	6	20,0	24	80,0	21	70,0	9	30,0	5	16,7	25	83,3	14	46,7	16	53,3	30	100
Grupo III	70	28	40,0	42	60,0	14	20,0	56	80,0	43	61,4	27	38,6	4	5,7	66	94,3	30	42,9	40	57,1	70	100
Grupo IV	10	6	60,0	4	40,0	1	10,0	9	90,0	5	50,0	5	50,0	0	0,0	10	100	5	50,0	5	50,0	10	100
Grupo V	11	2	18,2	9	81,8	1	9,1	10	90,9	2	18,2	9	81,8	0	0,0	11	100	4	36,4	7	63,6	11	100
Grupo VI	10	9	90,0	1	10,0	2	20,0	8	80,0	10	100	0	0,0	2	20,0	8	80,0	4	40,0	6	60,0	10	100
Grupo VII	20	17	85,0	3	15,0	20	100	0	0,0	19	95,0	1	5,0	14	70,0	6	30,0	15	75,0	5	25,0	20	100
Grupo VIII	41	36	87,8	5	12,2	21	51,2	20	48,8	38	92,7	3	7,3	12	29,3	29	70,7	21	51,2	20	48,8	41	100
Grupo IX	20	20	100	0	0,0	18	90,0	2	10,0	20	100	0	0,0	20	100	0	0,0	18	90,0	2	10,0	20	100
Total	263	173	65,8	90	34,2	110	41,8	153	58,2	204	77,6	59	22,4	80	30,4	183	69,6	148	56,3	115	43,7	263	100

QUADRO IV

RESULTADOS DOS EXAMES MICOLÓGICOS DE 193 AMOSTRAS DE BOLOS À VENDA NA ÁREA DE LISBOA

Distribuição dos casos segundo níveis de concentração de fungos

PRODUTOS ANALISADOS			N.º Amostras	LEVEDURAS										BOLORES										LEVEDURAS E/OU BOLORES									
				0	> 0 ≤ 10	> 10 ≤ 10^2	> 10^2 ≤ 5 × 10^2	> 5 × 10^2 ≤ 10^3	> 10^3 ≤ 10^4	> 10^4 ≤ 10^5	> 10^5 ≤ 10^6	> 10^6 ≤ 10^7	> 10^7	0	> 0 ≤ 10	> 10 ≤ 10^2	> 10^2 ≤ 5 × 10^2	> 5 × 10^2 ≤ 10^3	> 10^3 ≤ 10^4	> 10^4 ≤ 10^5	> 10^5 ≤ 10^6	> 10^6 ≤ 10^7	0	> 0 ≤ 10	> 10 ≤ 10^2	> 10^2 ≤ 5 × 10^2	> 5 × 10^2 ≤ 10^3	> 10^3 ≤ 10^4	> 10^4 ≤ 10^5	> 10^5 ≤ 10^6	> 10^6 ≤ 10^7	> 10^7
Grupo I	Bolos com creme	Éclair	6	—	—	—	—	—	1	3	1	1	—	1	—	—	1	1	2	—	1	—	—	—	—	—	—	1	3	1	1	—
		Pastel de nata	6	4	—	1	1	—	—	—	—	—	—	2	—	3	1	—	—	—	—	—	2	—	2	1	1	—	—	—	—	—	—
		Bola de Berlim	7	3	—	2	2	—	—	—	—	—	—	4	—	—	3	—	—	—	—	—	1	—	1	5	—	—	—	—	—	—	—
		Folhado	6	1	—	—	—	—	2	2	—	1	—	3	—	—	1	1	—	1	—	—	1	—	—	—	—	1	3	—	1	—
		Folhado com creme	8	2	—	—	1	1	1	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	1	1	1	2	1	—	—
Grupo II	Bolos com chocolate	Torta com chocolate	10	2	—	—	1	—	1	2	3	—	1	6	—	—	—	—	1	1	2	—	2	—	—	1	—	—	3	2	1	1
		Rim de chocolate	6	—	—	—	—	1	1	1	2	1	—	2	—	2	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1	2	1	—
		Garibaldi	8	—	—	—	1	—	1	2	1	2	1	3	—	—	1	—	1	2	1	—	—	—	—	1	1	1	1	3	1	1
Grupo III	Bolos com chantilly	Russo	6	—	—	—	1	—	1	1	2	1	—	2	—	—	1	—	1	1	1	—	—	—	—	—		1	1	2	1	—
		Cornucópia	7	—	—	—	1	—	3	1	1	1	—	3	—	—	2	—	—	1	1	—	—	—	—	1	—	3	1	1	1	—
		Duchesse	6	—	—	—	—	—	—	1	1	1	3	—	—	1	—	—	1	3	1	—	—	—	—	—	—	—	1	1	1	3
		Fantasia	6	—	—	—	—	—	—	1	5	—	—	1	—	—	—	—	4	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	5	—	—
		Delícia de ananás	6	—	—	—	—	—	—	1	3	2	—	1	—	1	—	—	—	3	—	1	—	—	—	—	—	1	3	2	—
		Delícia de chantilly	6	—	—	—	—	1	—	—	—	2	3	1	—	—	—	—	1	1	2	1	—	—	—	—	1	—	—	2	3
		Tíbia	7	—	—	—	—	—	—	2	3	2	—	4	—	—	1	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	2	3	2	—
Grupo IV		Bolos com chocolate e chantilly	6	—	—	—	—	—	1	1	2	1	1	1	—	—	1	—	—	2	1	1	—	—	—	—	—	1	1	1	2	1
Grupo V		Babá (Bolos com chantilly, calda de açúcar e rum)	9	—	—	—	—	—	—	4	3	2	—	5	—	1	1	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	4	3	2	—
Grupo VI		Fatia húngara (Bolos com chantilly e frutas cristalizadas)	6	—	—	—	1	2	1	—	1	1	—	—	—	4	—	—	—	2	—	—	—	—	—	1	2	1	—	1	1	—
Grupo VII	Pudins	Queijada	10	3	—	4	—	2	1	—	—	—	—	4	—	6	—	—	—	—	—	—	2	1	1	3	2	1	—	—	—	—
		Pudim	6	4	—	1	1	—	—	—	—	—	—	2	—	2	1	1	—	—	—	—	2	—	1	2	—	1	—	—	—	—
Grupo VIII	Bolos com doce de ovos	Torta com recheio de ovos	8	1	—	—	1	—	—	1	2	1	2	4	—	1	—	—	—	1	1	1	1	—	—	1	—	—	1	2	1	2
		Trouxa de ovos	8	—	—	—	1	—	1	2	3	—	1	4	—	1	—	—	2	—	1	—	—	—	—	1	—	1	2	3	—	1
		Guardanapo	6	1	—	—	—	—	2	3	—	—	—	2	—	1	1	1	1	—	—	—	1	—	—	—	—	2	3	—	—	—
		Barquinho e queijinho	9	4	—	—	2	1	—	1	1	—	—	3	—	1	3	—	1	—	1	—	3	—	1	—	3	—	1	1	—	—
Grupo IX	Bolos secos	Bolo de arroz	6	5	—	—	1	—	—	—	—	—	—	3	—	2	1	—	—	—	—	—	3	—	2	1	—	—	—	—	—	—
		Queque	6	4	—	2	—	—	—	—	—	—	—	5	—	1	—	—	—	—	—	—	3	—	3	—	—	—	—	—	—	—
		Croissant	6	5	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—	—	1	—	—	—	—	—	—
		Palmier	6	3	—	2	1	—	—	—	—	—	—	5	—	1	—	—	—	—	—	—	3	—	2	1	—	—	—	—	—	—

Todas as amostras revelam a presença de B. cereus, em teores não significativos ($\leqslant 10^2$/g).

Pode concluir-se que, dos 5 tipos de bolos estudados neste grupo, são os «éclair», «bola de Berlim» e «folhado com creme» que revelam um maior grau de contaminação. A melhor qualidade higiénica verifica-se nos tipos «pastel de nata» e «bom bocado», muito provavelmente porque estes bolos são sujeitos a cozedura após toda a preparação, incluindo a adição de creme, enquanto que os outros tipos estudados neste grupo recebem a dose dos diferentes cremes de pastelaria após a cozedura ficando, assim, sujeitos a contaminação devida, não só, à manipulação após o tratamento térmico, mas ainda à que possa resultar da inquinação provocada pela flora que se encontre no próprio creme e sua posterior multiplicação.

Análise micológica

A pesquisa e contagem de fungos efectuou-se em 33 amostras num total de 99 bolos. Como na análise bacteriológica, dos 5 tipos de bolos estudados, são os «pastel de nata» e «bom bocado» que revelam menor grau de contaminação, havendo só uma amostra de «pastel de nata» com contagem $\geqslant 5\times10^2$/g.

Na totalidade das amostras, 10 (30,3 %) revelam teores $< 5\times10^2$/g; em 17 (51,5 %) a contagem é $> 5\times10^2$/g e em 6 (18,2 %) a pesquisa de fungos é negativa.

Salienta-se que a inclusão dos tipos «pastel de nata» e «bom bocado» neste grupo contribuiu para que a percentagem de amostras, com teores de germes aeróbios mesófilos e de fungos superiores aos limites estabelecidos como aceitáveis, seja inferior à que seria de esperar (Quadros I e IV).

GRUPO II

Neste grupo foram estudadas 30 amostras, 90 bolos, que incluem chocolate na sua composição. Por serem de grande consumo consideraram-se representativos os tipos «torta com chocolate» e «Garibaldi».

Análise bacteriológica

O grau de contaminação dos tipos que constituem este grupo é ainda superior ao dos bolos analisados no Grupo I. Das 30 amostras estudadas, 24 (80,0 %) revelam a presença de coliformes em contagem > 10/g; de 11 (36,7 %) isolou-se E. coli e, em 9 (30,0 %) a contaminação por enterococos é $> 10^3$/g. A contagem de aeróbios mesófilos é em 25 amostras (83,3 %) $> 10^4$/g e a positividade para Estafilococos produtores de coagulase verifica-se em 16 amostras (53,3 %), em número > 10/g (Quadros I, II e III).

Análise micológica

Nas 24 amostras analisadas, 4 (16,7 %) apresentam teores $\leqslant 5\times10^2$/g e 20 (83,3 %) revelam contagem $> 5\times10^2$/g. Há uma predominância de casos em que as leveduras se encontram em teores elevados (Quadros IV e V).

GRUPO III

Estudaram-se 7 tipos diferentes de bolos na composição dos quais entra creme de chantilly.

Análise bacteriológica

Foi efectuada em 70 amostras (210 bolos). A análise conjunta dos Quadros I, II e III mostra que o grau de contaminação é considerável. Das amostras estudadas, 56 (80,0 %) revelam a presença de coliformes em número > 10/g; em 42 (60,0 %) a pesquisa de E. coli é positiva; 27 (38,6 %) apresentam enterococos em contagem $>10^3$/g e, em 40 (57,1 %) a presença de Estafilococos coagulase positiva é > 10/g. A contagem de aeróbios mesófilos é em 66 amostras (94,3 %) $> 10^4$/g.

Análise micológica

Esta análise diz respeito a 44 amostras (132 bolos). O Quadro IV permite verificar que a contaminação por fungos é intensa revelando-se em teores muito elevados. Só uma amostra (2,3 %) apresenta contagem $< 5\times10^2$; em 43 (97,7 %) os níveis são $> 5\times10^2$/g. Isolaram-se leveduras de todas as amostras; em 12 (27,3 %) a pesquisa de bolores foi negativa.

GRUPO IV

Foram estudadas, neste grupo, 10 amostras (30 bolos) com chocolate e chantilly na sua composição.

Análise bacteriológica (Quadros I, II e III)

Em todas as amostras a pesquisa de coliformes é positiva e, em 9 (90,0 %) a sua contagem revela-se $> 10/g$. Isolou-se E. coli de 4 amostras (40,0 %) e, enterococos, em contagem $> 10^3/g$ de 5 (50,0 %). A presença de Estafilococos coagulase positiva verifica-se em contagem $> 10/g$ em 5 amostras (50,0 %). A contagem de aeróbios mesófilos excede o limite $\leqslant 10^4/g$ em todas as amostras (100 %).

Análise micológica (Quadro IV)

A contagem de Fungos (leveduras e bolores) atinge, em todas as amostras, teores elevados ($> 5\times10^2$). Uma amostra não apresenta contaminação por bolores.

GRUPO V

Grupo constituído por um só tipo de bolos «babá» num total de 11 amostras na composição das quais entra chantilly, calda de açúcar e rum.

Análise bacteriológica

A análise dos Quadros I, II e III mostra a má qualidade higiénica deste tipo de bolos. A presença de coliformes revela-se $> 10/g$ em 10 (90,0 %) das 11 amostras estudadas e E. coli não se encontra presente só em 2 amostras, sendo a sua contagem $> 10/g$ em 9 (81,8 %). Os enterococos atingem níveis $> 10^3/g$ em 9 (81,8 %) das amostras e Estafilococos coagulase positiva aparece em contagem $> 10/g$ em 7 (63,6 %). A contagem de germes aeróbios mesófilos totais é, nas 11 amostras, $> 10^4/g$ (100 %).

Análise micológica

Todas as amostras revelaram a presença de leveduras em teores muito elevados (Quadro IV). Em 5 amostras a pesquisa de bolores é negativa.

GRUPO VI

Estudou-se, neste grupo, um só tipo de bolos, na composição dos quais entram, além dos constituintes habituais, chantilly e frutas cristalizadas. Analisaram-se 10 amostras (30 bolos).

Análise bacteriológica

Os Quadros I, II e III mostram que a percentagem de positividade para coliformes é de 90,0 % e a sua contagem é, em 80,0 % dos casos, $> 10/g$. Apenas 1 amostra revela a presença de E. coli. A contagem de enterococos é, em todas as amostras, $\leqslant 10^3/g$. Isolou-se Estafilococos coagulase positiva de 6 amostras (60,0 %), em contagem $> 10/g$. A contagem de germes aeróbios mesófilos é $> 10^4/g$ em 8 (80,0 %) das amostras estudadas.

Análise micológica

Todas as amostras revelam a presença de Fungos e, só em 1 amostra, a contagem é $\leqslant 5\times10^2/g$.

GRUPO VII

É constituído por «queijadas» e «pudins de ovos» em número de 20 amostras, sendo 10 de cada tipo, num total de 60 bolos.

Análise bacteriológica

Os Quadros I, II e III mostram que, das análises efectuadas no tipo «queijada», só uma amostra revela a presença de coliformes e em contagem $\leqslant 10/g$; a pesquisa de E. coli é negativa em todas as amostras e a de enterococos é positiva em 4, em contagem $< 10^3/g$. A pesquisa de Estafilococos coagulase positiva é negativa na totalidade das amostras e a contagem de germes aeróbios mesófilos revela-se $\leqslant 10^4/g$ em 8 das amostras estudadas não satisfazendo ao nível sugerido, apenas em 2.

Quanto ao tipo «pudim de ovos», 3 amostras revelam a presença de E. coli e em 1 a contagem de enterococos excede o limite de $10^3/g$; em 5, a presença de estafilococos coagulase positiva é $> 10/g$ e em 4 a contagem de germes aeróbios mesófilos ultrapassa o limite de $10^4/g$. Nas 10 amostras estudadas, 7 não satisfazem em uma ou mais exigências os índices sugeridos.

No conjunto das 20 amostras analisadas neste grupo, 3 (15,0 %) revelam a presença de E. coli e 4 (20,0 %) a de outros coliformes; isolaram-se enterococos em contagem $> 10^3/g$ de 1 amostra (5,0 %); a contagem de germes aeróbios mesófilos é $> 10^4/g$ em 6 amostras (30,0 %) e a presença de Estafilococos coagulase positiva, em contagem $> 10/g$, verifica-se em 5 amostras (25,0 %).

Análise micológica

Estudaram-se, na totalidade, 16 amostras, 10 de «queijadas» e 6 de «pudins de ovos». Em 12 (75,0 %) os níveis revelados (leveduras e bolores) são $< 5\times10^2$ e em 4 (25,0 %) são $> 5\times10^2$.

GRUPO VIII

Estudaram-se, neste grupo, bolos com doce de ovos num total de 41 amostras (123 bolos) que incluem 4 tipos.

Análise bacteriológica

Nos Quadros I, II e III verifica-se que 33 amostras (80,0 %) revelam a presença de coliformes e em 20 (48,8 %) a contagem é $> 10/g$; a pesquisa de E. coli é positiva em 5 (12,2 %) e a contagem de enterococos é $> 10^3/g$ em 3 (7,3 %). Isolaram-se Estafilococos coagulase positiva em 20 amostras (48,8 %) em contagem $> 10/g$, atingindo em 2 amostras (4,9 %) níveis $> 10^6/g$. Dos 4 tipos estudados, são os «barquinhos» e «queijinhos» que revelam melhor qualidade higiénica na totalidade dos ensaios efectuados.

Análise micológica

Verifica-se que, num total de 31 amostras (Quadros IV, V e VI) apenas 8 (25,8 %) apresentam contagem de Fungos $< 5\times10^2$; em 23 amostras (74,2 %) os níveis atingidos são $> 5\times10^2$. A contaminação por leveduras é intensa, revelando-se em contagem $> 5\times10^2$ em 21 amostras (67,7 %); em 6 (19,3 %) a sua pesquisa foi negativa. Não se detectaram bolores em 13 amostras (41,5 %).

GRUPO IX

Formam este grupo 20 amostras de bolos, sem recheio ou cobertura, num total de 60 unidades distribuídas em número de 15 por cada um dos 4 tipos analisados — «bolo de arroz», «queque», «croissant» e «palmier».

Análise bacteriológica

Os Quadros I, II e III mostram que em 2 amostras (10,0 %) a contagem de coliformes é $> 10/g$, mas a presença de E. coli é negativa em todas as amostras; isolaram-se enterococos de 1 «croissant» e de 1 «palmier» em contagem $< 10^2/g$; de 2 amostras (10,0 %) destes mesmos tipos isolaram-se também Estafilococos produtores de coagulase, em número $> 10/g$. A contagem de germes aeróbios mesófilos é, em todas as amostras, $< 10^4/g$.

Análise micológica

A contagem de Fungos não excedeu, em nenhuma amostra, $5\times10^2/g$.

Conclusões

1 — O presente estudo do estado higieno-sanitário de produtos de pastelaria de grande consumo, à venda em pastelarias da cidade

QUADRO V

Leveduras e bolores

Grupos	N.º Amostras	$\leqslant 5\times10^2$	%	$> 5\times10^2$ $\leqslant 10^3$	%	$> 10^3$ $\leqslant 10^4$	%	$> 10^4$	%
Grupo I	33	16	48,5	2	6,1	3	9,1	12	36,3
Grupo II	24	4	16,7	0	0	3	12,5	17	70,8
Grupo III	44	1	2,3	2	4,5	4	9,1	37	84,1
Grupo IV	6	0	0	0	0	1	16,7	5	83,3
Grupo V	9	0	0	0	0	0	0	9	100
Grupo VI	6	1	16,7	2	33,3	1	16,7	2	33,3
Grupo VII	16	12	75,0	2	12,5	2	12,5	0	0
Grupo VIII	31	8	25,8	3	9,7	3	9,7	17	54,8
Grupo IX	24	24	100	0	0	0	0	0	0
Total	193	66	34,2	11	5,7	17	8,8	99	51,3

de Lisboa, consistiu na análise bacteriológica de 263 amostras, cada uma constituída por 3 unidades do mesmo tipo num total de 789 bolos, completada pela análise micológica de 193 amostras num total de 579 bolos, todas distribuídas por 9 grupos segundo algumas características de composição.

2 — A análise bacteriológica compreendeu as seguintes determinações:

— *pesquisa de Salmonelas, Estafilococos coagulase positiva e B. cereus;*
— *pesquisa e contagem de E. coli e ou-*
— *tros coliformes;*
— *pesquisa e contagem de enterococos;*
— *contagem de germes aeróbios mesófilos totais.*

A análise micológica constou da pesquisa e contagem de Fungos (leveduras e bolores).

3 — Foram utilizados, como referência para apreciação das determinações efectuadas, os seguintes critérios microbiológicos de avaliação sanitária susceptíveis de constituir uma base de estudo para a Comissão Técnica Portuguesa de Normalização de Microbiologia dos géneros alimentícios:

— *Escherichia coli* ...	*ausência em 1 g*
— *Outros coliformes* ..	$\leqslant 10/g$
— *Enterococos*	$\leqslant 10^3/g$
— *Salmonella*	*ausência em 30 g*
— *Staphylococcus coagulase positiva* .	*ausência em 0,1 g*
— *Contagem de germes aeróbios mesófilos totais*	$\leqslant 10^4/g$
— *Contagem de Fungos (leveduras e bolores)*	$\leqslant 5\times10^2/g$

4 — Das 263 amostras analisadas, sob o ponto de vista bacteriológico, não satisfizeram os índices higiénicos sugeridos:

— *58,2 % quanto a coliformes*
— *43,6 % quanto a Estafilococos coagulase positiva*
— *34,2 % quanto a E. coli*
— *22,4 % quanto a enterococos*
— *69,6 % quanto a germes aeróbios mesófilos totais*

Em nenhuma amostra se observou número de bactérias produtoras de toxinas (Estafilococos produtores de coagulase e B. cereus) que se possa considerar causa imediata de intoxicação alimentar.

De nenhuma amostra se isolaram Salmonelas.

5 — Das 193 amostras estudadas, sob o ponto de vista micológico, não satisfizeram o limite máximo admitido para contagem 127 (65,8 %).

6 — A análise conjunta dos resultados obtidos nas contagens de germes aeróbios mesófilos totais e de Fungos (leveduras e bolores), índices gerais de características higiénicas dos produtos alimentares, permite concluir que o grau de contaminação é elevado, excepto para os grupos VII e IX (Quadro VI). Assim temos, para cada grupo, as seguintes percentagens relativas às contagens de germes aeróbios mesófilos e de Fungos, respectivamente:

Grupo I (54,9 %; 51,5 %);
Grupo II (83,3 %; 83,3 %);
Grupo III (94,3 %; 97,7 %);
Grupo IV (100 %; 100 %);
Grupo V (100 %; 100 %);
Grupo VI (80,0 %; 83,3 %);
Grupo VII (30,0 %; 25,0 %);
Grupo VIII (77,7 %; 74,2 %);
Grupo IX (0 %; 0 %).

Como se vê os resultados são extremamente concordantes nas duas contagens consideradas.

7 — Dos resultados obtidos neste estudo, ressalta a necessidade de estabelecer Normas de Qualidade Higiénica para avaliação e controlo laboratorial das características higieno-sanitárias destes produtos e, de promover a melhoria da qualidade das matérias-primas e o aperfeiçoamento das condições de fabrico e de venda, bem como da vigilância do estado de saúde das pessoas envolvidas nestas actividades.

QUADRO VI

Percentagem de amostras que revelam contagens de germes aeróbios mesófilos totais situadas em níveis $\leqslant 10^4/g$ e $> 10^4/g$ e de fungos (Leveduras e bolores) situadas em níveis $\leqslant 5 \times 10^2/g$ e $> 5 \times 10^2/g$

	AERÓBIOS MESÓFILOS TOTAIS					FUNGOS — LEVEDURAS E BOLORES				
GRUPOS	N.º Amostras	N.º Amostras com contagem $\leqslant 10^4/g$	%	N.º Amostras com contagem $> 10^4/g$	%	N.º Amostras	N.º Amostras com contagem $\leqslant 5\times10^2/g$	%	N.º Amostras com contagem $> 5\times10^2/g$	%
Grupo I	51	23	45,1	28	54,9	33	16	48,5	17	51,5
Grupo II	30	5	16,7	25	83,3	24	4	16,7	20	83,3
Grupo III	70	4	5,7	66	94,3	44	1	2,3	43	97,7
Grupo IV	10	0	0	10	100	6	0	0	6	100
Grupo V	11	0	0	11	100	9	0	0	9	100
Grupo VI	10	2	20,0	8	80,0	6	1	16,7	5	83,3
Grupo VII	20	14	70,0	6	30,0	16	12	75,0	4	25,0
Grupo VIII	41	12	29,3	29	70,7	31	8	25,8	23	74,2
Grupo IX	20	20	100	0	0	24	24	100	0	0
Total	263	80	30,4	183	69,6	193	66	34,2	127	65,8

ALIMENTOS DIETÉTICOS DIVERSIFICADOS INFANTIS «BABY FOODS»

Subsídio para o conhecimento da composição e valor alimentar de produtos comercializados no País

Eugénia C. C. Amaral

Introdução

O papel do laboratório no domínio dos «alimentos preparados» destinados à dietética infantil é fundamental. Assim, a sua intervenção no estudo da composição de novos produtos tem sido de grande importância para o ajustamento das fórmulas de composição destes alimentos às necessidades nutricionais da criança bem como à vigilância da manutenção constante das suas características de composição, qualidade higiénica e pureza, quer no fabrico quer no controlo de produtos comercializados.

O Laboratório de Nutrição e Higiene dos Alimentos do I. N. S. A. tem efectuado vários estudos analíticos no campo da dietética infantil, seja no âmbito da sua própria competência, seja a pedido de entidades oficiais e particulares dispondo, actualmente, de análises de quase todos os alimentos deste tipo consumidos no País. Estes estudos implicam um trabalho laboratorial bastante pormenorizado, não só para verificar se a composição e valor alimentar de tais produtos correspondem ao declarado, como ainda averiguar da sua pureza e qualidade higiénica.

Por solicitação da própria indústria (nacional e estrangeira) este Laboratório tem ainda colaborado no estudo de novas fórmulas e no ajustamento da composição em alguns dos seus constituintes, de outras.

Como é sabido o leite é o alimento exclusivo da criança nos primeiros tempos de vida.

A partir de certa idade, porém, o leite — quer seja proveniente directamente da mãe, aleitamento materno, quer originário da vaca normalmente apresentado sob a forma de leite em pó industrializado e adaptado à alimentação do lactente — deixa de assegurar todas as necessidades nutricionais da criança. Devem, portanto, introduzir-se gradualmente na sua alimentação outros tipos de alimentos que garantam os princípios imediatos indispensáveis ao seu bom desenvolvimento.

Ao mês e meio de idade começam a ministrar-se os sumos de laranja ou de limão, como fontes de vitamina C, aproveitando ao mesmo tempo as importantes propriedades reguladoras que estes sumos têm sobre o trânsito intestinal da criança — o sumo de laranja é laxativo enquanto que o de limão é obstipante.

Só no entanto, a partir dos 3 meses é que, de um modo geral, se inicia a alimentação diversificada tendo em vista a utilização de novos alimentos que vão complementar e ao mesmo tempo permitir reduzir o aporte lácteo. Este período, início da adaptação ao regime

do adulto, é bastante delicado dado que nem todas as crianças aceitam facilmente a introdução dos diferentes paladares dos novos alimentos e o uso da colher.

A substituição gradual de um biberão por caldo de legumes que, de princípio, pode ser enriquecido com cerca de 5 por cento de farinhas de cereais, malteadas ou não, e cuja concentração é progressivamente aumentada, constitui normalmente a primeira fase de adaptação. Seguem-se os purés de legumes variados temperados com azeite ou manteiga a que, pouco a pouco, se vão adicionando novos alimentos ricos em proteínas animais não lácteas, como seja a carne magra (vitela, vaca, carneiro, frango, fígado, miolos) o peixe branco, magro, e a gema de ovo, que é dada habitualmente a partir do 6.º mês.

Frutos frescos variados reduzidos a puré, papas constituídas por leite de vaca e farinha ou flocos de cereais, farinhas lácteas do tipo comercial e o iogurte, complementam a dieta alimentar da criança.

A ausência inicial de mastigação, dentição, inadequação das secreções enzimáticas para a digestão de certos constituintes (como o amido) impõem que os alimentos a ministrar sejam preparados e confeccionados de modo a adaptarem-se aos diferentes estádios do seu desenvolvimento fisiológico. Assim, até aos 6 meses o lactente tem que ingerir os alimentos finamente moídos, isto é, sob a forma de um creme ou puré. A partir desta idade alguns géneros alimentícios passam a ser triturados mais grosseiramente — carne e fígado raspados, miolos pouco desfeitos, etc. Esta introdução de alimentos mais sólidos leva a criança a tentar iniciar a mastigação e conduz ainda à adaptação do aparelho digestivo a alimentos de maior consistência.

Aos 8 meses deve começar-se, lentamente, com o regime da família, tendo em conta, em particular, a consistência dos alimentos (arroz, massa, puré de batata, etc.) a fim de que ao atingir o ano de idade a alimentação possa ser já semelhante à do agregado familiar.

Durante o primeiro ano de vida tornam-se, portanto, indispensáveis, para além do leite, variados produtos alimentares que garantam à criança a satisfação das necessidades em calorias e nos diferentes nutrientes (Quadro I) por forma a propiciar um desenvolvimento normal e equilibrado. Os alimentos utilizados terão de ser muito frescos e de boa qualidade, condição inerente à manutenção das suas propriedades nutritivas.

A adaptação da criança ao mundo não é fácil e a vida moderna priva-a, muitas vezes, dos benefícios duma alimentação confeccionada em casa com os produtos e nas condições mais adequadas.

O avanço tecnológico das preparações alimentares destinadas à primeira infância e a evolução que as respectivas fórmulas têm sofrido nos últimos anos, permitem às mães dispor actualmente, de produtos altamente industrializados que, por um lado lhe trazem comodidade e descanço e por outro estão adaptadas às necessidades específicas do seu pequeno consumidor. São um exemplo destes produtos os alimentos designados por «baby foods» ou «alimentos em boião» cujo consumo em países economicamente mais avançados, como os E. U. A. e certos países da Europa Ocidental, está praticamente generalizado a toda a população. No nosso País a sua utilização tem vindo a aumentar, sobretudo nas regiões citadinas, zonas industriais e nos agregados populacionais maiores, onde o número de mulheres empregadas é normalmente grande.

Para garantir o valor alimentar do «baby food» a indústria tem que empregar matérias-primas de primeira qualidade, definir fórmulas equilibradas e utilizar uma tecnologia de transformação e de conservação que lhe permita obter produtos com as qualidades requeridas.

O alimento em boião tem que conter os nutrientes suficientes, mas não assegura convenientemente as necessidades nutricionais da criança. Assim, no que respeita às suas propriedades nutritivas, estudos efectuados nos E. U. A. demonstram que os alimentos confeccionados em casa contêm, em geral, menos água e hidratos de carbono (amido e açúcar) e mais celulose, proteína, gordura, vitaminas e sais minerais do que os mesmos alimentos comercializados.

Na realidade, os produtos preparados pela indústria são, normalmente, adicionados de certos aditivos alimentares (agentes espessantes, estabilizantes, reguladores de pH, etc.), indispensáveis tecnologicamente à consistência e textura do produto acabado sendo condição fundamental que esses aditivos satisfaçam as prescrições da FAO/OMS. A junção de amidos modificados (agentes de espessamento) associada à presença de açúcar, ingrediente que tem sido utilizado em muitas variedades de boiões, inclusivé em fórmulas à

base de carne, peixe e legumes, fazem com que os hidratos de carbono destes produtos (sua principal fonte de calorias) se apresentem em teores relativamente elevados, quando comparados com o conteúdo em glúcidos existente no mesmo tipo de alimentos confeccionados em casa.

Como é do conhecimento geral, a utilização excessiva de açúcar na alimentação infantil é hoje fortemente contra-indicada dado estimular a tendência da criança para o *«paladar doce»* e, portanto, predispô-la ao consumo exagerado de alimentos doces que conduzem à obesidade e ao aumento do risco da cárie dentária.

Nestas condições, as recomendações internacionais apontam para a necessidade de uma redução acentuada do teor de sacarose nos alimentos em boião, sendo apenas aconselhada a sua utilização nas variedades à base de frutos e pudins. A legislação francesa, bastante precisa nesta matéria, especifica mesmo, o teor máximo de açúcar admitido (15 g por 100 g) e apenas nas fórmulas à base de frutos.

Não obstante os «baby foods» apresentarem um teor de glúcidos elevado, o número total de calorias fornecidas é inferior à existente nos alimentos preparados em casa. Isto deve-se ao facto dos seus teores em gordura e proteína serem, normalmente, mais baixos, sendo elevado o conteúdo em água.

Situação análoga passa-se com as vitaminas. Embora a tecnologia moderna diminua a destruição das vitaminas nos ingredientes processados, o baixo conteúdo em sólidos totais associado à presença de amido e açúcar, fazem com que os alimentos em boião revelem um teor vitamínico consideravelmente menor. De um modo geral as variedades à base de frutos são adicionadas de vitamina C.

O baixo teor em sólidos totais implica, igualmente, um baixo conteúdo mineral. Muitas vezes as cinzas apresentam-se em concentrações elevadas o que é devido ao facto do produto ter sido adicionado de sal.

No que respeita ao conteúdo em ferro, o seu teor é normalmente inferior em 2 mg por 100 g de alimento (excepção para os produtos contendo fígado e gema de ovo) quando comparado com o conteúdo deste mineral nos mesmos alimentos preparados em casa. Nas variedades à base de legumes e frutos a baixa de ferro é apenas de 1 mg por 100 g de produto.

O sal, outro ingrediente adicionado aos boiões, tem sido utilizado em doses bastante elevadas. Sucede que os alimentos naturais contêm o ião sódio e que a criança não precisa, para o seu desenvolvimento, de grandes quantidades deste ião.

É hoje opinião corrente que a necessidade verificada no indivíduo adulto de comer alimentos com bastante sal, provém do facto de ter adquirido na infância um forte *«paladar a sal»* por ingestão de produtos com elevado teor em cloreto de sódio. Experiências efectuadas em ratos têm levado a considerar que o consumo excessivo de sal, por parte da criança, predispõe ao desenvolvimento da hipertensão quando adulta.

A Comissão do Codex Alimentarius da FAO/OMS na norma internacional referente a «baby foods» recomenda que o *ião sódio não deve ultrapassar os 200 mg por 100 g de produto pronto para consumo* e que *aos produtos à base de frutos não é autorizada a junção de sal.*

As razões expostas têm levado as firmas fabricantes de boiões a ajustar as suas fórmulas às recomendações internacionais e às disposições legislativas dos próprios países, estando já a serem comercializadas novas fórmulas com menor teor em sacarose, sal e em certos amidos modificados, maior nível calórico obtido à custa da elevação dos conteúdos proteíco e lipídico, etc.

Os alimentos em boião apresentam-se no mercado nas formas «pronto para consumo» e «desidratado». Neste último caso o produto tem que ser reconstituído com água ou outro líquido apropriado, antes de ser ministrado. Os alimentos prontos a serem consumidos, e que são os mais correntes, encontram-se embalados em boiões de vidro branco, hermeticamente fechados, destacando-se no rótulo da embalagem a designação «bebé» ou «júnior» consoante se destinam a crianças a partir dos 3 ou 6 meses. Regra geral o teor dos ingredientes é qualitativa e quantitativamente igual nos dois tipos de boiões para a mesma variedade.

No caso dos boiões tipo «bebé» os ingredientes encontram-se finamente moídos, com aspecto de um creme, a fim de poderem ser facilmente assimiláveis pelo intestino do lactente. No tipo «júnior» o conteúdo dos boiões, embora se encontre homogeneizado, apresenta-se já granuloso.

Estes produtos encontram-se comercializados nas variedades à base de carne, peixe, legumes, frutos e ainda pudins. A sua estabilização bacteriológica é efectuada através de tratamento térmico a que o alimento é sujeito antes ou depois de acondicionado.

Os boiões são vendidos no nosso País em farmácias e supermercados constatando-se, por vezes, que os respectivos expositores de venda se encontram em locais pouco adequados à conservação do alimento, como, por exemplo, a frequente exposição às radiações solares.

Estes alimentos, tal como todos os outros destinados à dietética infantil, só podem ser comercializados [1] depois de terem sido homologados pela Direcção-Geral de Saúde. Esta homologação obriga, por vezes, a apresentação, por parte das firmas, de boletins de análise efectuadas no I. N. S. A. Nestas condições, compete ao Laboratório de Nutrição e Higiene dos Alimentos do Instituto proceder a um estudo analítico pormenorizado dos alimentos em questão, tendo em vista não só a sua composição e valor alimentar mas ainda a presença de quaisquer constituintes que possam ser prejudiciais à saúde da criança.

Com a finalidade apontada a firma Alter, fabricante e distribuidora de boiões da marca NUTRIBEN, solicitou, ao I. N. S. A., análises de uma variada gama de produtos, dos tipos «bebé» e «júnior», daquela marca comercial.

Dado que estes alimentos se encontram já à venda nas farmácias do País, parece-nos de interesse divulgar o trabalho efectuado que aliás foi complementado com análises de algumas amostras da mesma marca por nós adquiridas no mercado.

É ainda intenção do Laboratório ampliar este estudo às restantes 4 marcas de alimentos em boião — BLEDINE, MAME, FALI e HEINZ — actualmente consumidos pelas crianças portuguesas.

Não queremos deixar ainda de referir que não existe legislação em Portugal que regulamente, especificamente, os alimentos destinados à dietética infantil. Recentemente, porém, foram elaboradas por Comissão criada no âmbito da Direcção-Geral de Saúde, três normas que se encontram prontas a publicar. Estas normas, que abrangem as três grandes categorias de alimentos utilizados em dietética da criança normal (produtos à base de leite destinados ao lactente privado do aleitamento materno; à base de cereais e/ou hidratos de carbono destinados a crianças até aos 3 anos de idade; alimentos diversificados da infância — «baby foods») tiveram como linha condutória básica as normas da Comissão do Codex Alimentarius da FAO/OMS. Considera-se de relevante importância a entrada em vigor destas normas, que permitirão disciplinar e ao mesmo tempo servir de directriz aos fabricantes dos produtos comercializados. Para conhecimento transcreve-se, em Anexo, a norma relativa a «baby foobs».

Material e métodos

O estudo analítico incidiu sobre quase todas as fórmulas de alimentos em boião da marca NUTRIBEN. Estes produtos encontram-se no mercado devidamente embalados em recipientes redondos, de vidro branco, fechados hermeticamente com tampas metálicas e com rótulos onde figuram indicações relativas ao nome do alimento e finalidade a que se destina, lista de ingredientes, composição em gramas por boião, modo de emprego, prazo de validade e ainda outras especificações que o Decreto-Lei n.º 315/70 impõe a produtos desta natureza. Os boiões tipo «bebé» referem conter 130 gramas de alimento enquanto que os «júnior» indicam 200 gramas.

Nas Listas 1 e 2, discriminam-se as variedades à base de carne, peixe, legumes e frutos, respectivamente «bebé» e «júnior», que foram analisadas, indicando-se os vários ingredientes componentes de cada fórmula, tal como vem mencionado no rótulo das embalagens.

Para se apreciar a composição das diferentes preparações alimentares procedeu-se à determinação dos seus componentes energéticos, minerais e vitamínicos.

Os doseamentos analíticos efectuados dizem respeito aos seguintes constituintes: água, proteína, gordura, hidratos de carbono, celulose e cinzas; cloretos e os elementos minerais, cálcio, fósforo, ferro, cobre, sódio, potássio, magnésio, zinco e iodo; vitaminas A, E, B_1, B_2, PP, C e ainda caroteno. Determinou-se também o pH em todas as amostras.

---

[1] Decreto-Lei n.º 315/70 que regulamenta a comercialização dos vários tipos de alimentos destinados a fins dietéticos ou de regime.

LISTA 1

Alimentos em boião («Baby Foods») Bebé

VARIEDADES E INGREDIENTES

Variedades com carne, peixe e legumes

Frango — frango, fécula de tapioca, sêmola de milho, cenoura, farinha de soja desengordurada, sal, farinha de alfarroba e ácido cítrico.

Frango, Vitela — frango, vitela, tomate, fécula de tapioca, sal, farinha de alfarroba, tomilho e louro.

Vaca — carne de vaca, fécula de tapioca, sal, farinha de alfarroba, tomilho e louro.

Vitela — carne de vitela, fécula de tapioca, sal e farinha de alfarroba.

Vitela com Fiambre — carne de vitela, tomate, fiambre, fécula de tapioca, cebola, aipo, sal e farinha de alfarroba.

Pescada com Béchamel — leite, pescada, batata, fécula de tapica, gema de ovo, sêmola de trigo, cebola, sal e alho.

Fiambre, Frango, Legumes — cenoura, leite, fécula de tapioca, fiambre, frango, arroz, ervilhas, farinha de soja desengordurada, sal e alho.

Fígado, Legumes — batata, fígado, cenoura, fécula de tapioca, ervilhas, tomate, farinha de soja desengordurada, sumo de limão, gelatina e salsa.

Carne de Vaca com Legumes — carne de vaca, cenoura, tomate, fécula de tapioca, espinafres, farinha de arroz, levedura, sal, cebola e salsa.

Vaca, Espinafres — batata, espinafres, carne de vaca, leite, fécula de tapioca, arroz, sal, farinha de soja desengordurada e farinha de alfarroba.

Vitela, Legumes — cenoura, batata, vitela, fécula de tapioca, ervilhas, farinha de soja desengordurada, sal e tomilho.

Linguado, Legumes — cenoura, leite, batata, fécula de tapioca, linguado, gema de ovo, farinha de soja desengordurada, sal, louro e tomilho.

Pescada, Legumes — batata, leite, cenoura, pescada, fécula de tapioca, gema de ovo, sêmola de trigo, sal, farinha de soja desengordurada e farinha de alfarroba.

Puré de Legumes — cenouras, batata, espinafres, fécula de tapioca, ervilhas, tomate, sal e cebola.

Variedades com frutos

Alperce, Maçã — maçã, alperce, sacarose, fécula de tapioca e vitamina C.

Ananás, Banana — maçã, banana, sacarose, ananás e fécula de tapioca.

Ananás, Pêssego — maçã, sacarose, pêssego, ananás e fécula de tapioca. .

Banana, Maçã — maçã, sacarose, banana, sumo de limão, fécula de tapioca e vitamina C.

Laranja, Banana — banana, bolacha, sacarose, sumo de laranja, fécula de tapioca e vitamina C.

Laranja, Banana, Biscoito — sumo de laranja, sacarose, banana, biscoito, fécula de tapioca e vitamina C.

Maçã com Mel — maçã, sacarose, mel, fécula de tapioca, sumo de limão e vitamina C.

Marmelo, Maçã — marmelo, maçã, sacarose, fécula de tapioca e vitamina C.

Pêras com Mel — pêra, sacarose, fécula de tapioca, mel, farinha de guar e ácido cítrico.

Sobremesa de Frutos — sacarose, maçã, sumo de laranja, alperce, pêssego, banana, fécula de tapioca e sumo de limão.

LISTA 2

Alimentos em boião («Baby Foods») Júnior

VARIEDADES E INGREDIENTES

Variedades com carne, peixe e legumes

Lombo de Vaca — lombo de vaca, fécula de tapioca, sal, farinha de alfarroba, tomilho e louro.

Lombo de Vitela — lombo de vitela, fécula de tapioca, sal, farinha de alfarroba e alho.

Miolos com Béchamel — batata, miolos, sêmola de trigo, farinha de soja desengordurada, fécula de milho, leite, sal, gema de ovo, sumo de limão e cebola.

Pescada com Béchamel — leite, pescada, batata, fécula de tapioca, cebola, gema de ovo, sal, alho e tomilho.

Borrego com Legumes — cenoura, ervilhas, feijão verde, borrego, fécula de tapioca, creme de arroz, salsa, sal, caseína e gelatina.

Fiambre, Vaca, Legumes — leite, fiambre, carne de vaca, cenoura, ervilhas, fécula de tapioca, sal e alho.

Fiambre com Puré — leite, batata e fiambre.

Frango com Arroz — frango, arroz, fécula de tapioca, gema de ovo, sal, caseína e farinha de alfarroba.

Frango, Vitela, Legumes — frango, batata, vitela, cenoura, arroz, fécula de milho modificada, sal, sacarose e ácido cítrico.

Carne de Vaca com Legumes — carne de vaca, tomate, cenoura, batata, fécula de tapioca, espinafres, arroz, cebola, salsa e sal.

Vaca à Jardineira — cenoura, carne de vaca, batata, fécula de tapioca, ervilhas, sal e tomilho.

Vitela com Batata — carne de vitela, batata, tomate, cenoura, fécula de tapioca, arroz, gema de ovo, cebola e sal.

Linguado com Batata — batata, leite, tomate, linguado, fécula de tapioca, sêmola de trigo, gema de ovo, caseína, sal e farinha de alfarroba.

Cenoura, Arroz — cenoura, arroz, tomate, fécula de tapioca, cebola, levedura e sal.

Variedades com frutos

Ananás, Banana — maçã, banana, sacarose, ananás e fécula de tapioca.

Laranja, Banana, Biscoito — sumo de laranja, banana, sacarose, biscoito e fécula de tapioca.

Frutos Variados — sacarose, alperce, pêssego, sumo de laranja, banana, fécula de tapioca, sumo de limão e farinha de guar.

Doce de Laranja — sacarose, farinha de arroz, leite, sumo de laranja e fécula de tapioca.

Sobremesa de Frutos — sacarose, sumo de laranja, alperce, pêssego, maçã, pêra, banana, mel, fécula de tapioca, sumo de limão e farinha de guar.

A maioria dos métodos utilizados encontram-se descritos no «Official Methods of Analysis — A. O. A. C. (12.ª ed.) e em Normas Portuguesas. As técnicas relativas ao doseamento das vitaminas estão indicadas no «Methods of Vitamin Assay» (3.ª ed.), à excepção da vitamina E. Na Tabela da Composição dos Alimentos Portugueses há um resumo, bem explícito, da maior parte das técnicas de análise.

Não obstante alguns dos métodos utilizados constituirem técnicas correntes do Laboratório, não queremos deixar de referir que outras são de difícil execução quer por exigirem grande minúcia e precisão na sua realização, quer ainda por necessitarem de um elevado grau de especialização por parte dos técnicos que as executam dada a utilização de aparelhagem bastante diferenciada — caso da determinação das diferentes vitaminas, em especial da vitamina E e dos elementos minerais.

As determinações analíticas efectuadas iniciaram-se imediatamente após a abertura das amostras devido ao curto período de conservação destes alimentos. Resumem-se a seguir as técnicas de análise utilizadas.

Água — 2 gramas de alimento foram pesados em cápsula de níquel, misturados com certa quantidade de areia devidamente tratada e secos em estufa a 105º C, até peso constante.

Proteína — pelo método de Kjeldahl partindo de 5 gramas de produto. A matéria orgânica foi destruída com ácido sulfúrico utilizando uma mistura catalizadora constituída por selénio, sulfato de potássio e sulfato de cobre.

Para a conversão do azoto total em proteína empregou-se o factor 6,25.

Gordura — por extracção em aparelho de Soxhlet com éter sulfúrico, partindo de 10 gramas de alimento previamente seco em estufa a 105º C.

Hidratos de Carbono:

Hidratos de carbono totais — nas variedades à base de carne, peixe e legumes os glucidos totais foram calculados por diferença.

Nas fórmulas com frutos estes constituintes foram também calculados por diferença embora tenham sido doseados, individualmente, os seus componentes açúcares redutores e sacarose. Nestas amostras fez-se ainda uma pesquisa de mono e dissacaridos por técnica de cromatografia em camada fina.

Açúcares redutores — pela técnica de Walker e Munson, partindo de um extracto aquoso de 5 gramas de alimento previamente defecado com reagente «Carrez».

Sacarose — calculada multiplicando por 0,95 o valor obtido da diferença dos teores dos açúcares redutores determinados antes e depois da inversão.

Amido — em todas as variedades de boiões foi feita a sua pesquisa com solução aquosa de iodo.

Nas fórmulas com carne, peixe e legumes o amido encontra-se incluído na fracção «hidratos de carbona totais» obtida por diferença.

Nas fórmulas com frutos este constituinte está já individualizado embora tenha sido também calculado por diferença.

Celulose — pelo método clássico de Weende partindo de 3 gramas de produto.

Valor energético — é expresso em calorias e foi calculado a partir dos factores clássicos de conversão de Atwater: 1 grama de hidratos de carbono ou proteína correspondem a 4 calorias e 1 grama de gordura a 9 calorias.

Cinzas — 5 gramas da amostra pesadas em cápsula de platina, após eliminação da água por evaporação em banho-maria, foram incineradas, segundo técnica geral de obtenção de cinzas, em mufla a temperatura não excedendo os 550º C.

Cloretos — pelo processo de Charpentier-Volhard utilizando o extracto aquoso de 5 gramas de produto previamente incinerado.

O teor total de cloretos foi expresso em NaCl.

Cálcio — por técnica manganométrica na solução clorídrica das cinzas obtidas de 5 gramas de alimento depois de prévia precipitação, a pH=2,5—3, com oxalato de amónio.

Fósforo — na solução clorídrica das cinzas de 5 gramas de produto, por formação de um complexo amarelo com o reagente nitro-vanado-molíbdico e leitura no espectrofotómetro a 430 m μ.

Ferro, cobre, sódio, potássio, magnésio e zinco — por espectrofotometria de absorção atómica utilizando lâmpadas específicas para cada um dos elementos, na solução clorídrica das cinzas. A toma inicial de amostra foi de 5 gramas, excepto para o doseamento do sódio e potássio em que se partiu de 1 grama de produto.

Iodo — no extracto aquoso das cinzas de 2 gramas de alimento, pela reacção catalítica de redução do sulfato cérico pelo ácido arsenioso em meio ácido e leitura no espectrofotómetro a 490 m μ.

Caroteno — por separação cromatográfica em coluna de óxido de magnésio utilizando como eluente o benzeno e como solvente de extracção o éter de petróleo e leitura directa da cor em espectrofotómetro a 440 m μ.

A toma de amostra foi de 5 gramas.

Vitamina A — na solução clorofórmica do insaponificável obtido de 5 gramas de produto, procedeu-se à reacção de Carr e Price e leitura no espectrofotómetro a 520 m μ.

Vitamina E (α-tocoferol) — a fracção α-tocoferol existente no resíduo de extracção do insaponificável de 30 gramas de alimento foi convenientemente isolada por técnica de cromatografia em camada fina, extraída da placa, tratada com solução de cloreto férrico em presença de α, α' — dipiridil e leitura no espectrofotómetro a 520 m μ.

Vitamina B_1 — pelo método do tiocromo utilizando o extracto aquoso obtido por hidrólise clorídrica de 2,5 gramas de produto e leitura no espectrofluorómetro a 430 m μ.

Vitamina B_2 — por determinação directa da fluorescência antes e depois de redução química, partindo de um extracto igual ao anterior e leitura no espectrofluorómetro a 523 m μ.

Vitamina PP — por reacção com o brometo de cianogénio dando um composto piridínico susceptível de leitura no espectrofotómetro a 450 m μ.

O peso da amostra foi de 5 gramas.

Vitamina C — pela descoloração quantitativa do 2,6 — diclorofenolindofenol, o excesso de cor extraído pelo xilol e leitura no espectrofotómetro a 500 m μ.

Partiu-se de 5 gramas de alimento.

Actividade Hidrogeniónica (pH) — diluiram-se 10 gramas de produto em 10 mililitros de água destilada, homogeneizou-se a mistura e procedeu-se à determinação do pH em «potenciómetro».

Para além das determinações mencionadas fez-se ainda a pesquisa das seguintes substâncias aditivas:

Corantes orgânicos sintéticos — apenas nos boiões em que o alimento apresentava cor mais intensa.

Conservantes (ácidos salicílico, sórbico, benzóico e respectivos sais; ésteres metílico, etílico, propílico e butílico do ácido para-hidroxibenzóico e seus sais de sódio) — em todas as variedades de boiões.

Edulcorantes sintéticos (sacarina, sacarinato de sódio e de cálcio, dulcina e ciclamatos) — apenas nas variedades à base de frutos.

Como técnica de pesquisa utilizou-se a cromatografia em camada fina, sendo a amostra previamente sujeita a um tratamento de extracção, adequado para cada classe de aditivo. O produto extraído é aplicado, em simultâneo, com amostras padrão, em placas cromatográficas preparadas recentemente e posteriormente eluídas. Os suportes utilizados na preparação

das diferentes camadas e os agentes de eluição variaram com a natureza dos aditivos a separar.

A interpretação das placas foi feita, nuns casos, pela sua observação à luz ultra-violeta, e noutros, pela revelação prévia das manchas com reagentes específicos.

Resultados e comentários

Os resultados que figuram nos Quadros 2 a 4 correspondem aos valores médios analíticos expressos por 100 gramas do produto, respeitantes às variedades de «baby foods» analisadas. Em cada Quadro consta a designação comercial das diversas fórmulas alimentares e os constituintes determinados.

Os Quadros 2 e 3 referem os produtos com carne, peixe e legumes, respectivamente «bebé» e «júnior», num total de 28 amostras diferentes; o Quadro 4, constituído por 15 amostras, menciona as variedades com frutos dos dois tipos de boiões.

Os valores médios analíticos relativos a cada amostra correspondem à análise de um conjunto de 10 boiões para o tipo «bebé» e de 6 boiões para o tipo «júnior».

Não obstante os Quadros 2 a 4 mencionarem, como é habitual, a composição relativa a 100 gramas do produto, entendemos ser de grande utilidade referir também essa composição ao conteúdo do boião por ser mais representativo da dose normalmente consumida pela criança. Assim, nos Quadros 5 a 7 figuram os resultados obtidos para as mesmas fórmulas analisadas (Quadros 2 a 4) mas referidos ao conteúdo de um boião; 130 gramas para o tipo «bebé» e 200 gramas para o «júnior».

A apreciação dos resultados e respectivos comentários será feita considerando, principalmente, os Quadros 5 a 7 e tendo em conta as necessidades diárias da criança em calorias e certos nutrientes, necessidades estas que se encontram mencionadas no Quadro 1.

Neste Quadro 1 teve-se a preocupação de citar as recomendações americanas, tantas vezes seguidas no nosso País e, ainda, os valores recomendados pelo Centro de Estudos de Nutrição do I. N. S. A. para grupos de crianças portuguesas de idade idêntica à indicada na tabela americana. Como se pode observar, para o grupo etário até 1 ano, os valores portugueses são bastante semelhantes aos americanos situando-se as diferenças apenas ao nível dos aportes em proteína e cálcio, na idade de 6 meses a 1 ano, em que as necessidades portuguesas são mais elevadas. O aporte em ferro é, por sua vez, sensivelmente metade do valor americano. Para os grupos etários superiores a 1 ano de idade as diferenças entre as duas tabelas são mais acentuadas.

As recomendações que servirão de guia serão as do C. E. N. sendo a tabela americana utilizada apenas para os constituintes omissos na tabela portuguesa.

Pareceu-nos ainda ter interesse calcular para cada um dos 4 agrupamentos que consideramos em função das características da composição das diferentes variedades, o valor calórico médio e a sua distribuição, expressa em percentagem, pelos teores médios dos componentes energéticos em cada grupo. Esses valores figuram no Quadro 8.

Faremos a seguir sobre os resultados obtidos alguns comentários que nos parecem oportunos.

Variedades com carne, peixe e legumes

A análise conjunta dos Quadros 5, 6 e 8 sugere as seguintes considerações relativas a alguns constituintes:

Proteína — Nas variedades à base de carne — «frango, vitela», «vaca», «vitela» e «vitela com fiambre» (bebé) e ainda «lombo de vaca» e «lombo de vitela» (júnior) — um só boião fornece cerca de metade da proteína total necessária à criança. Nas fórmulas «bebé» a proteína fornece, em média, 26 % das calorias totais do produto e nas «júnior» aproximadamente 36 %.

É de notar que a proteína do leite materno é responsável por cerca de 8 % das calorias e a do leite de vaca por 20 %.

As variedades em que a carne ou o peixe vêm já associadas a legumes acusam um teor proteico mais baixo, contribuindo este, em média, nas duas séries, com 20 % das calorias. O conteúdo em proteína destas fórmulas por boião é 4 a 6 vezes inferior ao aporte proteico da criança.

As fórmulas só à base de legumes (bebé e júnior) apresentam, como é normal, um teor bastante baixo neste nutriente, pelo que fornecem apenas 11 % das calorias. Salienta-se ainda que o valor biológico da proteína da grande maioria dos vegetais é bastante baixo, quando comparado com o da proteína do leite ou da carne.

QUADRO 1

NECESSIDADES DA CRIANÇA EM CALORIAS E NUTRIENTES

Recomendações da «Food and Nutrition Board of the National Research Council, U. S. A.» — revisão 1973

GRUPOS DE IDADE (meses e anos)	Peso	Calorias	Proteína	VITAMINAS									MINERAIS					
				Lipossolúveis			Hidrossolúveis											
	kg		g	A U. I.	D U. I.	U. I. E(1)	B_1 mg	B_2 mg	PP mg	C mg	B_6 mg	B_{12} µg	Cálcio mg	Fósforo mg	Ferro mg	Magnésio mg	Zinco mg	Iodo µg
0,0 — 0,5	6	117/kg	2,2/kg	1.400	400	4	0,3	0,4	5	35	0,3	0,3	360	240	10	60	3	35
0,5 — 1,0	9	108/kg	2,0/kg	2.000	400	5	0,5	0,6	8	35	0,4	0,3	540	400	15	70	5	45
1 — 3	13	1.300	23	2.000	400	7	0,7	0,8	9	40	0,6	1,0	800	800	15	150	10	60
4 — 6	20	1.800	30	2.500	400	9	0,9	1,1	12	40	0,9	1,5	800	800	10	200	10	80
7 — 10	30	2.400	36	3.300	400	10	1,2	1,2	16	40	1,2	2,0	800	800	10	250	10	110

(1) Actividade total, correspondendo 80 % a α —tocoferol e 20 % a outros tocoferois.

Recomendações do Centro de Estudos de Nutrição do I. N. S. A. — 1977

GRUPOS DE IDADE (meses e anos)	Calorias	Hidratos de Carbono	Gordura	Proteína	VITAMINAS					MINERAIS	
					A	B_1	B_2	PP	C	Cálcio	Ferro
		g	g	g	U. I.	mg	mg	mg	mg	mg	mg
0,0 — 0,5	700	106	25	12,5	1.500	0,3	0,4	5	35	360	5
0,6 — 1	900	128	30	30	2.000	0,5	0,6	8	35	800	7
1 — 2	1.150	170	35	40	2.000	0,5	0,6	8	35	800	7
3 — 5	1.300	198	36	45	2.500	0,7	0,8	9	40	800	8
6 — 9	1.900	296	53	60	3.200	1,0	1,2	13	55	1.000	10

QUADRO 2

ALIMENTOS EM BOIÃO («BABY FOODS») — BEBÉ

VARIEDADES COM CARNE, PEIXE E LEGUMES

Composição por 100 gramas do produto

PRODUTOS ANALISADOS (Designação Comercial)	Água g	Proteína g	Gordura g	(*) Hidratos de Carbono g	Celulose g	Valor Energético cal.	MINERAIS											VITAMINAS							pH
							Cinza Total g	Cloretos em Na Cl mg	Cálcio mg	Fósforo mg	Ferro mg	Cobre mg	Sódio mg	Potássio mg	Magnésio mg	Zinco µg	Iodo µg	Caroteno µg	A U. I.	E U. I.	B_1 µg	B_2 µg	PP mg	C mg	
Frango	87,9	2,0	1,5	7,1	0,4	50	1,07	537	19	55	0,6	0,03	276	150	6	152	18	—	n.a.	—	19	77	2,5	n.a.	5,1
Frango, Vitela	84,9	5,2	6,9	1,7	0,2	90	1,06	527	18	56	0,7	0,03	276	159	8	750	21	—	n.a.	0,30	20	165	1,5	n.a.	6,2
Vaca	80,0	6,7	6,8	5,0	0,3	108	1,19	605	18	53	1,0	0,03	305	193	7	1.330	22	—	n.a.	0,32	20	140	2,5	n.a.	6,1
Vitela	85,0	5,7	4,6	3,0	0,3	78	1,32	726	15	42	0,7	0,03	302	211	6	1.190	22	—	n.a.	0,33	20	197	2,5	n.a.	6,3
Vitela com Fiambre	82,7	6,5	6,6	2,6	0,2	97	1,40	835	28	61	0,8	0,05	336	112	9	1.150	22	—	n.a.	0,30	15	200	1,5	n.a.	5,8
Pescada com Béchamel	87,6	2,6	1,3	6,8	0,4	49	1,23	598	60	62	0,4	0,02	275	219	6	200	20	—	n.a.	0,22	15	103	1,0	n.a.	5,7
Fiambre, Frango, Legumes...	85,2	5,4	2,2	6,0	0,2	65	1,00	450	27	64	0,4	0,05	200	153	9	290	20	78	n.a.	0,30	14	80	2,5	n.a.	5,8
Fígado, Legumes	86,3	2,9	0,3	9,4	0,4	52	0,68	258	11	65	1,9	0,23	101	214	11	679	19	497	7.500	—	30	572	3,0	n.a.	5,5
Carne de vaca com Legumes	84,4	3,5	3,3	7,4	0,3	73	1,08	515	25	42	1,2	0,06	244	135	10	590	21	310	n.a.	0,36	19	186	1,5	n.a.	5,6
Vaca, Espinafres	87,1	1,5	1,7	8,3	0,3	55	1,09	520	19	28	1,5	0,03	229	127	8	330	17	253	n.a.	0,35	12	99	1,5	n.a.	5,5
Vitela, Legumes	86,6	1,8	1,7	8,5	0,3	57	1,09	630	27	31	1,4	0,05	265	111	7	433	19	215	n.a.	0,32	12	105	1,0	n.a.	5,4
Linguado, Legumes...	88,1	2,3	0,7	7,3	0,4	45	1,06	530	37	52	0,3	0,03	234	120	10	214	19	160	n.a.	0,31	18	174	2,5	n.a.	5,6
Pescada, Legumes	87,6	2,3	1,1	7,4	0,4	49	1,10	403	33	55	0,4	0,04	183	138	11	253	19	118	n.a.	0,27	18	177	1,5	n.a.	6,1
Puré de Legumes	89,2	1,0	0,3	7,6	0,7	37	1,13	620	18	27	0,8	0,08	285	165	10	172	4,0	228	—	0,32	19	145	1,5	n.a.	5,2

(*) Os valores indicados para os hidratos de carbono foram calculados por diferença.

QUADRO 3

ALIMENTOS EM BOIÃO («BABY FOODS») — JÚNIOR

VARIEDADES COM CARNE, PEIXE E LEGUMES

Composição por 100 gramas do produto

PRODUTOS ANALISADOS (Designação Comercial)	Água g	Proteína g	Gordura g	(*) Hidratos de Carbono g	Celulose g	Valor Energético cal.	MINERAIS											VITAMINAS							pH
							Cinza Total g	Cloretos em Na Cl mg	Cálcio mg	Fósforo mg	Ferro mg	Cobre mg	Sódio mg	Potássio mg	Magnésio mg	Zinco µg	Iodo µg	Caroteno µg	A U. I.	E U. I.	B_1 µg	B_2 µg	PP mg	C mg	
Lombo de Vaca	83,5	7,2	4,2	3,9	0,2	82	0,93	385	19	63	1,1	0,04	225	199	4	2.014	23	—	n. a.	0,32	25	161	2,5	n. a.	6,6
Lombo de Vitela	83,9	7,1	3,6	4,3	0,1	78	0,99	470	20	46	1,2	0,05	200	183	3	1.347	22	—	n. a.	0,33	18	187	2,0	n. a.	6,5
Miolos com Béchamel...	84,6	2,9	1,5	9,6	0,2	64	1,19	567	27	88	1,5	0,10	263	212	8	353	21	—	n. a.	0,30	36	185	2,0	n. a.	5,6
Pescada com Béchamel	85,7	2,3	1,4	9,3	0,2	59	1,14	530	50	58	0,3	0,03	250	223	4	281	21	—	n. a.	0,23	11	94	1,5	n. a.	6,0
Borrego com Legumes...	86,2	2,5	0,6	9,2	0,5	52	0,99	430	30	39	0,4	0,04	200	122	11	340	17	200	n. a.	0,24	21	150	1,5	n. a.	5,6
Fiambre, Vaca, Legumes	83,5	4,0	3,4	7,8	0,2	78	1,05	481	36	54	0,7	0,05	232	121	3	358	21	46	n. a.	0,27	20	200	1,5	n. a.	6,2
Fiambre com Puré...	81,8	4,1	4,4	8,4	0,2	90	1,07	479	33	62	0,5	0,02	200	181	10	587	21	—	n. a.	0,15	45	200	1,5	n. a.	6,2
Frango com Arroz	84,7	3,3	2,0	8,7	0,2	66	1,09	563	37	52	0,5	0,05	278	149	4	393	—	—	n. a.	0,24	13	94	1,5	n. a.	5,3
Frango, Vitela, Legumes	84,0	3,3	2,7	8,7	0,1	72	1,12	500	32	69	0,7	0,04	241	194	5	468	19	n. a.	n. a.	0,25	15	207	2,0	n. a.	6,0
Carne de Vaca com Legumes	85,8	3,1	2,0	7,8	0,2	62	1,08	568	14	31	0,3	0,03	268	133	8	576	20	230	n. a.	0,35	15	150	1,5	n. a.	5,8
Vaca à Jardineira	86,4	3,2	3,0	6,0	0,3	64	1,06	580	16	32	0,7	0,05	273	131	4	459	21	—	n. a.	0,30	10	135	1,5	n. a.	5,9
Vitela com Batatas...	84,2	3,3	2,4	8,6	0,3	69	1,19	632	15	46	0,8	0,07	264	173	2	628	18	—	n. a.	0,17	16	134	1,5	n. a.	5,8
Linguado com Batatas	85,7	2,8	0,7	9,4	0,3	55	1,05	455	46	55	0,5	0,03	200	149	10	275	20	—	n. a.	0,19	20	199	1,5	n. a.	5,9
Cenouras, Arroz	86,8	1,3	0,2	10,3	0,3	48	1,01	526	23	38	0,6	0,04	230	174	6	169	—	175	—	0,26	vest.	128	1,8	n. a.	5,4

(*) Os valores indicados para os hidratos de carbono foram calculados por diferença.

QUADRO 4

ALIMENTOS EM BOIÃO («BABY FOODS») — BEBÉ E JÚNIOR

VARIEDADES COM FRUTOS

Composição por 100 gramas do produto

PRODUTOS ANALISADOS (Designação Comercial)	Água g	Proteína g	Gordura g	(*) Hidratos de Carbono g	Celulose g	Valor Energético cal.	MINERAIS									VITAMINAS					pH	OBSERVAÇÕES
							Cinza Total g	Cálcio mg	Fósforo mg	Ferro mg	Cobre mg	Sódio mg	Potássio mg	Magnésio mg	Zinco µg	Caroteno µg	B_1 µg	B_2 µg	PP mg	C mg		
BEBÉ																						
Alperce, Maçã	70,5	0,3	0,2	28,2	0,4	116	0,32	11	9	0,5	0,04	13	129	5	45	n. a.	n. a.	125	2,0	10	3,8	Ac. red. 18,8; Sac. 3,1; Amido 6,3
Ananás, Banana	70,7	0,3	0,2	28,1	0,3	115	0,35	4	5	1,3	0,03	12	93	9	60	n. a.	13	140	1,5	n. a.	4,1	Ác. red. 15,0; Sac. 8,0; Amido 5,1
Ananás, Pêssego	68,3	0,3	0,4	30,1	0,5	125	0,36	7	11	1,2	0,04	14	93	4	42	n. a.	n. a.	130	1,5	n. a.	4,0	Ác. red. 17,6; Sac. 8,6; Amido 3,9
Banana, Maçã	69,5	0,4	0,3	28,8	0,6	120	0,33	6	7	0,4	0,03	8	121	7	50	n. a.	8	155	1,5	vest.	4,3	Ac. red. 16,3; Sac. 9,3; Amido 3,2
Laranja, Banana	73,0	0,6	0,6	25,3	0,3	107	0,17	4	10	0,2	0,02	34	54	4	58	n. a.	n. a.	95	1,5	vest.	4,6	Ac. red. 7,0; Sac. 13,3; Amido 5,0
Laranja, Banana, Biscoito	70,6	0,8	1,1	26,8	0,4	120	0,23	14	14	0,3	0,03	30	55	6	107	n. a.	n. a.	160	1,5	10	4,3	Ac. red. 10,0; Sac. 10,7; Amido 6,1
Maçã com Mel...	69,7	0,2	0,3	29,0	0,5	120	0,27	5	9	0,6	0,03	11	96	4	51	n. a.	9	140	1,5	14	4,2	Ac. red. 14,9; Sac. 9,9; Amido 4,2
Marmelo, Maçã	65,5	0,3	0,4	32,6	0,9	135	0,30	12	8	0,4	0,04	11	131	6	45	n. a.	14	200	1,5	75	3,9	Ac. red. 25,7; Sac. 3,2; Amido 3,7
Pêras com Mel...	69,7	0,2	0,5	28,7	0,6	120	0,23	10	9	0,5	0,06	12	91	4	120	n. a.	n. a.	100	1,5	n. a.	4,1	Ac. red. 15,6; Sac. 5,8; Amido 7,3
Sobremesa de Frutos	67,7	0,3	0,3	31,0	0,3	128	0,32	7	7	0,7	0,05	17	120	6	55	n. a.	6	114	1,5	n. a.	3,9	Ac. red. 19,8; Sac. 6,7; Amido 4,5
JÚNIOR																						
Ananás, Banana	73,3	0,3	0,2	25,6	0,3	105	0,24	7	6	1,2	0,03	16	94	2	60	n. a.	16	110	1,5	n. a.	4,7	Ac. red. 10,4; Sac. 10,4; Amido 4,8
Laranja, Banana, Biscoito	69,6	1,1	0,7	27,8	0,5	122	0,29	13	14	0,2	0,03	31	59	2	125	n. a.	10	200	1,5	n. a.	4,5	Ac. red. 12,5; Sac. 6,6; Amido 8,7
Frutos Variados	63,4	0,4	0,3	35,2	0,3	145	0,39	0,4	9	0,9	0,04	13	96	7	74	n. a.	n. a.	119	1,5	n. a.	3,7	Ac. red. 27,6; Sac. 3,3; Amido 4,3
Doce de Laranja	68,3	0,6	0,3	30,4	0,2	127	0,18	19	29	0,2	0,03	14	56	5	143	n. a.	n. a.	79	1,5	n. a.	5,2	Ac. red. 5,0; Sac. 18,0; Amido 7,4
Sobremesa de Frutos	63,3	0,4	0,3	35,0	0,6	144	0,36	6	11	0,8	0,06	16	96	6	93	n. a.	vest.	120	1,5	n. a.	3,8	Ac. red. 27,7; Sac. 2,8; Amido 4,5

(*) Os valores indicados para os hidratos de carbono referem-se aos mono e dissacaridos e ao amido. Na coluna das observações figuram, separadamente, os teores em açúcares redutores, em sacarose e em amido, tendo este sido calculado por diferença.

QUADRO 5

ALIMENTOS EM BOIÃO («BABY FOODS») — BEBÉ

VARIEDADES COM CARNE, PEIXE E LEGUMES

Composição por boião — 200 gramas

PRODUTOS ANALISADOS (Designação Comercial)	Água g	Proteína g	Gordura g	Hidratos de Carbono g	Celulose g	Valor Energético cal.	MINERAIS											VITAMINAS							pH
							Cinza Total g	Cloretos em Na Cl mg	Cálcio mg	Fósforo mg	Ferro mg	Cobre mg	Sódio mg	Potássio mg	Magnésio mg	Zinco µg	Iodo µg	Caroteno µg	A U. I.	E U. I.	B_1 µg	B_2 µg	PP mg	C mg	
Frango	114,3	2,6	1,9	9,3	0,5	65	1,39	698	25	72	0,8	0,04	359	195	8	198	23	—	n. a.	—	25	100	3,3	n. a.	5,1
Frango, Vitela	110,4	6,8	9,0	2,1	0,3	117	1,38	685	23	73	0,9	0,04	359	207	10	975	27	—	n. a.	0,39	26	215	2,0	n. a.	6,2
Vaca	104,0	8,7	8,8	6,5	0,4	140	1,55	787	23	69	1,3	0,04	397	251	9	1.729	29	—	n. a.	0,42	26	182	3,3	n. a.	6,1
Vitela	110,5	7,4	6,0	3,9	0,4	99	1,72	944	20	55	0,9	0,04	393	274	8	1.547	29	—	n. a.	0,43	26	256	3,3	n. a.	6,3
Vitela com Fiambre	107,5	8,4	8,6	3,4	0,3	125	1,80	1.086	36	79	1,0	0,07	437	146	12	1.495	29	—	n. a.	0,39	20	260	2,0	n. a.	5,8
Pescada com Béchamel	113,9	3,3	1,7	9,0	0,5	65	1,60	777	78	81	0,5	0,03	358	285	8	260	26	—	n. a.	0,29	20	134	1,3	n. a.	5,7
Fiambre, Frango, Legumes...	110,8	7,0	2,8	7,8	0,3	85	1,30	585	35	83	0,5	0,07	260	199	12	377	26	101	n. a.	0,39	18	104	3,3	n. a.	5,8
Fígado, Legumes	112,2	3,8	0,4	12,2	0,5	68	0,88	335	14	85	2,5	0,30	131	278	14	883	25	646	9.750	—	39	744	3,9	n. a.	5,5
Carne de Vaca com Legumes	109,7	4,6	4,3	9,6	0,4	96	1,40	670	33	55	1,6	0,08	317	176	13	767	27	403	n. a.	0,47	25	242	2,0	n. a.	5,6
Vaca, Espinafres	113,2	2,0	2,2	10,8	0,4	71	1,40	676	25	36	2,0	0,04	298	165	10	429	22	329	n. a.	0,46	16	129	2,0	n. a.	5,5
Vitela, Legumes	112,6	2,3	2,2	11,1	0,4	73	1,40	819	35	40	1,8	0,07	345	144	9	563	25	280	n. a.	0,42	16	137	1,3	n. a.	5,4
Linguado, Legumes...	114,5	3,0	0,9	9,7	0,5	59	1,38	689	48	68	0,4	0,04	304	156	13	278	25	208	n. a.	0,40	23	226	3,3	n. a.	5,6
Pescada, Legumes	113,9	3,0	1,4	9,7	0,5	63	1,43	524	43	72	0,5	0,05	238	179	14	329	25	153	n. a.	0,35	23	230	2,0	n. a.	6,1
Puré de Legumes	116,0	1,3	0,4	9,9	0,9	48	1,47	806	23	35	1,0	0,10	371	215	13	224	5,2	296	—	0,42	25	189	2,0	n. a.	5,2

QUADRO 6

ALIMENTOS EM BOIÃO («BABY FOODS») — JÚNIOR

VARIEDADES COM CARNE, PEIXE E LEGUMES

Composição por boião — 200 gramas

PRODUTOS ANALISADOS (Designação Comercial)	Água g	Proteína g	Gordura g	Hidratos de Carbono g	Celulose g	Valor Energético cal.	MINERAIS											VITAMINAS							pH
							Cinza Total g	Cloretos em Na Cl mg	Cálcio mg	Fósforo mg	Ferro mg	Cobre mg	Sódio mg	Potássio mg	Magnésio mg	Zinco µg	Iodo µg	Caroteno µg	A U. I.	E U. I.	B_1 µg	B_2 µg	PP mg	C mg	
Lombo de Vaca	167,0	14,4	8,4	7,9	0,4	165	1,86	770	38	126	2,2	0,08	450	398	8	4.028	46	—	n. a.	0,64	50	322	5,0	n. a.	6,6
Lombo de Vitela	167,8	14,2	7,2	8,6	0,2	156	1,98	940	40	92	2,4	0,10	400	366	6	2.694	44	—	n. a.	0,66	36	374	4,0	n. a.	6,5
Miolos com Béchamel...	169,2	5,8	3,0	19,2	0,4	127	2,38	1.134	54	176	3,0	0,20	526	424	16	706	42	—	n. a.	0,60	72	370	4,0	n. a.	5,6
Pescada com Béchamel	171,4	4,6	2,8	18,5	0,4	118	2,28	1.060	100	116	0,6	0,06	500	446	8	562	42	—	n. a.	0,46	22	188	3,0	n. a.	6,0
Borrego com Legumes	172,4	5,0	1,2	18,4	1,0	104	1,98	860	60	78	0,8	0,08	400	244	22	680	34	400	n. a.	0,48	42	300	3,0	n. a.	5,6
Fiambre, Vaca, Legumes	167,0	8,0	6,8	15,7	0,4	156	2,10	962	72	108	1,4	0,10	464	242	6	716	42	92	n. a.	0,54	40	400	3,0	n. a.	6,2
Fiambre com Puré...	163,6	8,2	8,8	16,8	0,4	179	2,14	958	66	124	1,0	0,04	400	362	20	1.174	42	—	n. a.	0,30	90	400	3,0	n. a.	6,2
Frango com Arroz	169,4	6,6	4,0	17,4	0,4	132	2,18	1.126	74	104	1,0	0,10	556	298	8	786	—	—	n. a.	0,48	26	188	3,0	n. a.	5,3
Frango, Vitela, Legumes	168,0	6,6	5,4	17,5	0,2	145	2,24	1.000	64	138	1,4	0,08	482	388	10	936	38	n. a.	n. a.	0,50	30	414	4,0	n. a.	6,0
Carne de Vaca com Legumes	171,6	6,2	4,0	15,6	0,4	123	2,16	1.136	28	62	0,6	0,06	536	266	16	1.152	40	460	n. a.	0,70	30	300	3,0	n. a.	5,8
Vaca à Jardineira	172,8	6,4	6,0	12,0	0,6	128	2,12	1.160	32	64	1,4	0,10	546	262	8	918	42	—	n. a.	0,60	20	270	3,0	n. a.	5,9
Vitela com Batatas...	168,4	6,6	4,8	17,2	0,6	138	2,38	1.264	30	92	1,6	0,14	528	346	4	1.256	36	—	n. a.	0,34	32	268	3,0	n. a.	5,8
Linguado com Batatas	171,4	5,6	1,4	18,9	0,6	111	2,10	910	92	110	1,0	0,06	400	298	20	550	40	—	n. a.	0,38	40	398	3,0	n. a.	5,9
Cenouras, Arroz	173,6	2,6	0,4	20,7	0,6	97	2,02	1.052	46	76	1,2	0,08	460	348	12	338	—	350	—	0,52	vest.	256	3,6	n. a.	5,4

QUADRO 7

ALIMENTOS EM BOIÃO («BABY FOODS») — BEBÉ E JÚNIOR

VARIEDADES COM FRUTOS

Composição por boião — 130 gramas (bebé) e 200 gramas (júnior)

PRODUTOS ANALISADOS (Designação Comercial)	Água g	Proteína g	Gordura g	(*) Hidratos de Carbono g	Celulose g	Valor Energético cal.	MINERAIS									VITAMINAS					pH	OBSERVAÇÕES
							Cinza Total g	Cálcio mg	Fósforo mg	Ferro mg	Cobre mg	Sódio mg	Potássio mg	Magnésio mg	Zinco µg	Caroteno µg	B_1 µg	B_2 µg	PP mg	C mg		
BEBÉ																						
Alperce, Maçã	91,7	0,4	0,3	36,6	0,5	151	0,42	14	12	0,7	0,05	17	168	7	59	n. a.	n. a.	163	2,6	13	3,8	Ac. red. 24,4; Sac. 4,0; Amido 8,2
Ananás, Banana	91,9	0,4	0,3	36,5	0,4	150	0,46	5	6,5	1,7	0,04	16	121	12	78	n. a.	17	182	2,0	n. a.	4,1	Ac. red. 19,5; Sac. 10,4; Amido 6,6
Ananás, Pêssego	88,8	0,4	0,5	39,1	0,7	163	0,47	9	14	1,6	0,05	18	121	5	55	n. a.	n. a.	169	2,0	n. a.	4,0	Ac. red. 22,9; Sac. 11,2; Amido 5,0
Banana, Maçã	90,4	0,5	0,4	37,4	0,8	155	0,43	8	9	0,5	0,04	10	157	9	65	n. a.	10	202	2,0	vest.	4,3	Ac. red. 21,2; Sac. 12,1; Amido 4,1
Laranja, Banana	94,9	0,8	0,8	32,8	0,4	142	0,22	5	13	0,3	0,03	44	70	5	75	n. a.	n. a.	124	2,0	vest.	4,6	Ac. red. 9,1; Sac. 17,3; Amido 6,4
Laranja, Banana, Biscoito	91,8	1,0	1,4	34,8	0,5	156	0,30	18	18	0,4	0,04	39	72	8	139	n. a.	n. a.	208	2,0	13	4,3	Ac. red. 13,0; Sac. 13,9; Amido 7,9
Maçã com Mel...	90,6	0,3	0,4	37,7	0,6	156	0,35	7	12	0,8	0,04	14	125	5	66	n. a.	12	182	2,0	18	4,2	Ac. red. 19,4; Sac. 12,9; Amido 5,4
Marmelo, Maçã	85,2	0,4	0,5	42,3	1,2	175	0,39	16	10	0,5	0,05	14	170	8	59	n. a.	18	260	2,0	98	3,9	Ac. red. 33,4; Sac. 4,1; Amido 4,8
Pêras com Mel...	90,6	0,3	0,7	37,3	0,8	157	0,30	13	12	0,7	0,08	16	118	5	156	n. a.	n. a.	130	2,0	n. a.	4,1	Ac. red. 20,3; Sac. 7,5; Amido 9,5
Sobremesa de Frutos	88,0	0,4	0,4	40,3	0,4	166	0,42	9	9	0,9	0,07	22	156	8	72	n. a.	8	148	2,0	n. a.	3,9	Ac. red. 25,7; Sac. 8,7; Amido 5,9
JÚNIOR																						
Ananás, Banana	146,6	0,6	0,4	51,3	0,6	211	0,48	14	12	2,4	0,06	32	188	4	120	n. a.	32	220	3,0	n. a.	4,7	Ac. red. 20,8; Sac. 20,8; Amido 9,7
Laranja, Banana, Biscoito	139,2	2,2	1,4	55,6	1,0	244	0,58	26	28	0,4	0,06	62	118	4	250	n. a.	20	400	3,0	n. a.	4,5	Ac. red. 25,0; Sac. 13,2; Amido 17,4
Frutos Variados	126,8	0,8	0,6	70,4	0,6	290	0,78	0,8	18	1,8	0,08	26	192	14	148	n. a.	n. a.	238	3,0	n. a.	3,7	Ac. red. 55,2; Sac. 6,6; Amido 8,6
Doce de Laranja	136,6	1,2	0,6	60,8	0,4	253	0,36	38	58	0,4	0,06	28	112	10	286	n. a.	n. a.	158	3,0	n. a.	5,2	Ac. red. 10,0; Sac. 36,0; Amido 14,8
Sobremesa de Frutos	126,6	0,8	0,6	70,0	1,2	289	0,72	12	22	1,6	0,12	32	192	12	186	n. a.	vest.	240	3,0	n. a.	3,8	Ac. red. 55,4; Sac. 5,6; Amido 9,0

(*) Os valores indicados para os hidratos de carbono referem-se aos mono e dissacaridos e ao amido. Na coluna das observações figuram, separadamente, os teores em açúcares redutores, em sacarose e em amido, tendo este sido calculado por diferença.

Gordura — Dum modo geral as fórmulas revelam um baixo conteúdo em gordura e apenas as variedades em que o constituinte principal é a carne apresentam teores mais elevados. Neste caso verifica-se que cerca de 61 % das calorias das variedades «bebé» e 44 % das «júnior» provêm da matéria gorda. O teor total deste nutriente fornecido por boião e referente às duas séries é, sensivelmente, de um terço e de um quarto das necessidades diárias da criança.

Nas fórmulas em que a carne ou o peixe se encontram associados a legumes a gordura é responsável por cerca de 25 % e 30 % das calorias totais, respectivamente, nas variedades «bebé» e «júnior».

Nos produtos só à base de legumes a matéria gorda é extremamente baixa, originando menos de 10 % das calorias.

A constituição de todas estas fórmulas sugere ainda que o seu conteúdo em ácidos gordos essenciais deve ser pequeno dado apresentarem, em geral, um baixo teor em gordura não sendo esta, certamente, do tipo poli-insaturado.

Hidratos de carbono — São particularmente o açúcar e os amidos, sendo estes últimos provenientes quer dos diversos ingredientes normalmente ricos neste constituinte — arroz, batata, farinha de trigo, etc. — quer sejam adicionados às fórmulas com fins tecnológicos e designados por amidos modificados, normalmente de tapioca e de milho.

Dum modo geral todas as variedades apresentam um teor de glúcidos dentro dos limites que se consideram normais para estes tipos de fórmulas, à excepção das variedades «frango, vitela», «vitela» e «vitela com fiambre» (bebé) em que o conteúdo em hidratos de carbono nos parece demasiado baixo. Neste caso o teor glucídico fornece apenas cerca de 13 % das calorias totais enquanto que nas fórmulas «júnior» de tipo idêntico a contribuição dos hidratos de carbono é de 20 %.

Nas restantes fórmulas a percentagem de calorias obtidas a partir destes nutrientes é sensivelmente de 55 % na série «bebé» e de 51 % na «júnior», exceptuando-se as variedades só com legumes em que essa percentagem é superior a 80 %.

Valor energético — Os valores obtidos encontram-se também dentro dos limites considerados normais para as diferentes fórmulas.

Sabendo que o leite fornece cerca de 65 calorias por 100 gramas, ao analisar o Quadro 2 verifica-se que, apenas as amostras com elevado conteúdo em carne apresentam um total calórico superior ao do leite, revelando as restantes fórmulas níveis um pouco mais baixos. Quanto às amostras que figuram no Quadro 3, todas elas apresentam valores calóricos da mesma ordem de grandeza do leite ou ligeiramente superiores.

Nas variedades à base de legumes de ambas as séries o conteúdo em calorias é muito baixo.

Constituintes minerais — Dum modo geral o conteúdo mineral das diferentes fórmulas é baixo. A observação conjunta dos Quadros 5 e 6 sugere, porém, os seguintes comentários.

— O teor de fósforo verifica-se ser sempre mais elevado que o de cálcio. Situação inversa se verifica no leite em que a relação Ca/P é, aproximadamente, 1,5.

Na série «bebé» o teor de cálcio varia entre os valores 14 e 78 e o de fósforo entre 35 e 85. As variedades com peixe são as que revelam maior conteúdo em cálcio e a fórmula com fígado a que apresenta teor mais elevado em fósforo.

Na série «júnior» os valores do cálcio estão compreendidos entre 28 e 100 e os do fósforo entre 62 e 176 revelando, do mesmo modo, as fórmulas com peixe maior conteúdo em cálcio e a variedade contendo miolos maior teor em fósforo.

Comparando os valores citados com as necessidades diárias da criança nestes dois constituintes contata-se que a contribuição de cada boião nos dois elementos é bastante baixa.

— No que respeita ao ferro os seus teores variam, na série «bebé» de 0,4 a 2,5 miligramas pertencendo o valor mais elevado à fórmula com fígado; na série «júnior» os valores vão de 0,6 a 3,0 miligramas correspondendo o teor mais alto à variedade que contém miolos.

Dum modo geral estas duas séries de boiões apresentam, em média, respectivamente 1,0 miligrama e 1,4 miligrammas de ferro por embalagem o que corresponde, aproximadamente, à décima parte das necessidades diárias da criança neste elemento mineral.

— Quase todas as fórmulas apresentam um elevado conteúdo em sódio, ultrapassando este o valor máximo recomendado pela Comis-

são do Codex Alimentarius da FAO/OMS — 200 miligramas por 100 gramas de produto.

Assim, nos Quadros 2 e 3 pode observar-se que apenas três variedades da série «bebé» («fiambre, frango, legumes», «fígado, legumes» e «pescada, legumes») apresentam teores de sódio dentro do limite acima indicado, enquanto que na série «júnior» só quatro fórmulas contêm este elemento mineral em teor igual ao máximo referido («lombo de vitela», «borrego com legumes», «fiambre com puré» e «linguado com batatas»).

O conteúdo elevado em sódio de quase todas as fórmulas provem do excesso de sal adicionado a estes alimentos o que se vai também reflectir no teor das cinzas que aparece aumentado.

— A quantidade de magnésio nas duas séries é bastante semelhante apresentando-se, porém, em níveis baixos quando comparados com as necessidades da criança neste constituinte.

— O zinco aparece nas duas séries com valores relativamente altos, embora bastante variáveis. Destacam-se as fórmulas com elevado conteúdo em carne nas quais este elemento mineral atinge níveis altos, da ordem média de 1,5 miligramas na série «bebé» e de 3,5 miligramas na «júnior» o que permite cobrir, com este tipo de fórmulas, mais de metade das necessidades diárias da criança neste elemento.

— A quantidade de iodo existente em todas estas variedades de boiões é relativamente elevada, satisfazendo as fórmulas «bebé» mais de metade das necessidades da criança e as «júnior» a sua totalidade.

Constituem excepção as fórmulas só à base de legumes em que o teor de iodo é baixo.

Constituintes vitamínicos — O conteúdo em caroteno das fórmulas analisadas é bastante baixo.

Nenhuma das variedades acusa vitamina A, à excepção da amostra «fígado, legumes» (bebé) que apresenta um teor muito elevado.

As quantidades de vitamina E e vitamina B_1 são extremamente baixas enquanto que o teor de vitamina B_2, em muitas das fórmulas, cobre já cerca de metade das necessidades diárias. Esta vitamina apresenta-se, também, em alto teor na amostra contendo fígado.

No que respeita à vitamina PP, o seu conteúdo em quase todas as fórmulas corresponde a cerca de metade das necessidades diárias da criança.

Variedades com frutos

Os resultados que figuram nos Quadros 4, 7 e 8 mostram que as fórmulas com frutos apresentam, como é normal, um conteúdo muito baixo em proteína e gordura e um teor elevado em hidratos de carbono, principal fonte de calorias (96 %) destes alimentos.

Em todas as fórmulas esta fracção glucídica é constituída por um teor relativamente elevado de açúcares redutores, por sacarose em quantidade mais baixa e variável, à excepção das fórmulas «laranja, banana» (bebé) e «doce de laranja» (júnior) em que o seu teor é superior ao dos açúcares redutores, e por amido, fracção esta obtida por diferença.

Este último constituinte embora não tenha sido doseado, foi pesquisado em todas as variedades de boiões, tendo sido sempre confirmada a sua presença.

A pesquisa de mono e dissacaridos efectuada só nas fórmulas com frutas, revelou que todas elas continham glucose, frutose e sacarose.

Os alimentos à base de frutos apresentam ainda um teor mineral muito baixo a que corresponde um conteúdo em cinzas também pequeno. O baixo teor em sódio que estas fórmulas revelam indica que não se encontram adicionadas de sal, sendo os próprios frutos e restantes ingredientes os responsáveis pela presença deste elemento mineral.

O teor vitamínico é igualmente baixo, revelando as fórmulas adicionadas de vitamina C quantidades vestigiais ou pequenos teores desta vitamina, à excepção da variedade «marmelo, maçã» que acusa já um teor elevado.

Em todas as variedades com frutos foi feita ainda a pesquisa de edulcorantes de síntese, tendo esta resultado sempre negativa.

A pesquisa dos agentes conservantes já mencionados efectuada em todas as variedades analisadas foi negativa, sendo também negativa a pesquisa de corantes orgânicos sintéticos realizada apenas nas fórmulas de cor mais intensa.

Conclusão

Os alimentos em boião são produtos cómodos por serem fáceis de ministrar, conser-

var e transportar, encontrando-se ao alcance de quase todas as mães.

Tecnologicamente são alimentos bem fabricados e de boa qualidade higiénica muito embora, sob o ponto de vista nutricional, não assegurem, por si só, convenientemente as necessidade da criança. Não devem, portanto, constituir a sua principal fonte alimentar mas, quando escolhidos com critério, podem contribuir para o equilíbrio da dieta.

As propriedades nutritivas e de paladar dos alimentos confeccionados em casa são-lhes superior mas, desde que à mãe não seja viável proceder à preparação de todas as refeições do seu filho, a sua substituição parcial pelos alimentos em boião é correcta se a mãe souber escolher as variedades a ministrar de modo a que o equilíbrio das necessidades diárias da criança não fique comprometido. Deve-se ter ainda em conta que a criança mantém integrada na sua alimentação o leite, alimento valioso que em muito contribui para aquele equilíbrio.

Todos os «baby foods» analisados revelaram uma composição normal para os seus diferentes tipos. Os teores em proteína de quase todas as fórmulas é um pouco baixo sendo o conteúdo em gordura bastante pequeno. As fórmulas em que este nutriente aparece em percentagem mais elevada correspondem àquelas em que o nível proteico é, também, mais alto. O conteúdo em hidratos de carbono, embora um pouco elevado, pode servir para equilibrar a dieta em calorias. O teor mineral e vitamínico é baixo. Especial atenção merece no entanto o conteúdo em sódio que se revelou excessivamente alto em quase todas as fórmulas. A firma Alter, fabricante dos boiões da marca analisada, está consciente deste problema encontrando-se já a proceder à rectificação da quantidade de sal adicionada a estes produtos, prevendo até, a hipótese de este ingrediente vir a ser totalmente retirado da marca NUTRIBEN. A firma informou-nos ainda que algumas rectificações relativas à composição destes alimentos estão igualmente a ser consideradas, tendo sido já solicitado ao Laboratório de Nutrição e Higiene dos Alimentos a sua intervenção no estudo das futuras fórmulas rectificadas.

Todas as amostras analisadas revelaram bom estado de conservação e valores de pH normais.

Não queremos, no entanto, deixar de salientar que nem sempre a composição quantitativa constante do rótulo das embalagens condizia com a obtida no Laboratório, apresentando esta, normalmente, valores mais baixos do que os declarados.

Agradecimento

Queremos expressar os nossos melhores agradecimentos a todas as pessoas do Laboratório que intervieram na realização prática deste trabalho e salientar que estamos muito gratos aos técnicos licenciados que, com a sua colaboração atenta e responsável, permitiram ultrapassar, com eficiência, alguns problemas de ordem técnica surgidos.

Os nossos agradecimentos são ainda extensivos à Sr.ª Dr.ª Maria Esnestina da Silva Graça pela revisão crítica do presente trabalho.

BIBLIOGRAFIA

ANDERSON, T. A. — Commercial infant Foods: Content and Composition. Pediatric Clinics of North America, 24 (1), 37-47, 1977.

Comittee on Nutrition — Commentary on Breast-Feeding and Infant Formulas, Including Proposed Standards for Formulas. Pediatrics, 57 (2), 278-285, 1976.

SAMUEL J. FOMOM, M. D. — What Are Infants Fed in the United States? Pediatrics, 56 (3) ,350-354, 1975.

FOMOM, S. J. — Infant Nutrition, W. B. Saunders Co., 2.ª ed., Philadelphia, 1974.

Are Baby Foods Good Enough for Babies? Consumer Reports, 40: 528-532, 1975.

MARGARET CAMERON e YNGVE HOFVANDER — Manual on Feeding Infants and Young Children. PAG Document 1. 14/26, FAO/OMS, 1971.

PAUFIQUE, J. — Industrie des Aliments de l'Enfance. Cahiers de Nutrition et de Diététique, X (3), 67-68, 1975.

Normes Internationales Recommandées Pour les Aliments Destinés aux Nourrissons et Enfants en Bas Âge. Commission du Codex Alimentarius FAO/OMS, CAC/ /RS 72/74 — 1976.

RAYMOND A. DEHOVE — La Réglementation des Produits Alimentaires et Autres; Qualité et Répression des Fraudes. Commerce Editions, 9.ª ed., Paris, 1978.

SPECIAL REPORT — FAO/WHO Handbook on Human Nutritional Requirements, 1974. Nutrition Review, 33 (5), 147-151, 1975.

Nestlé Researche News, 1974/75.

GOUSSAULT, B.; LUQUET, F. M. e GAGNEPAIN, M. F. — Étude Expérimentale de l'Incidence des Rayons U. V. sur les Éléments Nutritionnels des «Baby-Food» selon la Nature du Conditionnement: Verre Blanc-Verre Brun. L'Alimentation et la Vie, 65 (3), 255-266, 1977.

CAUSERET, J. — Besoins Vitaminiques et Minéraux et Définition Nutritionnelle des Aliments. Cahiers de Nutrition et de Diététique, IX (3), 181-189, 1974.

CLARK M. KERR, Jr.; KEITH S. REISINGER, M. D.; M. P. H. e F. W. PLANKEY, PH. D. — Sodium Concentration of Homemade Baby Foods. Pediatrics, 62 (3), 331-335, 1978.

GEORGE R. MENEELY, M. D. e HAROLDD. BATTARBEE, PH. D. — Sodium and Potassium. Nutrition Reviews, 34 (8), 225-325, 1976.

The Subcommittee on Safety and Suitability of MSG and Other Substances in Baby Foods of the Food Protection Committee, Food and Nutrition Board, NAS--NRC — Salt in Infant Foods. Nutrition Reviews, 29 (2), 27-30, 1971.

TORELLÓ LLOPART, M. D. e BOATELLA RIERA, J. — La Relacion Vitamina E — Acidos Grasos Poliinsaturados en Alimentos Destinados a la Poblacion Infantil. Anal. Bromatol. XXIX (1), 1-12, 1977.

WATERS, R. D.; KESTERSON, J. W. e BRADDOCK, R. J. — Method for Determining the α - Tocopherol Content of Citrus Essencial Oils. Journal of Food Science, 41: 370-371, 1976.

STANLEY, R. A. — Determination of Vitamin E in Food and Feeds — A Collaborative Study. Journal of the A. O. A. C., 54: 1-12, 1971.

GONÇALVES FERREIRA, F. A. e LUCINDA MANO, M. — Iodo e Alimentação — Contribuição Para o Estudo das Principais Fontes Alimentares e das Necessidades Humanas de Iodo Estável. Arquivos do Instituto Nacional de Saúde, vol. 1, 97-119, 1972.

Official Methods of Analysis — A. O. A. C. Association of Official Analytical Chemists, 11.ª e 12.ª ed., Washington, 1970 e 1975.

Normas Portuguesas.

Methods of Vitamin Assay. The Association of Vitamin Chemists, Inc. Interscience, 3.ª ed., London, 1966.

ABREVIATURAS E SINAIS EMPREGADOS NOS QUADROS 2 A 7

Cal.	— Calorias
g	— Grama
mg	— Miligrama
µg	— Micrograma
U. I.	— Unidade internacional
Vest.	— Vestígios
n. a.	— Não acusa
—	— Indica que não se efectuou a determinação

A N E X O

NORMA PARA OS ALIMENTOS DIVERSIFICADOS DA INFÂNCIA — («BABY FOODS»)

1. Campo de aplicação

1.1. Os alimentos diversificados da infância («boiões» ou «baby foods») são alimentos destinados essencialmente a ser utilizados durante o período de desmame normal do lactente e também para adaptação progressiva dos lactentes e crianças de pouca idade ao regime alimentar normal. Podem apresentar-se quer prontos para consumo, quer desidratados com vista a serem reconstituídos com água ou outro líquido apropriado.

Não estão incluídos nesta norma nem os produtos dietéticos à base de leite destinados à alimentação de lactentes privados de aleitamento materno, nem os alimentos à base de cereais, que foram incluídos em normas próprias anteriores.

1.2. Os alimentos diversificados da infância que se apresentam prontos para consumo são submetidos a um tratamento térmico antes ou depois de acondicionados em recipientes herméticos, e os alimentos diversificados da infância desidratados são preparados por meios físicos, de maneira a impedir qualquer deterioração, num e noutro caso.

2. Factores essenciais de composição e de qualidade

2.1. *Composição*

2.1.1. Os alimentos diversificados da infância são produtos preparados a partir de qualquer substância nutritiva apropriada utilizada, reconhecida ou habitualmente vendida como artigo ou ingrediente alimentício, incluindo as especiarias.

2.1.2. A adição de vitaminas e sais minerais deve ser conforme a legislação nacional.

2.1.3. O teor total em sódio do produto não deve ultrapassar 200 mg de sódio por 100 g de produto pronto para consumo, preparado conforme o modo de emprego.

Não é autorizada a junção de sal (NaCL) aos produtos contendo frutos e aos produtos para sobremesa à base de frutos.

2.2. *Consistência e granulometria*

2.2.1. Os alimentos diversificados da infância prontos para consumo têm uma consistência homogénea ou estão reduzidos a finas partículas como se indica:

a) *Puré* — produto reduzido a pequenas partículas de dimensões mais ou menos uniformes, que não necessita de mastigação antes de ser deglutido.

b) *Júnior* — o produto contém predominantemente partículas de dimensões que exigem e favorecem a mastigação.

2.2.2. Os alimentos diversificados da infância desidratados têm, depois de reconstituídos com água ou com outro líquido apropriado, uma consistência e uma granulometria semelhante à dos alimentos de tipo «puré» ou «júnior» definidos na alínea 2.2.1.

2.3. *Requisitos de pureza*

Todos os ingredientes, incluindo os facultativos, devem estar isentos de substâncias estranhas, serem inócuos, eliminando-se o excesso de fibra quando necessário.

Os ingredientes provenientes de peixes, carnes ou aves, devem ser praticamente isentos de esquírolas ósseas ou espinhas.

2.4. *Proibição específica*

Os produtos ou os seus componentes não devem ser tratados com radiações ionizantes.

3 Aditivos alimentares

Na preparação dos alimentos enlatados para lactentes são permitidos os seguintes aditivos

dentro dos limites que se estabelecem a seguir:

3.1. *Agentes espessantes*

	Dose máxima em 100 g de produto pronto para consumo
3.1.1. Goma de alfarroba	0,2 g
3.1.2. Diamido — fosfato 3.1.3. Diamido — fosfato — acetilado 3.1.4. Diamido — fosfato — fosfatado 3.1.5. Hidroxipropil amido 3.1.6. Adipato de diamido — acetilado	6 g, só ou combinados
3.1.7. Pectina não amidada	1 g, somente para alimentos diversificados à base de fruta

3.2. *Emulsionantes*

3.2.1. Lecitina 3.2.2. Mono e diglicerídos	0,5 g g/100 g de gordura

3.3. *Reguladores de pH*

3.3.1. Bicarbonato de sódio 3.3.2. Carbonato de sódio	Limitada pelas B. P. F. (limite para o sódio estabelecido na alínea 2.1.3.)
3.3.3. Bicarbonato de potássio 3.3.4. Carbonato de cálcio	Limitada pelas B. P. F.
3.3.5. Ácido cítrico e citrato de sódio	0,5 g (limite estabelecido para o sódio em 2.1.3.)
3.3.6. Ácido L (+) láctico	0,2 g
3.3.7. Ácido acético	0,5 g

3.4. *Antioxidantes*

	Dose máxima em 100 g de produto pronto para consumo
3.4.1. Concentrado de vários tocoferois 3.4.2. α - Tocoferol	300 mg/kg de gordura sós ou combinados
3.4.3. Palmitato de L — ascorbilo	200 mg/kg de lípidos
3.4.4. Ácido L — ascórbico e seus sais de Na e K	0,5 g/kg expresso em ácido ascórbico e dentro do limite para o Na estabelecido na alínea 2.1.3.

3.5. *Aromas*

3.5.1. Extrato de baunilha	Limitadas pelas B. P. F.
3.5.2. Etilvanilina	7 mg
3.5.3. Vanilina	7 mg

4. **Contaminantes**

4.1. *Resíduos de pesticidas*

O produto deve ser preparado com especial cuidado mediante práticas correctas de fabricação, de maneira a eliminar totalmente resíduos de pesticidas que possam ser necessários durante a produção, armazenamento e preparação das matérias-primas ou do produto acabado, ou em caso de impossibilidade técnica, sejam reduzidos ao teor mínimo possível.

4.2. *Outros contaminantes*

O produto não deve conter resíduos de hormonas e de antibióiicos e ser praticamente livre de outros contaminantes, em particular de substâncias farmacologicamente activas. Os doseamentos devem ser efectuados segundo os métodos aprovados.

5. **Higiene**

5.1. O produto não deve conter substâncias não autorizadas.

5.2. Quando é analisado segundo os métodos apropriados de amostragem e exame, o produto:

a) não deve revelar microrganismos patogénicos;

b) não deve conter nenhuma substância proveniente de microrganismos em quantidade que possa representar risco para a saúde;

c) não deve conter nenhuma outra substância tóxica ou nociva em quantidade que possa representar um risco para a saúde.

5.3. O produto deve ser preparado, embalado e conservado em condições compatíveis com a higiene e deverá satisfazer as disposições legais existentes ou a publicar.

6. Embalagem

O produto só deve ser comercializado em embalagem de origem, com garantia de integridade. O material utilizado deve ser inócuo, impermeável e inerte em relação ao produto.

7. Conteúdo da embalagem

Quando se trata de produtos que possam ser administrados directamente o conteúdo da embalagem não deve ser:

a) inferior a 80 % V/V, se pesam menos de 150 g;

b) inferior a 85 % V/V quando pesam de 150 a 250 g;

c) inferior a 90 % V/V quando pesam mais de 250 g em relação à sua capacidade em água.

A capacidade de água do recipiente é o volume de água destilada a 20° C que possa conter o recipiente hermeticamente fechado quando completamente cheio.

8. Rotulagem

Para além da legislação nacional sobre a rotulagem dos alimentos pré-embalados, aplicar-se-ão as disposições específicas seguintes:

8.1. *Nome do produto*

O produto reve ser designado em referência ao nome do ingrediente ou ingredientes mais importantes ou característicos e irá seguido das indicações necessárias sobre a sua consistência ou sobre o uso a que se destina.

8.2. *Lista de ingredientes*

8.2.1. O rótulo deve incluir a lista completa dos ingredientes, por ordem decrescente, segundo a sua proporção. Quando se adicionem vitaminas e/ou sais minerais, estas substâncias devem ser enumeradas em grupos distintos, a saber: vitaminas e sais minerais respectivamente. Nestes grupos não é necessário declará-las por ordem de proporção decrescente.

8.2.2. Os ingredientes de origem animal ou vegetal, assim como os aditivos alimentares, devem ser designados por um nome específico. Os nomes de categorias apropriadas para estes ingredientes e aditivos podem igualmente figurar no rótulo.

8.3. *Indicação do valor nutritivo*

Esta indicação deverá conter as informações que se mencionam a seguir e pela ordem expressa:

a) valor energético expresso em calorias (Kcal), número de gramas de proteínas, de glúcidos e de lípidos por cada 100 gramas de alimento, tal como é vendido.

b) a quantidade de cada sal mineral e vitamina adicionado em conformidade com a alínea 2.1.2. da presente norma por 100 g de produto tal como é vendido.

8.4. *Conteúdo líquido*

O conteúdo líquido do alimento diversificado deverá indicar-se em peso ou em volume, segundo a sua natureza.

8.5. *Nome e direcção*

Devem ser declarados o nome e o endereço do fabricante, embalador, distribuidor, importador, exportador ou vendedor destes alimentos.

8.6. *País de origem*

8.6.1. Deve ser sempre declarado o nome do país de origem.

8.6.2. Quando o produto sofrer num segundo país uma transformação que lhe mude a natureza, o país onde esta transformação é efectuada deve ser considerado como sendo o país de origem para fins de rotulagem.

8.7. *Identificação do lote*

Cada embalagem deve levar uma inscrição gravada ou uma marcação indelével, permitindo identificar o lote e a data de fabrico.

8.8. *Identificação da data e instruções de conservação*

8.8.1. O prazo de validade deverá ser indicado em claro, de forma indelével.

8.8.2. As instruções de conservação devem figurar no rótulo e nos prospectos sempre que estes acompanharem o produto.

8.9. *Instruções sobre o modo de emprego*

8.9.1. As instruções relativas à preparação e ao uso do produto, assim como ao armazenamento e à conservação do mesmo após a abertura do recipiente, devem figurar no rótulo e nos prospectos.

8.9.2. Quando a embalagem contenha beterraba ou espinafres indicar-se-á no rótulo:

«Para crianças com mais de 12 semanas».

9. Esta legislação revoga nesta matéria a existente à data da publicação do presente diploma.

Outra legislação que possa ser considerada complementar da presente e não a contrarie manter-se-á em vigor.

10. Esta legislação entra imediatamente em vigor..

Admite-se um prazo máximo de 18 meses de adaptação a estas disposições, tomando em consideração as adaptações que forçosamente terão que ocorrer no processo de fabrico, controlo, embalagem, rotulagem, armazenamento e distribuição deste tipo de produtos.

QUADRO 8

ALIMENTOS EM BOIÃO («BABY FOODS») — BEBÉ E JÚNIOR

Distribuição Calórica Média

CATEGORIA (Variedades)	Número de Produtos	Valor Energético Cal./100 g	PERCENTAGEM DE CALORIAS		
			Proteína	Gordura	Hidratos de Carbono
BEBÉ					
À base de carne	4	93 (78-108)	26 (23-25)	61 (53-69)	13 (8-19)
Carne ou peixe+legumes ou molho béchamel	9	55 (45-73)	20 (11-33)	25 (5-41)	55 (37-72)
Só legumes	1	37	11	7	82
À base de frutos	10	121 (107-135)	1 (0,7-3)	3 (2-8)	96 (95-97)
JÚNIOR					
À base de carne	2	80 (78-82)	36 (35-36)	44 (42-46)	20 (19-22)
Carne ou peixe+legumes ou molho béchamel	11	66 (52-90)	19 (16-21)	30 (10-44)	51 (38-60)
Só legumes	1	48	11	4	85
À base de frutos	5	129 (105-145)	2 (1-4)	3 (2-5)	95 (91-97)

ESTUDO BACTERIOLÓGICO DE ÁGUAS INDUSTRIALIZADAS À VENDA NO MERCADO

Contribuição para o estudo do controlo bacteriológico de águas «engarrafadas»

A. França e Silva (*)

RESUMO DO PLANO DO TRABALHO

Estudámos três águas industrializadas à venda no mercado. Para cada uma, estabelecemos um plano de colheita, que, em princípio, obedeceu ao plano de controlo oficial da água em questão; a frequência e ritmo das colheitas estando dependente da importância do caudal e da época do ano.

Definido o protocolo de análise, o estudo incidiu em amostras de água colhidas na emergência, em águas engarrafadas colhidas na oficina de industrialização no próprio dia do seu enchimento, e em garrafas colhidas no «mercado» com data de enchimento desconhecida e conhecida.

Dessas análises, indicamos, em quadros, os resultados obtidos. Depois, e ao longo de considerável período de tempo, estudámos a evolução da flora em garrafas conservadas em diferentes condições ambientais.

Paralelamente, procedemos a experiências que serão descritas. De todo este trabalho extrairemos conclusões.

(*) Técnico especialista.

ESQUEMA DO TRABALHO

A — INTRODUÇÃO

B — MATERIAL E MÉTODOS

C — ÁGUA N.º I

Resultados	Na nascente	Quadros Apreciação	Conclusões	Resumo e Conclusões
	Garrafas «oficina»	Quadros Apreciação	Conclusões	
	Garrafas «mercado»	Quadros Apreciação	Conclusões	

Anexo 1 — Evolução da «flora» nas «garrafas»:

a) Garrafas colhidas na «oficina» com enchimento no próprio dia	Quadros de resultados Curvas de crescimento Apreciação	Conclusões
b) Garrafas colhidas no «mercado»	Quadros de resultados Curvas de crescimento Apreciação	Conclusões

Anexos 2, 3 e 4

c) Evolução em condições «experimentais»	Descrição das experiências Quadros de resultados Apreciação	Conclusões

Conclusões finais referentes à ÁGUA N.º I

D — ÁGUA N.º II Idem

E — ÁGUA N.º III Idem

Resumo

Bibliografia

Introdução

Como é do conhecimento comum, há um comércio importante, no nosso como em outros países, de águas ditas de mesa, minerais ou minero-medicinais, apresentadas em embalagens de diferentes formatos e capacidades, habitualmente de vidro ou «plástico», hermeticamente fechadas por tampas de metal revestido na parte interior por cortiça forrada a «plástico», ou mais modernamente por tampas totalmente de «plástico».

Cada embalagem, para além da designação genérica e um tanto arbitrária de água de mesa, água mineral ou água minero-medicinal, tem como rótulo um nome de marca comercial e a indicação de um certo número de características físicas, químicas e bacteriológicas, na emergência, da água que contém. Quando é o caso, apresenta ainda a indicação de que foi artificialmente gaselficada.

Temos assim, no mercado, um produto destinado ao consumo humano, que, como todos os alimentos, pode pôr problemas de saúde pública de natureza química ou biológica, ou de alteração dos seus caracteres organoléticos.

Imediatamente se segue, que uma água «engarrafada» deve sofrer um controlo laboratorial, por tal forma efectuado, que garanta o melhor possível a sua potabilidade química e microbiológica e, num outro aspecto, que revele se a água, no manancial, mantém, ao longo do tempo, as suas características físicas, químicas e microbiológicas originais, logo legais.

É a esse controlo de laboratório que se refere o presente trabalho, mas focando exclusivamente o campo da microbiologia, e nele, fundamentalmente, o aspecto bacteriológico.

O nosso objectivo é portanto o de uma modesta contribuição para o estudo do controlo microbiológico de águas «engarrafadas», sejam águas de mesa, minerais ou minero-medicinais.

Estas designações, de significado pouco preciso, abrangem águas provenientes em geral de mananciais profundos, subterrâneos, contidos em camadas geológicas que lhes conferem características físico-químicas peculiares. As camadas geológicas atravessadas pelas águas no seu caminho da superfície para a profundidade, também influenciam aquelas características, que são a razão determinante, pela sua bondade, da exploração industrial destas águas, por «engarrafamento» e distribuição através de circuitos comerciais ou ainda em estâncias termais.

Parece de interesse tentarmos definir o que se poderá entender por água de mesa, por água mineral e por água minero-medicinal:

— uma água de mesa seria uma água pouco mineralizada, de excelente qualidade sob o aspecto de potabilidade química e microbiológica;

— uma água mineral obedeceria à mesma ideia de potabilidade, mas com a diferença de ter uma apreciável mineralização, (maior ou menor, mas sempre importante, teor de sais minerais em solução);

— uma água minero-medicinal seria uma água mineral a que se atribuem propriedades terapêuticas em relação a certas afecções.

Sabe-se hoje, através de estudos de numerosos autores, que muitas águas subterrâneas, nomeadamente as ditas minerais ou de mesa, possuem no manancial profundo, uma flora bacteriana, habitual, própria, normal ou individual, caracterizada, para cada manancial, pelas espécies presentes (aspecto qualitativo) e pelo número de bactérias daquelas espécies (aspecto quantitativo), que não deve sofrer variações sensíveis ao longo do ano.

Muitas destas espécies bacterianas são autotróficas obrigatórias ou facultativas, adaptadas à temperatura do manancial e às características químicas da água. É frequente nessas espécies a capacidade de elaboração de pigmentos que se podem evidenciar nos meios de cultura. Na maior parte dos casos trata-se de pigmentos amarelos, mas não raro encontram-se germes produtores de outros pigmentos, por exemplo, laranja ou mesmo vermelhos.

Foram descritos casos de bactérias, sem dúvida provenientes da superfície, como certas estirpes dos Géneros Escherichia e Enterobacter, que adquiriram, por adaptação, a capacidade de produzirem pigmentos amarelos, e outros caracteres, como, por exemplo, a resistência a elevadas temperaturas em águas termais quentes, quando introduzidas no manancial.

A existência de matéria orgânica na água pode permitir o desenvolvimento de bactérias heterotróficas.

— Desta introdução, parece-nos útil extrair, em resumo, alguns dados ou ideias básicas que permitirão um melhor entendimento e mais fácil exposição do nosso trabalho:

1. deu-se uma «definição» de águas de mesa; águas minerais e águas minero-medicinais;

2. são, regra geral, águas provenientes de mananciais subterrâneos contidos em camadas geológicas que lhes transmitem as características físicas e químicas que as caracterizam, e condicionam a flora «própria» ou «habitual» que possuem;

3. estas águas são exploradas industrialmente, quer em estâncias termais junto da captação, quer, após «engarrafamento» por distribuição através de circuitos comerciais;

4. para tanto, por motivos económicos, esses mananciais têm de possuir um caudal apreciável;

5. como qualquer alimento as águas podem veícular agentes nocivos à saúde, de natureza química ou microbiológica;

6. a exploração industrial da água de um manancial subterrâneo, vai colocá-la, sobretudo se for «engarrafada» e dessa forma comercializada, à disposição de um número muito elevado de pessoas, numa vasta área de dispersão, por vezes ao nível de um país ou mesmo de vários países, por exportação;

7. logo, se a água veícular agentes nocivos à saúde, estes podem atingir numerosas pessoas dispersas por áreas enormes;

8. este facto, torna essencial o sistemático controlo laboratorial, químico e microbiológico, do manancial;

9. um manancial subterrâneo inquina-se pelo contacto com outras águas inquinadas que nele se infiltrem;

10. logo, o manancial deve estar protegido de inquinações de superfície pela definição de uma suficiente zona de protecção, sujeita a vigilância, onde seja interdita a construção de habitações e qualquer actividade industrial, agrícola ou pecuária que possa determinar a infiltração em profundidade de efluentes ou águas poluídas. A textura geológica da área e a existência na região de cursos de água, deve pela sua possível perigosidade, determinar uma redobrada vigilância;

11. durante o processo de captação e industrialização, a água pode, por acidente ou deficiência tecnológica, sofrer inquinação. Rupturas das canalizações, deficiente limpeza e desinfecção da maquinaria, a própria embalagem (garrafa e tampas) podem dar origem a inquinações mais ou menos graves, ou a um mau estado higiénico da água;

12. uma excessiva exploração do manancial, para além de poder alterar as características próprias da água, pode determinar, por um fenómeno de sucção de águas próximas, a inquinação do manancial;

13. habitualmente, uma dada água possui uma flora «própria» adaptada às condições do manancial;

14. num manancial bem protegido (de boa «saúde») as características normais da água, nos seus aspectos químico e microbiológico, não devem variar ao longo do ano, quer qualitativa, quer quantitativamente;

15. fortes chuvas, inundações ou degelos, podem favorecer uma possível inquinação do manancial. Por esse motivo, depois de um fenómeno daquela natureza, o manancial deve ser sujeito a especial vigilância;

16. logo, o controlo microbiológico e químico de um manancial deve ser sistemático ao longo do ano, e, em especial, após chuvas intensas, degelos, inundações, através de um esquema de análises químicas e microbiológicas;

17. esse esquema, frequência, ritmo de análises e «pontos» de colheita, deve variar com o caudal, o regime mais ou menos intenso de exploração e época do ano;

18. para uma água industrializada, o controlo microbiológico deverá ser feito, não só na emergência, mas também na «oficina», em diferentes pontos da cadeia de industrialização e incidir ainda em amostras de água já engarrafada, logo após o engarrafamento;

19. as embalagens (garrafas e tampas) devem ser submetidas a controlo de esterilidade;

20. os serviços de saúde pública deverão proceder ao controlo oficial, fazendo colheitas na emergência, para análise, segundo um esquema apropriado e analisando a água contida em garrafas colhidas na «oficina» no próprio local de enchimento e em garrafas colhidas no «mercado». Nestas, a idade da água na garrafa é em geral desconhecida por não indicação da data de enchimento;

21. caberá a qualquer técnico que tenha por missão o controlo microbiológico de uma água do tipo das que estamos a considerar, o estudo e prévio conhecimento da flora habitual da água, que poderá ser aceite, para a poder distinguir de uma flora adventícia não aceitável para além de determinados parâmetros;

22. a flora habitual, ou outra, poderá desenvolver-se na «garrafa» atingindo um número muito elevado de germes por mililitro de água;

23. logo, é importante saber-se distinguir, na «garrafa», a flora habitual da água, de qualquer outra que apresente e que não será de aceitar;

24. na nascente cabe um controlo qualitativo e quantitativo. Na «garrafa», relativamente à flora habitual da água, caberá apenas o aspecto qualitativo;

25. o protocolo de análise para controlo microbiológico de rotina de uma água industrializada, na emergência, consistirá nas seguintes provas:

a) pesquisa e contagem de coliformes em 100 ml;

b) pesquisa e contagem de Escherichia coli em 100 ml;

c) pesquisa e contagem de Streptococcus do grupo D de Lancefield ou «fecais» em 100 ml;

d) pesquisa de Clostridium perfringens em pelo menos 10 ml;

e) contagem de germes aeróbios não exigentes «totais» a 37º C e a 20/22º C em 1 ml;

— Em certos países faz-se a pesquisa de bacteriófagos «fecais» ou não específicos, geralmente em 50 ml da água.

O protocolo para a análise da água na «garrafa», para além das pesquisas e contagens indicadas para a emergência, é acrescido de:

f) pesquisa e contagem de bolores em pelo menos 2 ml;

g) pesquisa e contagem de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml.

(A pesquisa de Clostridium perfringens é por vezes substituída pela pesquisa e contagem de Clostridium sulfito-reductores em 100 ml).

26. para uma água industrializada, na emergência, não se admitirá a presença de germes indicadores de contaminação de origem fecal nem a presença de germes (poderá admitir-se uma estreita margem de tolerância) que não sejam os da flora habitual. Se a contagem destes germes se afastar do número habitual, o manancial deverá ser estreitamente vigiado.

Na «garrafa», não se aceitará a presença dos germes indicadores de contaminação fecal, nem a presença de germes indicadores de mau estado higiénico do sistema de industrialização ou das embalagens. Segundo certos autores, poderá admitir-se a presença da flora habitual e não de outra, *sem se atender ao seu número por mililitro da água;*

27. coloca-se aqui o problema de se concluir sobre se a ingestão de um número muito elevado de germes, embora não agentes de doenças específicas, poderá ou não ser nocivo para a saúde. Esse problema não cabe no âmbito deste trabalho.

Material e métodos

Estudaram-se amostras colhidas na nascente (emergência), antes de qualquer sistema de filtração, em frascos esterilizados, e amostras constituídas por água na «garrafa», englobando-se neste termo todos os tipos de embalagem, colhidos quer na «oficina», quer no «mercado».

As primeiras, e as amostras «na garrafa» colhidas na oficina no próprio dia do enchimento, foram rapidamente transportadas ao laboratório, em ambiente frio de aproximadamente + 4º C, e analisadas no prazo máximo de seis horas, em geral duas a três horas após a colheita.

As garrafas colhidas no mercado não mereceram tais cuidados. A abertura das garrafas foi sempre efectuada em condições de assépsia, com esterilização das «tampas» e regiões adjacentes pela acção combinada do álcool e do calor.

Logo que retirado o material necessário para a análise, as garrafas foram novamente fechadas com «rolhas» de algodão cardado esterilizadas, por sua vez cobertas com um envólucro de papel Craft.

Em todos os casos utilizou-se o seguinte protocolo de análise:

1. contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais», em agar nutritivo, em 1 ml e em 100 ml da água, após incubação a 37º C e à temperatura ambiente;

2. pesquisa e contagem de coliformes em 100 ml, pela técnica do número mais provável;

3. pesquisa e contagem de Escherichia coli em 100 ml, pela técnica do número mais provável;

4. pesquisa e contagem de Streptococcus «fecais» em 100 ml, pela técnica da membrana filtrante;

5. pesquisa de Clostridium perfringens em 10 ml;

6. pesquisa e contagem de bolores em 2 ml;

7. pesquisa de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml.

Procedemos ainda à pesquisa de bacteriófagos não específicos «fecais» e específicos para Salmonella typhi 4 Vi em duas amostras colhidas na nascente.

Antes de qualquer sementeira a amostra foi homogeneízada por agitação manual.

1. Contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais».

Empregou-se o meio de agar nutritivo simples tendo os diferentes componentes a seguinte origem:

agar	— B. D. Merieux
extracto de carne	— Oxoid
peptona	— Oxoid
NaCl	— Merck

Para cada amostra, o meio contido em tubos de ensaio (15 ml), fundido e arrefecido a 48º C, é vazado em quatro placas de Petri de 100×15 mm, onde previamente se colocaram com pipeta graduada e rigorosa medição, respectivamente 1 ml da água em duas das placas e 0,1 ml nas outras duas placas.

Por agitação suave, procede-se à homogeneização do meio com o inóculo. Deixa-se solidificar o meio colocando as placas sobre uma superfície plana. Obtida a solidificação, as placas são secas na estufa a 37º C durante tempo suficiente.

Concluída a secagem da superfície da gelose, duas das placas, uma contendo 1 ml e outra 0,1 ml da água, são incubadas a 37º C; as outras duas, também contendo, uma 1 ml, e outra 0,1 ml da água, são incubadas à temperatura do laboratório, no escuro.

As leituras são efectuadas, para as placas a 37º C, às 24 horas, às 48 horas e aos 5/6 dias, sendo em seguida retiradas da estufa e deixadas à temperatura ambiente até aos 13/15 dias, para estudo; para as placas incubadas à temperatura ambiente, aos 5/6 dias e depois a intervalos regulares até aos 13/15 dias, para verificação de um possível aumento do número de colónias e seu estudo.

Para a contagem em 100 ml, utiliza-se uma placa contendo agar nutritivo simples, solidificado e seco na estufa, sobre cuja superfície se coloca uma membrana filtrante depois de por ela se filtrarem os 100 ml da água em estudo.

Empregaram-se filtros e membranas filtrantes Gelman 0,45 mμ esterilizados, montados num sistema de vácuo.

A incubação é feita a 37º C, com contagem das colónias às 48 horas, prolongando-se a incubação à temperatura ambiente, para estudo das colónias, até aos 13/15 dias.

Outros 100 ml da água são filtrados de modo semelhante e a membrana é colocada num balão contendo caldo nutritivo simples. A incubação faz-se a 37º C até aparecimento de cultura ou anotação de cultura negativa.

A partir das culturas positivas procede-se ao isolamento das colónias em agar nutritivo, em placa de Petri, previamente seco na estufa. Incubam-se estas placas a 37º C/48 horas, sendo depois retiradas da estufa e deixadas à temperatura ambiente para estudo das colónias.

2. Pesquisa e contagem de coliformes.

Utiliza-se a técnica do número mais provável, com referência às tabelas de Mc Crady. Empregou-se o meio de Mac Conkey líquido simples (Oxoid) e de dupla concentração, em tubos de Durham de 200×20 mm para a dupla concentração e de 170×17 mm para o meio simples.

Semeiam-se em 5 tubos contendo cada qual 10 ml do meio de dupla concentração, 10 ml da água. Outros 5 tubos contendo o meio simples são semeados com 1 ml da água e, por último, outro grupo de 5 tubos de meio simples recebe 0,1 ml da água.

Por agitação manual procede-se à homogeneização. Os 15 tubos são incubados na estufa a 37º C e a leitura é feita às 48 horas.

Os tubos que não revelem a presença de gás no tubo interior são eliminados, os que mostrem gás em quantidade apreciável são considerados suspeitos de conterem uma cultura de coliformes.

Procede-se então à «confirmação»: de cada tubo «suspeito» retira-se, após agitação, com pipeta de Pasteur, algumas gotas da cultura, que são passadas para tubos de Durham contendo meio de Verde Brilhante líquido (utilizámos Oxoid).

Estes tubos são incubados a 37º C/48 horas. Procede-se então à sua leitura ,isto é, verifica-se se existe ou não gás em quantidade apreciável no tubo interior, sendo considerados positivos os que revelem o gás proveniente da fermentação da lactose.

Por fim verifica-se o número de tubos positivos semeados respectivamente com 10 ml, com 1 ml e com 0,1 ml da água, e, de posse desses números, consulta-se uma tabela de Mc Crady, referida a 100 ml, para o esquema 5: 5; 5 utilizado, e obtém-se o número mais provável de coliformes em 100 ml da água.

3. Pesquisa e contagem de Escherichia coli.

De cada tubo de Mac Conkey líquido semeado para a pesquisa de coliformes que revele a presença de gás após 48 horas de incubação, retira-se com pipeta de Pasteur, um pouco da cultura. Desta cultura, introduzem-se duas gotas num tubo contendo água peptonada (utilizámos Peptona Oxoid e Merck) e algumas gotas (4 ou 5) num tubo de Durham com Verde Brilhante líquido.

Ambos os tubos, semeados com a cultura originária do mesmo tubo de Mac Conkey, são incubados em Banho-Maria a 44º C ± 0,1º C durante 48 horas.

Procede-se então, no tubo com a água peptonada, à pesquisa de indol pelo reagente de Ehrlich-Kovacs e observa-se se houve produção de gás no tubo com Verde Brilhante. É o teste de Mac Kenzie. O teste é considerado positivo se houver produção simultânea de gás e de indol nas condições indicadas.

Anota-se o número de testes positivos referentes aos tubos de Mac Conkey originalmente semeados com 10 ml, 1 ml e 0,1 ml da água e, numa tabela de Mc Crady referida a 100 ml (no esquema 5; 5; 5 utilizado) lê-se o número mais provável correspondente, que é o número mais provável de Escherichia coli em 100 ml da água.

4. Pesquisa e contagem de Streptococcus do grupo D de Lancefield ou «fecais».

Utilizámos o meio selectivo de Slanetz e Bartley Agar (do B. B. L.) e a técnica da membrana filtrante.

Filtram-se 100 ml da água por membrana filtrante (utilizámos Gelman 0,45 m μ) num sistema de vácuo. Essa membrana é em seguida depositada na superfície de Agar Slanetz e Bartley contido numa placa de Petri de 60 mm de diâmetro.

Incuba-se a 37º C/48 horas e procede-se ao estudo e contagem das colónias, dos diferentes tipos, suspeitas de serem colónias de Streptococcus «fecais». Para confirmação, uma colónia de cada tipo é semeada em agar sangue e das culturas obtidas após incubação a 37º C/48 horas semeiam-se, com um fio longo, tubos contendo um meio semi-gelosado com 40 % de bile. Estes tubos são de pequeno diâmetro o que permite obter uma relativa anaerobiose na parte inferior do tubo. São incubados a 44º C durante 48 horas. Uma cultura abundante e em profundidade neste meio, é confirmativa de Streptococcus «fecal».

Adiciona-se então o número de colónias de cada um dos tipos confirmados, sendo o resultado o número total de colónias de Streptococcus «fecais» em 100 ml da água.

5. Pesquisa e contagem de bolores.

Utilizámos o meio Agar Sabouraud (Oxoid). Em cada uma de duas placas de Petri, de 100×15 mm, coloca-se 1 ml da água, com rigorosa medição por pipeta graduada.

O agar Sabouraud, contido em tubos, é fundido e deixado arrefecer a ~ 48º C, sendo então vertido nas placas. Procede-se por suave agitação à mistura do inóculo com o meio. Deixa-se solidificar o agar colocando as placas sobre uma superfície plana e fria. A superfície do meio é seca na estufa a 37º C. As placas são fechadas e incubadas durante 5/7 dias à temperatura do laboratório, no escuro.

Procede-se então à contagem das colónias de bolores nas duas placas. Somam-se os resultados das contagens de cada placa e esse resultado é dividido por 2, obtendo-se a média aritmética. Esse valor indica o número de colónias de bolores por mililitro de água.

6. Pesquisa de esporos de Clostridium perfringens.

10 ml de água, rigorosamente medidos com pipeta graduada, são colocados num tubo de ensaio esterilizado. Este tubo é então aquecido em Banho-Maria a 80º C, durante 10 minutos e, em seguida, rapidamente arrefecido em água fria.

Paralelamente um tubo de 200×20 mm contendo leite esterilizado (utilizámos Difco) é regenerado, isto é, sofre um aquecimento em Banho-Maria a 100º C durante 10 minutos para expulsão do oxigénio dissolvido, e é depois arrefecido em água fria. Neste tubo com o leite, introduzem-se então directa e suavemente os 10 ml da água contida no tubo aquecido a 80º C/10 minutos.

Por agitação manual suave, executada de modo a evitar-se a introdução de oxigénio no meio regenerado, homogeneíza-se a água no leite. Sobre este, verte-se, por fim, parafina fundida, que vai formar à superfície do meio um anel de aproximadamente 1 cm de altura. Deixa-se solidificar a parafina e o tubo semeado é incubado a 37º C até 5 dias.

Consideram-se suspeitos de conterem uma cultura de Clostridium perfringens ou welchii, os tubos que mostrem a característica cultura «tormentosa», isto é, a formação de um coágulo alvéolar, retraído, resultante da acidificação do leite, e posterior digestão do coágulo e da *abundante* produção de gás.

7. Pesquisa e contagem de Pseudomonas aeruginosa.

Não utilizámos meios selectivos. A pesquisa foi feita em 100 ml da água, filtrada por membrana (Gelman 0,45 m μ) em sistema de vácuo. A membrana é colocada à superfície de um agar nutritivo, em placa de Petri de 100×15 mm, previamente seca na estufa a 37º C. A placa é incubada a 37º C — 24/48 horas. Verifica-se então se existem colónias pigmentadas de azul ou verde, que são contadas.

Procede-se à purificação das colónias suspeitas, por isolamento em agar nutritivo, à sua passagem para meio líquido (caldo simples), e à identificação da estirpe. Para a identificação efectuámos:

1) a observação dos caracteres morfológicos e tinturiais (Gram);

2) a observação da mobilidade;

3) a extracção da piocianina (pigmento azul), pelo clorofórmio, a partir de uma cultura em caldo simples ou água peptonada;

4) a pesquisa de oxidase;

5) o estudo da capacidade de produção de pigmento nos meios de King A e B (utilizámos Merck e Difco);

6) a verificação de crescimento a 42º C;

7) o estudo do tipo respiratório em meio de Hugh e Leifson;

8) a observação do comportamento e aspecto da cultura em meio de Kligler.

O resultado da contagem em 100 ml de água, é o somatório das colónias confirmadas como pertencendo à espécie Pseudomonas aeruginosa.

8. Pesquisa de bacteriófagos «fecais» não específicos ou polivalentes.

Em cada um de dois frascos contendo 50 ml de água peptonada de dupla concentração, colocam-se 50 ml da água em estudo.

Seguidamente os dois frascos são colocados na estufa a 37º C durante uma hora, com a finalidade de elevar o seu conteúdo a essa temperatura.

Retiram-se os frascos da estufa e rapidamente introduz-se, num 1 ml de uma cultura de 5 horas em caldo de Escherichia coli 36, e no outro 1 ml de uma cultura de 5 horas em caldo simples, de Shigella y 6R (S. dysenteriae).

Os frascos voltam então para a estufa a 37º C, para enriquecimento de bacteriófagos durante o período de uma noite.

No mesmo momento da sementeira das estirpes bacterianas nos frascos, são semeadas cada uma das estirpes utilizadas, em tubos de água peptonada (uma ansa). Os dois tubos com as estirpes E. coli 36 e Shigella y 6R são incubados a 37º C.

Na manhã seguinte, de cada frasco retira-se 1 ml da cultura, que é colocada em tubo estéril.

Os dois tubos (com 1 ml da cultura enriquecida) são aquecidos a 56º C durante 40 minutos (em Banho-Maria).

Simultaneamente em duas placas de agar para pesquisa de bacteriófagos, secas, semeiam-se por espalhamento em superfície, numa, 2 gotas da cultura em água peptonada de Escherichia coli 36 e na outra 2 gotas da cultura em água peptonada de Shigella y 6R. As placas são secas a 37º C durante 10 minutos.

Depois, na placa com a cultura de E. coli 36, coloca-se uma ansa (ténue) da cultura aquecida a 56º C (E. coli 36+água em estudo) e na placa com a cultura de Shigella y 6R coloca-se uma ansa (ténue) da cultura aquecida a 56º C (Shigella y 6R + a água).

As duas placas são incubadas a 37º C durante 6 horas e ao fim deste tempo procede-se à leitura. A presença de bacteriófagos «fecais» não específicos ou polivalentes (os pesquisados neste caso) revela-se pelo aparecimento no manto de cultura bacteriana, dentro da zona semeada com a ansa, de zonas maiores ou menores de clarificação, correspondentes à lise das bactérias em crescimento, pelos bacteriófagos.

Procedemos também à pesquisa de bacteriófagos específicos para Salmonella typhi 4 Vi. A técnica é igual à anteriormente descrita.

Por bacteriófagos polivalentes ou não específicos entendemos os que se desenvolvem à custa de um grande número de bactérias distintas (em espécie, Género ou Família) pela existência de antigénios comuns.

Os bacteriófagos «fecais» polivalentes desenvolvem-se geralmente nas enterobactérias.

Os bacteriófagos específicos, são os que correspondem a um antigénio bem específico como, por exemplo, o antígénio Vi.

——//——

Contagem de germes, aeróbios, não exigentes, «totais» nas águas engarrafadas.

Para as repetidas provas destinadas ao estudo das espécies presentes nas garrafas e à avaliação do seu número por mililitro, utilizámos o meio de agar nutritivo simples e a técnica da incorporação do inóculo no meio.

Numa série de placas Petri de 100×15 mm, semeia-se 1 ml da água em natureza e 1 ml de diferentes diluições decimais (de 10^{-1} a 10^{-6}).

As diluições são feitas em séries de tubos de ensaio esterilizados, contendo cada um 9 ml de soluto fisiológico ou água destilada estéreis.

No primeiro tubo introduz-se 1 ml da água em natureza, obtendo-se a diluição 10^{-1}.

Após perfeita homogeneízação, por agitação manual, retira-se 1 ml desta diluição 10^{-1} que é introduzido no segundo tubo, obtendo-se a diluição 10^{-2}, e assim, sucessivamente, se obtêm as restantes diluições. As medições são feitas rigorosamente com pipetas graduadas.

O agar nutritivo, fundido em tubo e arrefecido a ~ 48º C, é vertido nas placas. Faz-se a homogeneízação do inóculo no meio, agitando a placa com suaves movimentos, que obrigam o seu conteúdo a deslocar-se em movimentos rotativos, ora num sentido, ora noutro inverso. Colocam-se depois as placas sobre uma superfície plana e fria, até solidificação do meio.

A superfície deste é seca na estufa a 37º C. As placas são depois fechadas e incubadas a 37º C com leituras e contagens até ao limite de 5/6 dias. As placas são então retiradas da estufa sendo deixadas à temperatura do laboratório para contagem das colónias e seu estudo a intervalos regulares até aos 13/15 dias da sementeira. Para além deste prazo, o aumento do número de colónias é, segundo a nossa experiência, negligenciável.

Para estudo, fez-se um certo número de vezes, simultaneamente com a incubação a 37º C, a incubação de uma série de diluições directamente à temperatura ambiente, até não haver aumento no número de colónias, o que geralmente sucedeu por volta dos 13/15 dias.

Ainda para estudo, séries de diluições foram incubadas à temperatura do frigorífico (~ 7/8º C) durante dilatado período de tempo, em geral até 1 mês.

ÁGUA N.º I NASCENTE

Executaram-se 25 análises, entre 12-2-76 e 12-1-77

Em Fevereiro	—	1
Março	—	1
Abril	—	1
Maio	—	1
Junho	—	5
Julho	—	1
Agosto	—	2
Setembro	—	4
Outubro	—	4
Novembro	—	2
Dezembro	—	2
Janeiro	—	1
total	=	25

ÁGUA N.º I NASCENTE

Amostras colhidas numa torneira da captação, antes do sistema de filtros

— Total 25 análises —

QUADRO N.º 2

	Em 25 análises			
	Pesquisas positivas	%	Pesquisas negativas	%
Pesquisa de coliformes em 100 ml	2	8	23	92
Pesquisa de Escherichia coli em 100 ml	1	4	24	96
Pesquisa de Streptococcus «fecais» em 100 ml	2	8	23	92
Pesquisa de Clostridium perfringens em 10 ml	0	0	25	100
Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml	0	0	25	100
Pesquisa de bolores em 2 ml	9	36	16	64

Em complemento e numa apreciação aos resultados indicados no quadro, salientamos: a pesquisa e contagem de coliformes, pela técnica do número mais provável, revelou-se positiva em duas análises, sendo os resultados, respectivamente, de n.m.p. 350 e n.m.p. 2 em 100 ml. A pesquisa e contagem de Escherichia coli foi positiva numa análise, com o resultado de n.m.p. 22 em 100 ml, na mesma amostra que revelou a presença de um n.m.p. de 350 coliformes.

A pesquisa e contagem de Streptococcus «fecais» foi positiva em duas análises, com os valores de respectivamente duas colónias e 1 colónia em 100 ml, correspondendo este último resultado à amostra que revelou a presença de coliformes (n.m.p. 350) e Escherichia coli (n.m.p. 22).

Evidenciaram-se bolores em 9 amostras. Como se indica em «Material e Métodos», a contagem final de bolores (referida a 1 ml) é a média aritmética da soma das contagens obtidas em duas placas simultaneamente semeadas com 1 ml da água.

Indicamos os resultados positivos encontrados:

QUADRO N.º 3

N.º de col./ml	N.º de amostras
$> 0 < 1$	3
$> 1 < 2$	1
2	2
3	1
4	2

Total = 9 amostras

Portanto, *o valor médio dos resultados positivos* situa-se em $> 1 < 2$ col/ml (1,8), sendo a média, em relação ao total das 25 análises, de 0,72 col/ml, isto é, $> 0 < 1$.

Numa apreciação global, tendo em conta que as análises se efectuaram ao longo de aproximadamente um ano, e observando o

QUADRO N.º 1

ÁGUA N.º I — NASCENTE

Amostras colhidas numa torneira de captação, antes do sistema de filtros — Total 25 análises

Número da amostra	Data da colheita e análise	N. M. P. de coliformes em 100 ml	N. M. P. de Escherichia coli em 100 ml	Pesquisa e contagem de Streptococcus «fecais» em 100 ml	Pesquisa de Clostridium perfringens em 10 ml	Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml	Pesquisa e contagem de bolores col/ml	Contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais» — col./ml					Contagem de germes «totais» em 100 ml (Membrana filtrante)	
								37° C			Temperatura ambiente		37° C/48 h +	Temperatura ambiente até aos 13/15 dias
								24 h	48 h	5/6 dias	5/6 dias	13/15 dias		
12	12/2/76	0	0	0	negativa	negativa	0	0 (0)	—	5 (5)	2 (2)	17 (3)	n.e.	n.e.
17	10/3	0	0	0	»	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	5 (0)	48 (17)	p.m. 48 / (p.m. 17)
30	7/4	0	0	0	»	»	0	0 (0)	—	2 (0)	0 (0)	1 (0)	—	67 (0)
41	26/5	0	0	0	»	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	2 (0)	65 (0)	65 (0)
47	2/6	0	0	0	»	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	2 (1)	40 (0)	49 (2)
50	9/6	0	0	2	»	»	> 1 < 2	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	2 (0)	29 (0)	29 (0)
53	16/6	350	22	1	»	»	2	—	20 (0)	20 (0)	40 (0)	— (?) p.m. 40	incontável (0)	incontável (1)
56	23/6	0	0	0	»	»	4	—	4 (0)	4 (0)	0 (0)	—	81 (0)	p.m. 81 (?)
60	30/6	0	0	0	»	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (0)	27 (0)	46 (0)
70	29/7	0	0	0	»	»	2	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (0)	21 (0)	22 (0)
75	11/8	0	0	0	»	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	26 (0)	32 (1)
78	24/8	0	0	0	»	»	0	—	28 (0)	— (?) p.m. 28	550 (8)	(p.m. 8) p.m. 550	36 (0)	91 (3)
81	8/9	0	0	0	»	»	> 0 < 1	—	2 (0)	2 (0)	1 (0)	6 (0)	96 (0)	102 (6)
85	15/9	2	0	0	»	»	0	—	20 (0)	43 (15)	200 (0)	320 (22)	incontável (0)	incontável (?)
86	21/9	0	0	0	»	»	4	—	4 (0)	8 (0)	2 (0)	3 (0)	44 (0)	71 (0)
90	28/9	0	0	0	»	»	0	1 (0)	1 (0)	2 (0)	5 (0)	10 (0)	149 (0)	168 (2)
94	6/10	0	0	0	»	»	3	—	4 (0)	11 (1)	6 (0)	7 (0)	incontável (0)	incontável (?)
96	12/10	0	0	0	»	»	> 0 < 1	—	8 (0)	12 (0)	6 (1)	24 (2)	331 (0)	incontável p.m. 331 (?)
101	20/10	0	0	0	»	»	0	—	1 (0)	3 (0)	1 (0)	3 (1)	3 (0)	5 (0)
102	27/10	0	0	0	»	»	> 0 < 1	—	2 (0)	7 (0)	6 (6)	11 (8)	124 (0)	129 (7)
109	4/11	0	0	0	»	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	4 (2)	—	70 (3)
112	17/11	0	0	0	»	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (0)	28 (0)	31 (3)
116	9/12	0	0	0	»	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	—	32 (1)
120	15/12/76	0	0	0	»	»	0	0 (0)	0 (0)	2 (0)	0 (0)	1 (0)	54 (0)	60 (7)
121	12/ 1/77	0	0	0	»	»	0	0 (0)	2 (0)	2 (0)	0 (0)	1 (0)	77 (0)	81 (8)

Os valores apresentados entre parênteses indicam o número de colónias com pigmento amarelo.

p.m. = pelo menos.

— n.e. = não efectuadas.

quadro detalhado dos resultados obtidos nas 25 análises, verificamos que, com exclusão de duas análises efectuadas no mês de Junho/ /1976, com o intervalo de uma semana, apenas encontramos uma análise, no mês de Setembro, que revela a presença de germes indicadores de contaminação de possível origem fecal.

QUADRO N.º 4

Contagem de germes aeróbios não exigentes «totais», nas 25 amostras colhidas na emergência (logo representativas do manancial)

	Em 25 análises			
	Contagem em 1 ml Incubação a 37º C			
Tempo de Incubação	N.º total de leituras efectuadas	Resultados (N.º total de colónias)	N.º de casos	%
24 horas	15	$\geqslant 0 < 1$	14	93,33
		$\geqslant 1 < 10$	1	6,66
48 horas	23	$\geqslant 0 < 1$	11	47,82
		$\geqslant 1 < 10$	9	39,13
		$\geqslant 10 < 10^2$	3	13,04
5/6 dias	24	$\geqslant 0 < 1$	10	45,45
		$\geqslant 1 < 10$	10	45,45
		$\geqslant 10 < 10^2$	4	18,18
	Colónias com pigmento amarelo			
5/6 dias	24	$\geqslant 0 < 1$	21	87,5
		$\geqslant 1 < 10$	2	8,33
		$\geqslant 10 < 10^2$	1	4,16

QUADRO N.º 5

Contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais»

	Em 24 análises			
	Contagem em 100 ml — Filtração por membrana. Incubação a 37º C, com prolongamento à temperatura ambiente			
Tempo de incubação	N.º total de leituras efectuadas	Resultados (N.º total de colónias)	Número de casos	%
48 horas a 37º C	21	$\geqslant 1 < 10$	1	4,76
		$\geqslant 10 < 10^2$	14	66,66
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	3	14,28
		incontável	3	14,28
Com prolongamento à temperatura ambiente até aos 13/15 dias	22	$\geqslant 1 < 10$	1	4,54
		$\geqslant 10 < 10^2$	14	63,63
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	3	13,63
		incontável	4	18,18
	Colónias com pigmento amarelo			
48 h/37º C com prolongamento à temperatura ambiente até aos 13/15 dias	22	$\geqslant 0 < 1$	7	31,81
		$\geqslant 1 < 10$	12	54,54
		ilegível	3	13,63
		—	—	—

No quadro seguinte indicamos o número médio de colónias pertencentes à flora não pigmentada ou «outra», em comparação com o número médio de colónias com pigmento amarelo, nas contagens às 24 horas, 48 horas e aos 5/6 dias, em 1 ml e a 37º C.

A média, expressa em colónias por mililitro, é o resultado da divisão do somatório das colónias dos tipos indicados, pelo número total de leituras efectuadas.

QUADRO N.º 6 — NASCENTE

	Em 25 análises					
	Média das contagens em 1 ml a 37º C					
	Colónias não pigmentadas ou «outras»			Colónias com pigmento amarelo		
Tempo de incubação	N.º total de leituras	N.º total de colónias	Média col/ml	N.º total de leituras	N.º total de colónias	Média col/ml
24 horas	15	1	0,066	15	0	0
48 horas	23	96	4,17	23	0	0
5/6 dias	24	151	N 6,04	24	21	0,87

QUADRO N.º 7

Contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais»

	Em 25 análises			
	Contagem em 1 ml Incubação à temperatura ambiente			
Tempo de incubação	N.º total de leituras efectuadas	Resultados (N.º total de colónias)	Número de casos	%
5/6 dias	25	$\geqslant 0 < 1$	5	20
		$\geqslant 1 < 10$	17	68
		$\geqslant 10 < 10^2$	1	4
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	2	8
13/15 dias	22	$\geqslant 0 < 1$	1	4,54
		$\geqslant 1 < 10$	16	72,72
		$\geqslant 10 < 10^2$	4	18,18
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	1	4,54
	Colónias com pigmento amarelo			
5/6 dias	25	$\geqslant 0 < 1$	20	80
		$\geqslant 1 < 10$	5	20
13/15 dias	22	$\geqslant 0 < 1$	14	63,63
		$\geqslant 1 < 10$	7	31,81
		$\geqslant 10 < 10^2$	1	4,54

Médias das contagens de germes aeróbios, não exigentes, «totais», nas amostras colhidas na nascente

		Média do n.º total de colónias Col./ml	Média do n.º de colónias c/ pigmento amarelo Col./ml
Incubação a 37º C (Placas semeadas com 1 ml e 0,1 ml)	Contagem às 24 horas ...	0,07	0
	» às 48 ho as ...	4,17	0
	» aos 5/6 dias .	~ 6,04 (a)	~ 0,87 (a)
		Col./100 ml	Col./100 ml
Placas semeadas com 100 ml (memb. filtrante) — Média dos resultados contáveis	Contagem às 48 horas ...	71,05 * (1)	0,94 * (1)
* (1) não se consideram os resultados «incontável»: (3 casos às 48 horas e 4 casos aos 13/15 dias)	Contagem após incubação 48 horas a 37º C, com prolongamento da incubação à temperatura ambiente até aos 13/15 dias	~ 76,66 (a) * (1)	~ 3,05 (a) * (1)
		Col./ml	Col./ml
Incubação à temperatura ambiente (Placas semeadas com 1 ml e 0,1 ml)	Contagem aos 5/6 dias	33,2	0,72
	Contagem aos 13/15 dias	~ 42,20 (a)	~ 2,08 (a)

(a) Estes resultados são afectados, quer pelo aparecimento de casos «incontável», quer por contagens não efectuadas nos periodos indicados.

Podemos resumir a apreciação global dos resultados obtidos nas provas de contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais», às seguintes considerações:

1) nas placas semeadas com 1 ml e 0.1 ml das diferentes amostras e incubadas a 37º C, verificou-se que o número total médio de colónias aumentou até aos 5/6 dias. De salientar que a pesquisa de colónias com pigmento amarelo foi sempre negativa nas leituras às 24 e 48 horas. Três pesquisas revelaram-se positivas na contagem aos 5/6 dias.

Experiências ulteriores mostraram, que algumas colónias com pigmento amarelo se tornam bem visíveis no agar nutritivo entre as 72 e as 96 horas a 37º C, e na incubação à temperatura ambiente até aos 13/15 dias a contar da data da sementeira.

As colónias que apareceram a 37º C às 24 ou 48 horas, revelaram-se, regra geral, não pigmentadas, e de dimensões muito pequenas às 24 horas.

2) as placas incubadas, à partida, à temperatura do laboratório e no escuro, revelaram, aos 5/6 dias de incubação, um número médio superior de colónias, relativamente às placas incubadas a 37º C também durante 5/6 dias, número médio que se torna muito superior, se se prolongar a incubação até aos 13/ /15 dias.

De referir, que apareceram regularmente aos 13/15 dias colónias pigmentadas de amarelo ainda não visíveis aos 5/6 dias, quer por não se terem desenvolvido, quer por se mostrarem primitivamente com o aspecto de colónias não pigmentadas, só se formando o pigmento com um tempo superior de incubação. A exposição à luz parece, para algumas espécies, favorecer a elaboração do pigmento, embora não pareça ser indispensável.

Em relação às colónias com pigmento amarelo, comparando as contagens aos 5/6 dias, a 37º C e à temperatura ambiente, nas diferentes amostras estudadas, verificou-se que, por vezes, apareceram nas placas de 37º C e não se evidenciaram nas placas à temperatura ambiente, dando-se em outros casos o inverso, ou ainda, só apareceram à temperatura ambiente na leitura aos 13/15 dias. Atribuimos este facto à presença de diferentes espécies produtoras de colónias com pigmento amarelo, sendo umas mais capazes de se desenvolverem a temperaturas mais elevadas do que outras, o que também é sugerido pelo maior número de colónias com pigmento amarelo que se evidenciaram nas placas incubadas à temperatura ambiente nos meses mais quentes, isto é, quando a temperatura média do laboratório é superior a 20º C, ou mesmo ultrapassa os 25º C.

Parece-nos de referir ainda que nem sempre houve uma correspondência perfeita entre as contagens na membrana filtrante (100 ml) e as efectuadas nas placas semeadas com 1 ml e 0,1 ml.

A média aproximada dos resultados «contáveis», na prova de contagem de germes aeróbios «totais» em 100 ml, pela técnica da membrana filtrante, após incubação a 37º C/48 horas com prolongamento da incubação à temperatura ambiente até aos 13/15 dias, foi de ~ 76,66 col/100 ml, ou seja, de ~ 0,76 col/ /ml. Para as colónias com pigmento amarelo essa média foi de ~ 3,05 col/100 ml, ou seja, de ~ 0.03 col/ml.

Tudo indica que a média de ~ 76 colónias em 100 ml, na emergência, está próxima da realidade (média anual) nas condições de pesquisa e contagem indicadas.

É certo que, para a obtenção desta média, não foram considerados alguns casos «incontável». Estes casos, por muito afastados dos restantes resultados obtidos, parecem indicar variações significativas em relação ao número médio de colónias do manancial.

Assim, aceitamos para este manancial, um número médio de colónias em 100 ml situado em $> 10 < 10^2$, e concluimos também, que, por vezes, este número sofre variações importantes, colocando-se em valores muito superiores à média, com excepção de um caso que se reverou inferior a essa média.

Entre 8/9/76 e 12/10/76, em seis análises efectuadas, evidenciaram-se cinco resultados $> 10^2$, alguns «incontáveis», em 100 ml.

Esta elevação em relação ao número médio de colónias do manancial, no espaço de aproximadamente um mês, parece-nos significativa.

——//——

Contagem de germes aeróbios «totais». Membrana filtrante — 100 ml

— Média dos resultados contáveis —

Incubação a 37º C/48 horas com prolongamento à temperatura ambiente até aos 13/15 dias

Meses	N.º de análises	Resultados Col/100 ml	Média Mensal Col/100 ml	Média Trimestral Col/100 ml
Fevereiro 1976	n.e.	—	—	—
Março »	1	p.m. 48	(a)	~ 60
Abril »	1	67	(a)	
Maio »	1	65	(a)	
Junho »	5	49 29 incontável p.m. 81 46	~ 51,25	~ 116,6
Julho »	1	22	(a)	
Agosto »	2	32 91	61,5	* (1)
Setembro »	4	102 incontável 71 168	113,6	192
Outubro »	4	incontável incontável 5 129	67	
Novembro »	2	70 31	50,5	* (2)
Dezembro »	2	32 60	46	86,5
Janeiro 1977	1	81	(a)	

(a) Não se indica a média, por, nesses meses, apenas se ter efectuado uma análise.
* (1) Verificou-se 1 resultado «incontável».
* (2) Verificaram-se 3 resultados «incontáveis».
n.e. Não efectuada.
p.m. Pelo menos.

A média real, nos meses ou trimestres em que apareceram resultados «incontáveis», que não puderam ser considerados, é, obviamente, superior às médias indicadas no quadro.

Em alguns dos meses, apenas se efectuou uma análise, pelo que não se indica a média mensal.

Salientamos o aumento do número médio de colónias nos trimestres correspondentes aos meses de temperatura mais alta (Junho-Julho-Agosto e Setembro-Outubro-Novembro) meses de maior exploração do manancial, e em especial, os resultados referentes aos meses de Setembro e Outubro. Em Setembro houve um sensível aumento do número de colónias em relação à média mensal; em Outubro os resultados parecem aberrantes, com três resultados superiores ou muito superiores à média mensal e um (intercalado) muito inferior à mesma média. Não é de excluir, que a queda de chuvas possa ter tido influência no referido aumento do número de colónias.

Em relação ao mês de Outubro a média mensal indicada de 67 col/100 ml, não corresponde à realidade, pois não se consideraram os casos «incontáveis». Caso fossem considerados, a média seria superior a 100 col/ /100 ml.

Observando os quadros onde se indicam os resultados obtidos na análise das 25 amostras colhidas na emergência ao longo de aproximadamente um ano, pensamos poder tirar as seguintes conclusões:

1) teoricamente as amostras colhidas na emergência representam o manancial. No entanto, há que ter em conta o processo de captação, que pode, por deficiente tecnologia, introduzir factores que lhe são estranhos;

2) a presença de germes indicadores de contaminação de possível origem fecal, apenas foi evidenciada em 3 amostras, duas em Junho e uma em Setembro/1976 (numa, o n.m.p. de coliformes em 100 ml, não é significativo).

Dado que a sua evidenciação foi esporádica, não se pode concluir que o manancial, durante o período de estudo, tenha revelado uma concludente contaminação de possível origem fecal. A presença destes germes tanto pode ser atribuível a uma deficiência tecnológica como a uma infiltração no manancial.

3) na emergência, o número de colónias de germes aeróbios não exigentes «totais» por mililitro, nas diferentes condições de pesquisa revelou-se regra geral baixo, embora com significativas variações em relação a um número médio.

É portanto essencial para o estudo da flora deste manancial a respectiva pesquisa e contagem em 100 ml da amostra, o que efectuámos pela técnica da membrana filtrante. Cabe aqui considerar as temperaturas e tempos de incubação a utilizar para as provas de contagem. Incubando as placas a 37º C, verificou-se uma quase total negatividade às 24 horas.

Prolongando a incubação até aos 5/6 dias a 37º C, o número de colónias aumenta de forma significativa em muitas das placas.

Por experiência, constatámos, que, retirando as placas da estufa a 37º C, após a incubação, e conservando-as à temperatura do laboratório, o número de colónias aumentou em muitos casos de forma notável, geralmente até aos 13/15 dias a contar da sementeira.

Com este dado de experiência, para o estudo da flora deste manancial adoptámos sempre que tal nos foi possível, a incubação das placas de contagem a 37º C durante alguns dias, no máximo 5/6 dias, seguida de uma permanência à temperatura do laboratório, até uma contagem final aos 13/15 dias;

4) o manancial, possui sem dúvida, uma flora «própria», adaptada às condições do manancial, constituída por germes Gram negativo, produtores de colónias de pigmento amarelo.

Encontrámos, de uma forma quase constante, ao lado dos germes produtores de colónias com pigmento amarelo, habitualmente considerados, por alguns autores, como constituindo a flora própria dum manancial de água mineral, germes produtores de colónias não pigmentadas e germes produtores de outros pigmentos; rosa, salmonado, castanho, etc.

Ao lado de germes que apareceram de forma constante ou muito frequente, evidenciaram-se outros de modo muito esporádico. Mesmo os germes mais constantemente presentes, evidenciaram-se com grande variação no aspecto quantitativo. A flora evidenciada, nas condições das experiências, no período de estudo, em amostras representativas deste manancial subterrâneo, revelou-se essencialmente constituída por germes Gram negativo, produtores de colónias de pigmento amarelo, ou não pigmentadas, nem todos pertencentes à mesma espécie. Provas de identificação, morfológicas, tinturiais e bioquímicas, ainda que sumárias, parecem permitir o enquadramento da maioria dessas estirpes amarelas no Género Flavobacterium.

Consideramos importante vincar que os germes produtores de pigmento amarelo isolados da água, não pertencem todos à mesma espécie. Muitos revelaram comportamento diferente no seu desenvolvimento, em relação à temperatura e a tempos de incubação, o que influenciou o estudo desta água.

De forma constante, evidenciaram-se colónias não pigmentadas, talvez até pelo seu maior número por mililitro da água, com uma frequência superior às de pigmento amarelo, colónias de germes que, na maioria, foi possível enquadrar no Género Pseudomonas, revelando-se umas estirpes oxidativas (em meio de Hugh e Leifson), as mais frequentes, e outras alcalinizantes.

Com frequência menor, encontraram-se colónias com pigmento rosa de pequenos bacilos Gram positivo com característico aspecto coryneforme; e, ainda, colónias de pigmento rosa ou salmão pálido que enquadramos no Género Arthrobacter. Outras espécies foram

isoladas das amostras de água colhidas na emergência, mas de forma muito esporádica e em pequeno número em 100 ml (membrana filtrante); geralmente cocos Gram positivo (Fam. Micrococcaceae) ou coryneformes produtores de colónias brancas ou amarelo opaco; germes do Género Bacillus e por último germes enquadráveis na Ordem Actinomycetales.

— Em resumo, tudo parece indicar, que a flora no manancial ao longo do ano de estudo, revelou uma certa instabilidade, quer nas espécies evidenciadas, quer na sua proporção relativa, quer no número «total» de colónias por mililitro

Não esqueceremos aqui, que, para a extracção destas conclusões, o estudo se baseou essencialmente na observação e estudo das colónias obtidas pela filtração de 100 ml da água por membrana filtrante (M. e M.).

Ora numa membrana, se o número total de germes capazes de se desenvolverem no meio de cultura em que essa membrana foi colocada é relativamente grande, o desenvolvimento de uns germes pode ser prejudicado ou mesmo inibido pelo crescimento de outros de mais rápido ou adaptado desenvolvimento nas condições de cultura. Pode admitir-se que, em parte, algumas variações observadas se devam a esse facto. Noutros casos a variação ficou perfeitamente evidenciada.

Resumindo as considerações expostas:

— evidenciaram-se numerosas espécies bacterianas capazes de se desenvolverem em agar nutritivo:

— *de forma praticamente constante*, embora com fortes variações quantitativas ao longo do ano de estudo encontrámos:

germes Gram negativo
- colónias de pigmento amarelo → várias espécies, essencialmente de Flavobacterium
- colónias não pigmentadas → várias espécies, essencialmente Pseudomonas, oxidativas e alcalinizantes

e de forma muito frequente,

germes de Gram positivo
- Arthrobacter e
- coryneforme (colónia com pigmento rosa)

Tudo indica ser este o mosaico bacteriano dominante no manancial, no ano de estudo e evidenciável nas condições de pesquisa.

Como já se indicou, o número de colónias de cada espécie, nas condições de pesquisa e contagem utilizadas, sofreu variações ao longo do ano, tal como sofreu variações o número «total» de colónias (colónias de germes aeróbios não exigentes «totais»).

Estas variações sugerem uma instabilidade da flora no manancial. Algumas das espécies evidenciadas, habitualmente de origem telúrica ou hídrica de superfície, permitem suspeitar que aquela instabilidade se deva a infiltrações de superfície.

Autores, descrevem como «própria» de algumas águas minerais uma flora de pigmento amarelo adaptada às condições do manancial. Uma flora desse tipo existe neste manancial e o presente trabalho revela que se multiplica largamente na água engarrafada e nela pode subsistir por longo tempo.

Ao lado dessa flora, evidenciou-se, de forma constante, uma outra, não pigmentada, Gram negativo; e, com frequência, uma flora Gram positivo, que também se podem desenvolver na água engarrafada (ver Anexo 1 — Água N.º I).

O estudo qualitativo da flora presente nas amostras de água colhidas na emergência e que se tem como representativa da flora no manancial, foi feito pela análise de 25 amostras, colhidas numa torneira antes de um dispositivo de filtração. Estudaram-se as colónias bacterianas oriundas destas amostras, que se desenvolveram em agar nutritivo simples, em aerobiose, com incubação quer a 37º C, quer à temperatura do laboratório.

As pesquisas efectuaram-se em 100 ml da água pela técnica da membrana filtrante, colocada à superfície de um agar nutritivo, e ainda pela filtração de outros 100 ml da água por uma outra membrana filtrante, seguidamente introduzida num balão com caldo nutritivo simples, incubado a 37º C/48 horas, procedendo-se ao isolamento de colónias em agar nutritivo simples, no caso das culturas positivas. Aproveitaram-se ainda, para o estudo qualitativo da flora, as placas de contagem pela técnica de incorporação em agar nutritivo, semeadas com, respectivamente, 1 ml e 0,1 ml da água.

Em quadro discriminamos alguns resultados referentes ao estudo da água na emergência, *sob o aspecto qualitativo*.

Em relação aos diferentes tipos de flora ou Géneros mais frequentemente encontrados, in-

dicamos o número de análises em que foram evidenciados e a respectiva percentagem em relação às 25 análises efectuadas, considerando para tanto, todas as placas semeadas, quer com a membrana filtrante/100 ml, quer com 1 ml, e incubadas às diferentes temperaturas.

QUADRO N.º 8

	Amostras colhidas na emergência	
	Em 25 análises	
	N.º de amostras em que foram evidenciadas	%
Flora de pigmento amarelo, Gram negativo (várias espécies)	18	72
Flora não pigmentada, Gram negativo (essencialmente Pseudomonas)	25	100
Gén. Arthrobacter	10	40
Coryneforme (colónia de pigmento rosa) pequenos bacilos	8	32
Outras espécies	25	100

Numa apreciação ao quadro N.º 8, salientamos: a presença constante de estirpes não pigmentadas do Género Pseudomonas (100 % das análises); a evidenciação de colónias de germes produtores de pigmento amarelo, Gram negativo, de diferentes espécies, mas essencialmente Flavobacterium, em 72 % das amostras; a evidenciação frequente (40 % das amostras) de estirpes do Género Arthrobacter, e de uma estirpe de pequenos bacilos Gram positivo, produtora de colónias opacas, de cor rosa intenso, do grupo coryneforme, em 32 % das amostras; os 100 % de casos em que se evidenciaram outras espécies, que não sendo sempre as mesmas, apareceram de forma constante.

Em relação às percentagens, tudo indica, que a encontrada para as colónias com pigmento amarelo, é inferior à realidade, e isto, porque o desenvolvimento, nas condições de cultura utilizadas, de algumas estirpes, nem sempre se revelou fácil, sendo também o seu número na membrana filtrante influenciado pelo desenvolvimento mais rápido de outras estirpes.

Salientamos ainda, que a presença de Arthrobacter foi evidenciada em amostras colhidas na sua maioria, 8 em 10 casos, a partir de Setembro de 1976 até Janeiro de 1977, contra dois casos entre Janeiro de 1976 e Setembro de 1976.

Qual o critério para se definir a flora «própria» do manancial de uma água mineral?

— Um critério de frequência no manancial?

— Considerar-se exclusivamente como «normal» a flora Gram negativa produtora de pigmentos amarelos?

— Uma capacidade de multiplicação ou de longa sobrevivência na água do manancial uma vez engarrafada?

— Uma capacidade de desenvolvimento autotrófico?

Alguns autores aceitam como «própria» de uma água deste tipo, uma flora Gram negativo produtora de pigmentos amarelos, adaptada às condições do manancial.

Como se indicou, a flora da água que estamos a estudar, no manancial, não é unicamente constituída por germes Gram negativo produtores de colónias com pigmento amarelo em agar nutritivo.

Uma flora deste tipo existe na água, mas ao lado de outra, não pigmentada, que foi evidenciada até com maior frequência nas condições de técnica utilizadas.

Ora esta flora não pigmentada, essencialmente constituída por Pseudomonas, é, como tudo o indica, originária de infiltrações de superfície, mais ou menos recentes, ou de deficiências tecnológicas, não podendo portanto ser considerada como a flora «própria» do manancial.

Pelo que fica exposto, o critério de «frequência» não é também de aceitar.

Pelo estudo que efectuámos da água já engarrafada (ver Anexo I), pode verificar-se, que, quer a flora de pigmento amarelo, quer «outra» flora evidenciada em amostras representativas do manancial, se multiplicam na água engarrafada, podendo atingir contagens muito elevadas por mililitro. A sua sobrevivência «na garrafa» é também muito longa, encontrando-se perfeitamente viável, em muitos casos, diferentes tipos de flora ao fim de mais de um ano após o engarrafamento.

Ora é sabido, que uma flora contaminante, presente numa água quimicamente potável, industrializada, perde mais ou menos rapidamente vitalidade pela ausência de nutrientes apropriados ao seu desenvolvimento, ou porque as condições ambientes sejam desfavoráveis à sua sobrevivência. Portanto, tudo indica, que a larga multiplicação e longa sobrevivência dos tipos de flora indicados, na água engarrafada, é devida a encontrarem na água nutrientes apropriados, em quantidade suficiente, condições ambientes favoráveis, e os *factores de crescimento que lhe sejam necessários*. O rápido desenvolvimento de algumas espécies a contar da data de enchimento, reforça esta conclusão. A capacidade de desenvolvimento autotrófico parece ser o critério mais válido, isto é, seria considerada como flora «própria» de uma água mineral, toda a flora, adaptada às condições do manancial, capaz de desenvolvimento autotrófico, ou seja, germes capazes de se multiplicarem utilizando como única fonte de carbono o O_2 C ou os seus sais.

ÁGUA N.º 1

Garrafas de vidro, de 1 l de água natural

— colheita e análise no próprio dia do enchimento —

Estudámos a água no manancial; a sua flora nos aspectos qualitativo e quantitativo.

Ora a água desse manancial, vai ser extraída e submetida a um processo de industrialização, que tem como objectivo a sua distribuição por embalagens hermeticamente fechadas, que posteriormente serão comercializadas.

É sabido, que uma água proveniente de um manancial em perfeitas condições de estado higiénico e sanitário, logo de potabilidade microbiológica, pode sofrer ao longo do processo de captação e industrialização, contaminações por germes estranhos ao manancial. Condutas, bombas, depósitos, torneiras e a própria embalagem, são pontos em que pode acontecer a contaminação.

Só uma perfeita tecnologia no campo desta indústria e cuidados incansáveis de limpeza e desinfecção da maquinaria e a esterilidade das embalagens (garrafas e tampas) pode impedir essa contaminação.

Na execução deste trabalho, estudámos, através de numerosas análises, a água já engarrafada, colhida na «oficina» no próprio dia do enchimento, sendo a análise também efectuada no próprio dia desse enchimento.

Para a água em estudo, sabemos que existe um sistema de filtração, pelo que a água introduzida nas garrafas não é, sob o ponto de vista bacteriano, a água tal como a conhecemos na emergência. O presente trabalho mostra que os filtros não retêm a totalidade das bactérias.

Os sistemas de enchimento, como é conhecido, podem acumular muitas células microbianas, permitindo até, por deficiente tecnologia, o seu desenvolvimento. Espécies estranhas à água podem estar presentes na própria embalagem antes do seu enchimento.

Seguidamente, indicamos em quadros os resultados obtidos na análise de 28 amostras de água natural engarrafada, amostras constituídas por garrafas colhidas na «oficina» no próprio dia do seu enchimento e analisadas nesse mesmo dia.

Em apreciação ao quadro N.º 10, salientamos as pesquisas, em todos os casos negativas, de coliformes, Escherichia coli, Streptococcus «fecais» e Clostridium perfringens, isto é, dos indicadores de contaminação de possível origem fecal.

A pesquisa de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml, foi positiva numa amostra e seis amostras revelaram a presença de bolores.

A positividade destas pesquisas é indicadora de deficiente estado higiénico, presumivelmente das embalagens, logo de deficiente tecnologia.

A garrafa em que se evidenciou a presença de Pseudomonas aeruginosa, revelou-a no número de 6 colónias em 100 ml da água.

Análises posteriores, indicaram que a espécie Pseudomonas aeruginosa se multiplicou facilmente nessa água engarrafada, atingindo números da ordem de algumas dezenas de milhar de colónias por mililitro (ver Anexo 1, amostra n.º 57).

ÁGUA N.º 1

QUADRO N.º 9

Garrafas de vidro de 1 litro de água natural — Colheita na oficina — Análise no próprio dia do enchimento = * (1)

Número da amostra	Data da colheita e análise	N. M. P. de coliformts em 100 ml	N. M. P. de Escherichia coli em 100 ml	Pesquisa e contagem de Streptococcus «fecais» em 100 ml	Pesquisa de Clostridium perfringens em 10 ml	Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml	Pesquisa e contagem de bolores col/ml	Contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais» — col./ml					Contagem de germes «totais» em 100 ml (Membrana filtrante)	
								37° C			Temperatura ambiente		37° C/48 h+	Temperatura ambiente até aos 13/15 dias
								24 h	48 h	5/6 dias	5/6 dias	13/15 dias		
9	4/2/76	0	0	0	0	Negativa	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	n.e.	n.e.
11	12/2/76	0	0	0	0	»	1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	n.e.	n.e.
16	10/3/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	—
24	31/3/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	1 (0)	2 (0)	2 (0)	0 (0)	135 (0)
45	2/6/76	0	0	0	0	»	> 0 < 1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	93 (92)
55	16/6/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	60 (58)
57	23/6/76	0	0	0	0	Positiva 6 col/100 ml	1	—	1 (0)*	1 (0)*	3 (1)	4 (2)	54 (?)* 6	60 (?)
61	30/6/76	0	0	0	0	Negativa	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	2 (0)	9 (6)
64	7/7/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (1)	12 (12)	(p.m. 12) —
66	13/7/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	4 (0)	4 (0)	4 (0)	8 (0)	—	224 (8)
68	22/7/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	1 (0)	1 (0)	1 (0)	4 (2)	—	66 (18)
69	29/7/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	1 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	48 (0)	48 (raras < 10)
71	4/8/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
74	11/8/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	3 (2)	1 (0)	1 (0)
76	17/8/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	—	4 (3)
80	30/8/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	2 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	43 (41)
82	8/9/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (2)	4 (2)	44 (26)	94 (66)
83	15/9/76	0	0	0	0	»	> 0 < 1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (0)
87	21/9/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	7 (4)
91	28/9/76	0	0	0	0	»	> 0 < 1	0 (0)	1 (0)	2 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10 (10)
97	12/10/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
100	20/10/76	0	0	0	0	»	> 0 < 1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
103	27/10/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
108	4/11/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	—	2 (1)
113	17/11/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (1)
115	9/12/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
119	15/12/76	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	9 (9)
122	12/1/77	0	0	0	0	»	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

n.e. Pesquisa não efectuada

* Pseudomonas aeruginosa

* (1) (A água, antes do engarrafamento, passa por um **sistema de filtros)**

Entre parêntesis indica-se o número de colónias de pigmento amarelo

p.m.=pelo menos

QUADRO N.º 10

Garrafas de 1 litro de água natural colhidas na «Oficina», com enchimento e análise no próprio dia da colheita

	Em 28 análises			
	Pesquisas positivas	%	Pesquisas negativas	%
Pesquisa de coliformes em 100 ml	0	0	28	100
Pesquisa de Escherichia coli em 100 ml	0	0	28	100
Pesquisa de Streptococcus «fecais» em 100 ml	0	0	28	100
Pesquisa de Clostridium perfringens em 10 ml	0	0	28	100
Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml	1	3,57	27	96,42
Pesquisa de bolores em 2 ml	6	21,42	22	78,57

QUADRO N.º 11

Contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais»

	Contagem em 100 ml — filtração por membrana — Incubação a 37º C com prolongamento à temperatura ambiente Em 26 análises			
Tempo de incubação	Número total de leituras efectuadas	Resultados — Número total de colónias	Número de casos	%
48 horas a 37º C	22	$\geqslant 0 < 1$	10	45,45
		$\geqslant 1 < 10$	8	36,36
		$\geqslant 10 < 10^2$	4	18,18
Com prolongamento à temperatura ambiente até aos 13/15 dias	24	$\geqslant 0 < 1$	4	16,16
		$\geqslant 1 < 10$	10	41,66
		$\geqslant 10 < 10^2$	8	33,33
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	2	8,33
	Colónias com pigmento amarelo			
48 horas a 37º C, com prolongamento à temperatura ambiente até aos 13/15 dias	24	$\geqslant 0 < 1$	8	33,33
		$\geqslant 1 < 10$	10	41,66
		$\geqslant 10 < 10^2$	6	25

QUADRO N.º 12

Contagem de germes aeróbios, não exigentos, «totais»
Garrafas «Oficina»

	Contagem em 1 ml. Incubação a 37º C — Em 28 análises			
Tempo de Incubação	Número total de leituras efectuadas	Resultados — Número total de colónias —	Número de casos	%
24 horas	27	⩾ 0 < 1	27	100
48 horas	28	⩾ 0 < 1	23	82,14
		⩾ 1 < 10	5	17,85
5/6 dias	28	⩾ 0 < 1	20	71,42
		⩾ 1 < 10	8	28,57
	Colónias de pigmento amarelo			
5/6 dias	28	⩾ 0 < 1	28	100

QUADRO N.º 13

— Quadro de médias —

Garrafas «Oficina»

	Em 28 análises					
	Média das contagens em 1 ml a 37º C					
	Colónias não pigmentadas ou «outras»			Colónias de pigmento amarelo		
Tempo de Incubação	Número total de leituras efectuadas	Número total de colónias	Média col/ml	Número total de leituras efectuadas	Número total de colónias	Média col/ml
24 horas	27	0	0	27	0	0
48 horas	28	8	0,28	28	0	0
5/6 dias	28	13	0,46	28	0	0
Incubação à temperatura ambiente						
5/6 dias	28	18	0,64	28	6	0,21
13/15 dias	28	30	1,07	28	12	0,42

QUADRO N.º 14

Contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais»

Garrafas «Oficina»

	Em 28 análises			
	Contagem em 1 ml Incubação à temperatura ambiente			
Tempo de Incubação	Número total de leituras efectuadas	— Resultados — Número total de colónias	Número de casos	%
5/6 dias	28	$\geqslant 0 < 1$	19	67,85
		$\geqslant 1 < 10$	9	32,14
13/15 dias	28	$\geqslant 0 < 1$	17	60,71
		$\geqslant 1 < 10$	11	39,28
	Colónias de pigmento amarelo			
5/6 dias	28	$\geqslant 0 < 1$	23	82,14
		$\geqslant 1 < 10$	5	17,85
13/15 dias	28	$\geqslant 0 < 1$	20	71,42
		$\geqslant 1 < 10$	8	28,57

O número de amostras que revelaram a presença de bolores foi de 6 em 28 análises:

— bolores —
colónias/ml
$> 0 < 1 \rightarrow 4$ resultados
$= 1 \rightarrow 2$ »

Total $\rightarrow$ 6 resultados

Situa-se portanto o *valor médio dos casos positivos* em $> 0 < 1$ col/ml (0,66), sendo a média em relação às 28 análises (média total) de 0,14 col./ml.

— Contagem de germes aeróbios não exigentes «totais».

— **Incubação a 37º C:** nas placas com 1 ml, semeado por incorporação, as leituras às 24 horas revelaram-se sempre negativas.

Às 48 horas, evidenciaram-se colónias, sempre em baixo número ($\geqslant 1 < 10$), em 5 amostras. De salientar, que numa amostra se identificou a presença de Pseudomonas aeruginosa.

A leitura aos 5/6 dias revelou-se positiva em 8 amostras, também sempre em baixo número de colónias por mililitro ($\geqslant 1 < 10$).

Conclui-se, que, na «oficina», no próprio dia do enchimento, a água já engarrafada revelou um baixo número de colónias por mililitro, sendo, por esse motivo, importante para estudar a flora presente na garrafa ,a sua pesquisa em 100 ml da água.

Para tanto utilizámos a técnica da membrana filtrante.

Dos resultados obtidos, extraímos a conclusão de que o desenvolvimento, embora variando com as espécies presentes, foi positivo em 12 amostras, às 48 horas, em 22 leituras efectuadas e, prolongando o tempo de incuba-

ção até aos 13/15 dias à temperatura ambiente, foi positivo em 22 amostras em 24 leituras.

Não só aumenta o número de casos positivos, como o número de colónias aumenta, regra geral ,com o tempo de incubação, principalmente se as placas após o período de incubação a 37º C, forem deixadas à temperatura do laboratório.

Para as garrafas em questão, nunca se encontraram colónias de pigmento amarelo nas placas semeadas com 1 ml da água e incubadas a 37º C. A sua presença, foi, por outro lado, positiva na prova de filtração de 100 ml em 16 amostras.

É curioso constatar, que há uma grande variação numérica relativamente às colónias com pigmento amarelo, que vai desde uma colónia em 100 ml, até às 92 colónias em 100 ml, nas amostras estudadas.

Em certas amostras, as colónias de pigmento amarelo evidenciaram-se em cultura exclusiva, noutras são largamente suplantadas por outra flora, regra geral não pigmentada e essencialmente constituída por Pseudomonas. Encontraram-se ainda germes como micrococci, Bacillus, bolores, Pseudomonas aeruginosa (1 caso), que têm certamente que ver com a tecnologia do processo de industrialização.

Parece de interesse vincar, que as garrafas da água em estudo, no próprio dia do enchimento, revelaram um número de colónias de germes aeróbios, não exigentes, «totais», entre $\geqslant 0 < 1/100$ ml (quase esterilidade) e $> 200 < 300$ col/ml, número máximo encontrado.

Em esquema, indicamos as médias do número «total» de colónias e do número de colónias com pigmento amarelo, referentes aos resultados obtidos nas placas semeadas com 1 ml e 0,1 ml da água e incubadas a 37º C e à temperatura do laboratório, nos diferentes tempos de leitura, e, ainda, na membrana de filtração de 100 ml da água, com incubação a 37º C/48 horas, com prolongamento da incubação à temperatura ambiente até aos 13/15 dias.

QUADRO N.º 15

Número médio de germes aeróbios, não exigentes, «totais»

		Média do número total de colónias	Média das colónias c/ pigmento amarelo
Incubação a 37º C — Placas semeadas com 1 ml e 0,1 ml	Contagem às 24 horas	0 col/ml	0 col/ml
	» às 48 horas	0,28 col/ml	0 col/ml
	» aos 5/6 dias	0,46 col/ml	0 col/ml
Placas semeadas com 100 ml (membrana filtrante) — Média dos resultados «contáveis»	Contagem às 48 horas a 37º C	7,63 col/100 ml	1,85 col/100 ml
	Contagem após prolongamento da incubação à temperatura ambiente, até aos 13/15 dias	36,25 col/100 ml	20,75 col/100 ml
Incubação à temperatura do laboratório — Placas semeadas com 1 ml e 0,1 ml	Contagem aos 5/6 dias	0,64 col/ml	0,21 col/ml
	Contagem aos 13/15 dias	1,07 col/ml	0,42 col/ml

Numa breve apreciação a estes resultados, salientamos a ausência, em todas as análises, de colónias com pigmento amarelo nas placas semeadas com 1 ml pela técnica de incorporação no agar e incubadas a 37º C, o que já não é verdadeiro para as placas incubadas desde início à temperatura do laboratório, que as evidenciaram em 8 análises.

Para as filtrações de 100 ml por membrana, encontrou-se uma média de 1,85 colónias com pigmento amarelo após incubação a 37º C/ /48 horas, média que aumentou para 20,75 col/100 ml com o prolongamento da incubação até aos 13/15 dias à temperatura do laboratório.

A 37º C/48 horas, as colónias com pigmento amarelo foram evidenciadas em apenas três análises. Após prolongamento da incubação à temperatura ambiente, revelaram-se em 17 leituras efectuadas.

Este facto parece explicar-se pela possível presença de mais do que uma espécie de germes produtores de colónias de pigmento amarelo, umas que se desenvolveriam bem a 37º C às 48 horas, outras que prefeririam a temperatura ambiente para o seu crescimento.

Estas últimas, encontrar-se-iam na água em número largamente superior às primeiras.

QUADRO N.º 16

Flora «na garrafa», no próprio dia do enchimento

Aspecto qualitativo

	Em 26 análises	
	Número de amostras em que foram evidenciadas	%
Flora de pigmento amarelo, Gram negativo (várias espécies)	19	73,07
Flora não pigmentada Gram negativo (essencialmente Pseudomonas)	13	50
Pseudomonas aeruginosa	1	3,84
Colónia, de pigmento rosa, de coryneforme	1	3,84
«Outras» «Bacillus; micrococci...)	3	11,53

QUADRO N.º 17

ÁGUA N.º I — **Garrafas «Oficina»**

Contagem de germes não exigentes, aeróbios, «totais»

Em 100 ml — membrana filtrante — Incubação a 37º C/48 horas, com prolongamento da incubação à temperatura ambiente até aos 13/15 dias

— Média dos resultados contáveis —

Meses	Número de análises	Resultados col/100 ml	Média mensal col/100 ml	Média trimestral col/100 ml
Fevereiro 1976	— * a)	—	—	—
Março 1976	2 * b)	— 135	—	—
Abril 1976	— * a)	—	—	
Maio 1976	— * a)	—	—	
Junho 1976	4	93 60 60 9	55,5	55,45
Julho 1976	4	— 224 66 48	112,6	
Agosto 1976	4	2 1 4 43	12,5	
Setembro 1976	4	94 1 7 10	28	12,88
Outubro 1976	3	1 0 0	0,33	
Novembro 1976	2	2 1	1,5	
Dezembro 1976	2	0 9	4,5	3 * c)
Janeiro 1977	1	0	—	

* a) — Não se efectuou nenhuma prova nesse mês.
* b) — Só se considera uma das análises efectuadas.
* c) — Média referente aos meses de Dezembro e Janeiro.

Analisaram-se, no próprio dia da colheita, duas amostras da água em estudo, colhidas numa torneira depois do sistema de filtração. Indicamos os resultados em quadro.

QUADRO N.º 18

ÁGUA N.º I

— Amostras colhidas numa torneira depois do sistema de filtração —

	Em 2 análises			
	Pesquisas positivas	%	Pesquisas negativas	%
Pesquisa de coliformes em 100 ml	0	0	2	100
Pesquisa de Escherichia coli em 100 ml	0	0	2	100
Pesquisa de Streptococcus «fecais» em 100 ml	0	0	2	100
Pesquisa de Clostridium perfringens em 10 ml	0	0	2	100
Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml	0	0	2	100
Pesquisa de bolores em 2 ml	1	50	1	50

Todas as pesquisas se revelaram negativas nos volumes indicados, excepto numa análise, que revelou a presença de colónias de bolores em número de 3 col/ml.

Estas análises retiram alguma importância do facto de permitirem avaliar o grau de retenção bacteriana do sistema de filtração. A contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais», será o melhor índice para tal informação.

QUADRO N.º 19

ÁGUA N.º I

— Amostras colhidas numa torneira depois do sistema de filtração —

	Contagem em 100 ml — filtração por membrana Incubação a 37º C — 2 análises			
Tempo de incubação	Número total de leituras efectuadas	Resultados — Número total de colónias	Número de casos	%
48 horas	2	$\geqslant 10 < 100$	2	100
5/6 dias	2	$\geqslant 10 < 100$	2	100

ÁGUA N.º I

QUADRO N.º 20

Amostras colhidas numa torneira depois do sistema de filtração

Tempo de incubação	Contagem em 1 ml Incubação a 37º C — Em 2 análises Número total de leituras efectuadas	Resultados — Número total de colónias	Número de casos	%
48 horas	2	⩾ 0 < 1	1	50
		⩾ 1 < 10	1	50
5/6 dias	2	⩾ 0 < 1	1	50
		⩾ 1 < 10	1	50
	Colónias com pigmento amarelo			
5/6 dias	2	⩾ 0 < 1	1	50
		⩾ 1 < 10	1	50

QUADRO N.º 21

Tempo de incubação	Contagem em 1 ml Incubação à temperatura do laboratório — Em 2 análises Número total de leituras efectuadas	Resultados — Número total de colónias	Número de casos	%
5/6 dias	2	⩾ 1 < 10	2	100
13/15 dias	2	⩾ 1 < 10	2	100
	Colónias de pigmento amarelo			
5/6 dias	2	⩾ 0 < 1	1	50
		⩾ 1 < 10	1	50
13/15 dias	2	⩾ 0 < 1	1	50
		⩾ 1 < 10	1	50

QUADRO N.º 22

ÁGUA N.º I

Amostras colhidas numa torneira depois do sistema de filtração

	Em 2 análises					
	Média das contagens em 1 ml — Incubação a 37º C					
	Colónias não pigmentadas ou «outras»			Colónias de pigmento amarelo		
Tempo de incubação	Número total de leituras efectuadas	Número total de colónias	Média col/ml	Número total de leituras efectuadas	Número total de colónias	Média col/ml
48 horas	2	0	0	2	1	0,5
5/6 dias	2	0	0	2	1	0,5
	Incubação das placas à temperatura ambiente					
5/6 dias	2	1	0,5	2	1	0,5
13/15 dias	2	1	0,5	2	1	0,5

— Nas contagens em 100 ml da água, nas duas análises, encontrámos, respectivamente, os valores de 38 colónias (36 não pigmentadas e 2 com pigmento amarelo) e de 54 colónias (43 não pigmentadas e 11 de pigmento amarelo).

A retenção bacteriana pelo sistema de filtração não parece muito eficaz.

A primeira análise (amostra n.º 43) efectuou-se em 26-5-76; no mesmo dia, a análise de uma amostra colhida na nascente, antes do sistema de filtração, deu o resultado de 65 col/100 ml.

Logo:

Antes dos filtros	Depois dos filtros
65 col/100 ml	38 col/100 ml

A amostragem é manifestamente insuficiente para se retirarem conclusões, mas sugere uma indicação de pouca eficácia do sistema de filtração.

Os resultados «mercado», foram obtidos na análise de 28 amostras de água engarrafada «natural», e efectuadas a prazo mais ou menos longo da data de enchimento, mas nunca no próprio dia.

Algumas amostras (nove) foram colhidas no mercado, não se conhecendo portanto a data do seu enchimento e o tempo de permanência da água na garrafa.

Outras amostras (dezanove) foram colhidas na «oficina», sendo conhecida a data de enchimento. A análise destas amostras foi feita a tempos diferentes de permanência da água na garrafa, conhecendo-se portanto a idade das amostras e, para algumas, as condições ambientais em que foram conservadas.

Ao conjunto das 28 amostras atribuimos a designação de amostras «mercado».

Numa apreciação ao quadro N.º 24, salientamos a negatividde das pesquisas de coliformes, Streptococcus «fecais» e Clostridium perfringens; a evidenciação da espécie Pseudomonas aeruginosa em duas amostras, e de bolores em 5 amostras. Estes resultados permitem concluir, que as amostras estudadas não revelaram contaminação de possível origem fecal.

A presença de Pseudomonas aeruginosa e de bolores em algumas amostras, indica um mau estado higiénico dessas amostras, possivelmente com origem em deficiências da boa tecnologia.

O número de análises que revelaram a presença de bolores foi de cinco em vinte e oito análises.

Indicamos os resultados positivos encontrados:

Bolores	Pseudomonas aeruginosa
Col/ml $>0<1 \rightarrow 5$ resultados.	— 550 col/ml — 1 resultado — 11 col / 100 ml — 1 resultado

Situa-se portanto o valor médio dos resultados positivos em $>0<1$ col/ml (0,5), sendo a média total (em relação às 28 análises) de 0,09 col/ml.

QUADRO N.º 24

	Em 28 análises			
	Pesquisas positivas	%	Pesquisas negativas	%
Pesquisa de coliformes em 100 ml	0	0	28	100
Pesquisa de Escherichia coli em 100 ml	0	0	28	100
Pesquisa de Streptococcus «fecais» em 100 ml	0	0	28	100
Pesquisa de Clostridium perfringens em 10 ml	0	0	28	100
Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml	2	7,14	26	92,85
Pesquisa de bolores em 2 ml	5	17,85	23	82,14

QUADRO N.º 23

Amostras «Mercado» (Garrafas de vidro)
Amostras com data de enchimento conhecida e desconhecida

Número da amostra	Data do enchimento	Data da colheita	Data da análise	«Idade» na garrafa	N. M. P. de coliformes em 100 ml	N. M. P. de Escherichia coli em 100 ml	Pesquisa e contagem de Streptococcus «fecais» em 100 ml	Pesquisa de Clostridium perfringens em 10 ml	Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml	Pesquisa e contagem de bolores col/ml	Contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais» — col./ml					Contagem de germes «totais» em 100 ml - Membrana filtrante	
											37° C			Temperatura ambiente		37° C/48 h	Prolongamento à temperatura ambiente até aos 13/15 dias
											24 h	48 h	5/6 dias	5/6 dias	13/15 dias		
1 c)	14/1/76	14/1/76	15/1/76	1 dia	0	0	0	neg.	0	0	2 (0)	2 (0)	2 (0)	0 (0)	—	n.e.	n.e.
2	desconhecida	14/1/76	15/1/76	desconhecida	0	0	0	neg.	0	0	1890 (0)	—	3020 (760)	2450 (0)	—	n.e.	n.e.
d) 3 c)	14/1/76	14/1/76	15/1/76	1 dia	0	0	0	neg.	0	0	1 (0)	—	75 (35)	1 (0)	—	n.e.	n.e.
4 c)	21/1/76	21/1/76	22/1/76	1 dia	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	—	n.e.	n.e.
5 c)	22/1/76	22/1/76	29/1/76	7 dias	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	—	9 (9)	1 (0)	8 (6)	n.e.	n.e.
6 c)	22/1/76	22/1/76	29/1/76	7 dias	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	n.e.	n.e.
7 c)	28/1/76	28/1/76	29/1/76	1 dia	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	n.e.	n.e.
13 a)	16/2/76	18/2/76	18/2/76	2 dias	0	0	0	neg.	0	> 0 < 1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	n.e.	n.e.
14	desconhecida	18/2/76	18/2/76	desconhecida	0	0	0	neg.	0	> 0 < 1	0 (0)	0 (0)	incontável (770)	incontável (incontável)	6050 (incontável)	n.e.	n.e.
18 c)	16/2/76	16/2/76	15/3/76	28 dias	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)
22 a)	20/3/76	24/3/76	24/3/76	4 dias	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	1 (0)
25	desconhecida	31/3/76	1/4/76	desconhecida	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	—	~ 3680 (~ 3680)	2660 (2660)	incontável (incontável)	incontável (incontável)	incontável (incontável)
26	desconhecida	31/3/76	1/4/76	desconhecida	0	0	0	neg.	0	> 0 < 1	0 (0)	—	> 3800 (> 3800)~	~ 3860 > (3860)	incontável (incontável)	incontável (incontável)	incontável (incontável)
27	desconhecida	31/3/76	1/4/76	desconhecida	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	—	2570 (2570)	2450 (2450)	incontável (incontável)	incontável (incontável)	incontável (incontável)
31 a)	6/4/76	7/4/76	8/4/76	2 dias	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	—	2 (0)
32	desconhecida	7/4/76	8/4/76	desconhecida	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	—	1400 (1390)	incontável (1120)	incontável (incontável)	—	incontável (incontável)
33 a)	13/4/76	14/4/76	14/4/76	1 dia	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
34 a)	16/4/76	21/4/76	21/4/76	5 dias	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
36 a)	22/4/76	28/4/76	28/4/76	6 dias	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
37 a)	30/4/76	5/5/76	5/5/76	5 dias	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
44 a)	21/5/76	26/5/76	27/5/76	6 dias	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)	17 (13)	22 (18)
48 a)	29/5/76	2/6/76	2/6/76	4 dias	0	0	0	neg.	Positiva 11 col/100ml	0	—	277 (0)	286 (0)	183 (0)	186 (0)	* incontável (ilegível)	* incontável (ilegível)
51 a)	7/6/76	9/6/76	9/6/76	2 dias	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (4)	1 (1)	21 (21)
59	desconhecida	23/6/76	23/6/76	desconhecida	0	0	0	neg.	0	> 0 < 1	—	106 (0)	1090 (70)	~ > 4800 (0)	~ > 4800 (240)	incontável (incontável)	incontável (incontável)
67	desconhecida	15/7/76	15/7/76	desconhecida	0	0	0	neg.	0	0	—	incontável (0)	incontável (incontável)	incontável (incontável)	incontável (incontável)	incontável (incontável)	incontável (incontável)
77 a)	20/8/76	24/8/76	24/8/76	4 dias	0	0	0	neg.	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
95 b)	4/10/76	6/10/76	6/10/76	2 dias	0	0	0	neg.	0	> 0 < 1	—	850 (0)	870 (330)	1630 (210)	1720 (340)	incontável (incontável)	incontável (incontável)
111	desconhecida	10/11/76	10/11/76	desconhecida	0	0	0	neg.	Positiva 550 col/ml (incontável em 100 ml)	0	—	incontável >7000* (0)	incontável * (ilegível)	incontável (ilegível)	incontável (ilegível)	* incontável (ilegível)	* incontável (incontável)

n.e. → prova não efectuada

— Os valores apresentados entre parêntesis indicam o número de colónias com pigmento amarelo.

* presença de Pseudomonas aeruginosa

a) Amostra com data de enchimento conhecida, antes de analisada, por informação do técnico de colheitas

b) Informação obtida em data posterior à execução da análise

c) Amostras cuja análise se efectuou, propositadamente, alguns dias após a sua entrada no laboratório

d) garrafão de vidro (5 l)

QUADRO N.º 25

ÁGUA I

«Mercado»

	Contagem em 100 ml — filtração por membrana — Incubação a 37º C com prolongamento à temperatura ambiente — Em 19 análises			
Tempo de Incubação	Número total de leituras efectuadas	— Resultados — Número total de colónias	Número de casos	%
48 horas a 37º C	17	$\geqslant 0 < 1$	6	35,29
		$\geqslant 1 < 10$	2	11,76
		$\geqslant 10 < 10^2$	1	5,88
		Incontável	8	47,05
Com prolongamento à temperatura ambiente até aos 13/15 dias	19	$\geqslant 0 < 1$	5	26,31
		$\geqslant 1 < 10$	3	15,78
		$\geqslant 10 < 10^2$	2	10,52
		Incontável	9	47,36
	Colónias com pigmento amarelo			
48 horas a 37º C com prolongamento à temperatura ambiente até aos 13/15 dias	19	$\geqslant 0 < 1$	8	42,1
		$\geqslant 1 < 10$	0	0
		$\geqslant 10 < 10^2$	2	10,52
		Incontável	8	42,1
		Ilegível	1	5,26

QUADRO N.º 26

ÁGUA I — **«Mercado»**

Tempo de incubação	Número total de leituras efectuadas	— Resultados — Número total de colónias	Número de casos	%
	Contagem em 1 ml Incubação a 37º C — Em 28 análises			
24 horas	23	$\geqslant 0 \quad < 1$	20	86,95
		$\geqslant 1 \quad < 10$	2	8,69
		$\geqslant 10^3 < 10^4$	1	4,34
48 horas	21	$\geqslant 0 \quad < 1$	15	71,42
		$\geqslant 1 \quad < 10$	1	4,76
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	3	14,28
		incontável	2	9,52
5/6 dias	28	$\geqslant 0 \quad < 1$	13	46,42
		$\geqslant 1 \quad < 10$	3	10,71
		$\geqslant 10 \quad < 10^2$	1	3,57
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	2	7,14
		$\geqslant 10^3 < 10^4$	6	21,42
		incontável	3	10,71
	Colónias com pigmento amarelo			
5/6 dias	28	$\geqslant 0 \quad < 1$	15	53,57
		$\geqslant 1 \quad < 10$	2	7,14
		$\geqslant 10 \quad < 10^2$	2	7,14
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	3	10,71
		$\geqslant 10^3 < 10^4$	4	14,28
		incontável	1	3,57
		ilegível	1	3,57

Devido ao elevado número de resultados «incontável» ou «ilegível», não se apresenta um quadro com as médias das contagens, quer das colónias não pigmentadas, quer das colónias com pigmento amarelo.

QUADRO N.º 27

ÁGUA I

«Mercado»

Tempo de incubação	Número total de leituras efectuadas	— Resultados — Número total de colónias	Número de casos	%
	Contagem em 1 ml Incubação à temperatura do laboratório — Em 28 análises			
5/6 dias	28	$\geqslant 0 \quad < 1$	15	53,57
		$\geqslant 1 \quad < 10$	2	7,14
		$\geqslant 10 \quad < 10^2$	0	0
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	1	3,57
		$\geqslant 10^3 < 10^4$	6	21,42
		incontável	4	14,28
13/15 dias	24	$\geqslant 0 \quad < 1$	11	45,83
		$\geqslant 1 \quad < 10$	3	12,5
		$\geqslant 10 \quad < 10^2$	0	0
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	1	4,16
		$\geqslant 10^3 < 10^4$	3	12,5
		incontável	6	25
	Colónias com pigmento amarelo			
5/6 dias	28	$\geqslant 0 \quad < 1$	20	71,42
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	1	3,57
		$\geqslant 10^3 < 10^4$	4	14,28
		incontável	2	7,14
		ilegível	1	3,57
13/15 dias	24	$\geqslant 0 \quad < 1$	12	50
		$\geqslant 1 \quad < 10$	3	12,5
		$\geqslant 10 \quad < 10^2$	0	0
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	2	8,33
		incontável	6	25
		ilegível	1	4,16

QUADRO N.º 29

ÁGUA N.º I — A —

«Mercado»

	Com data de enchimento conhecida			
	Em 19 análises			
	Pesquisas Positivas	%	Pesquisas Negativas	%
Pesquisa de coliformes em 100 ml	0	0	19	100
Pesquisa de Escherichia coli em 100 ml	0	0	19	100
Pesquisa de Streptococcus «fecais» em 100 ml	0	0	19	100
Pesquisa de Clostridium perfringens em 10 ml	0	0	19	100
Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml	1	5,26	18	94,73
Pesquisa de Bolores em 2 ml	2	10,52	17	89,47

ÁGUA I

— A —

QUADRO N.º 28

Amostras de «idade» conhecida (19) «Mercado»

	Em 5 análises				Em 4 análises				Em 3 análises				Em 2 análises				Em 4 análises				Em 1 análise	
	com 1 dia				com 2 dias				com 4 dias				com 5 dias				com 6 e 7 dias				com 28 dias	
	Pesquisas Positivas	%	Pesquisas Negativas	%	Pesquisas Positivas	%	Pesquisas Negativas	%	Pesquisas Positivas	%	Pesquisas Negativas	%	Pesquisas Positivas	%	Pesquisas Negativas	%	Pesquisas Positivas	%	Pesquisas Negativas	%	Pesquisas Positivas	Pesquisas Negativas
Pesquisa de coliformes em 100 ml	0	0	5	100	0	0	4	100	0	0	3	100	0	0	2	100	0	0	4	100	0	1
Pesquisa de Escherichia coli em 100 ml	0	0	5	100	0	0	4	100	0	0	3	100	0	0	2	100	0	0	4	100	0	1
Pesquisa de Streptococcus «fecais» em 100 ml ...	0	0	5	100	0	0	4	100	0	0	3	100	0	0	2	100	0	0	4	100	0	1
Pesquisa de Clostridium perfringens em 10 ml	0	0	5	100	0	0	4	100	0	0	3	100	0	0	2	100	0	0	4	100	0	1
Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml ...	0	0	5	100	0	0	4	100	1	33,33	2	66,66	0	0	2	100	0	0	4	100	0	1
Pesquisa de bolores em 2 ml	0	0	5	100	2	50	2	50	0	0	3	100	0	0	2	100	0	0	4	100	0	1

QUADRO N.º 30

ÁGUA N.º I

— A —

«Mercado»

Amostras com data de enchimento conhecida

Contagem de germes aeróbios, não existentes, «totais»

Tempo de Incubação	Número total de leituras efectuadas	Resultados (n.º total de colónias)	Número de casos	%
	Contagem em 100 ml — filtração por membrana Incubação a 37º C — Em 12 pesquisas			
48 horas a 37º C	11	$\geqslant 0 < 1$	6	54,54
		$\geqslant 1 < 10$	2	18,18
		$\geqslant 10 < 10^2$	1	9,09
		incontável	2	18,18
Com prolongamento à temperatura ambiente até aos 13/15 dias	12	$\geqslant 0 < 1$	5	41,66
		$\geqslant 1 < 10$	3	25
		$\geqslant 10 < 10^2$	2	16,66
		incontável	2	16,66
	Colónias com pigmento amarelo			
48 horas a 37º C	11	$\geqslant 0 < 1$	7	63,63
		$\geqslant 1 < 10$	1	9,09
		$\geqslant 10 < 10^2$	1	9,09
		incontável	1	9,09
		ilegível	1	9,09
Com prolongamento à temperatura ambiente até aos 13/15 dias	12	$\geqslant 0 < 1$	8	66,66
		$\geqslant 1 < 10$	0	0
		$\geqslant 10 < 10^2$	2	16,66
		incontável	1	8,33
		ilegível	1	8,33

ÁGUA I

— A —

QUADRO N.º 31

«Mercado»

Amostras com data de enchimento conhecida

Contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais»

Tempo de incubação	Contagem em 1 ml — Incubação a 37º C Em 19 análises			
	Número total de leituras efectuadas	Resultados (n.º total de colónias)	Número de casos	%
24 horas	17	$\geqslant 0 < 1$	15	88,23
		$\geqslant 1 < 10$	2	11,76
48 horas	17	$\geqslant 0 < 1$	14	82,35
		$\geqslant 1 < 10$	1	5,88
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	2	11,76
5/6 dias	19	$\geqslant 0 < 1$	13	68,42
		$\geqslant 1 < 10$	3	15,78
		$\geqslant 10 < 10^2$	1	5,26
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	2	10,52
	Colónias com pigmento amarelo			
5/6 dias	19	$\geqslant 0 < 1$	15	78,94
		$\geqslant 1 < 10$	2	10,52
		$\geqslant 10 < 10^2$	1	5,26
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	1	5,26

ÁGUA N.º I

— A —

QUADRO N.º 32

«Mercado»

Amostras com data de enchimento conhecida

Tempo de incubação	Em 19 análises Média das contagens em 1 ml — 37º C					
	Colónias não pigmentadas ou «outras»			Colónias com pigmento amarelo		
	N.º total de resultados contáveis	N.º total de colónias	Média col/ml (casos contáveis)	N.º total de resultados contáveis	N.º total de colónias	Média col/ml (casos contáveis)
24 horas	17	3	0,17	17	0	0
48 horas	17	1129	66,41	17	0	0
5/6 dias	19	868	45,68	19	376	19,78

Às 48 horas não se evidenciaram colónias com pigmento amarelo, colónias, que apareceram já aos 5/6 dias, quer por formação de pigmento em colónias já visíveis, quer pelo aparecimento de outras colónias.

QUADRO N.º 33

ÁGUA N.º I

— A —

«Mercado»

Amostras com data de enchimento conhecida

Tempo de incubação	Número total de leituras efectuadas	Resultados (n.º total de colónias)	Número de casos	%
	Contagem em 1 ml — Em 19 análises Incubação à temperatura do laboratório			
5/6 dias	19	$\geqslant 0 \quad < 1$	15	78,94
		$\geqslant 1 \quad < 10$	2	10,52
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	1	5,26
		$\geqslant 10^3 < 10^4$	1	5,26
13/15 dias	16	$\geqslant 0 \quad < 1$	11	68,75
		$\geqslant 1 \quad < 10$	3	18,75
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	1	6,25
		$\geqslant 10^3 < 10^4$	1	6,25
	Colónias com pigmento amarelo			
5/6 dias	19	$\geqslant 0 \quad < 1$	18	94,73
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	1	5,26
13/15 dias	16	$\geqslant 0 \quad < 1$	12	75
		$\geqslant 1 \quad < 10$	3	18,75
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	1	6,25

ÁGUA N.º 1 **«Mercado»**

— A — Amostras com data de enchimento conhecida

Número médio de germes aeróbios, não existentes, «totais» — **Médias dos casos contáveis**

		Média do n.º total de colónias	Média das colónias com pigmento amarelo
Incubação a 37º C (Placas semeadas com 1 ml e 0,1 ml)	Contagem às 24 horas	0,17 col/ml	0 col/ml
	Contagem às 48 horas	66,41 col/ml	0 col/ml
	Contagem aos 5/6 dias*	45,68 col/ml	19,78 col/ml

* Entre as 48 h e os 5/6 dias algumas colónias que se apresentavam como não pigmentadas desenvolveram pigmento amarelo.

		Média do n.º total de colónias	Média das colónias com pigmento amarelo
Placas semeadas com 100 ml (memb. filtrante) — Média dos resultados contáveis)	Contagem às 48 horas	2,11 col/100 ml	1,55 col/100 ml
* (1) Não se consideram os resultados «incontável» ou ilegível, e 7 provas não efectuadas; daí o pouco interesse desta média.	Contagem após prolongamento da incubação, à temperatura ambiente, até aos 13/15 dias	4,7 col/100 ml	3,9 col/100 ml

		Média do n.º total de colónias	Média das colónias com pigmento amarelo
Incubação à temperatura ambiente (Placas semeadas com 1 ml e 0,1 ml)	Contagem aos 5/6 dias	95,52 col/ml	11,05 col/ml
	Contagem aos 13/15 dias	120,1 col/ml	21,93 col/ml

QUADRO N.º 34

ÁGUA N.º I — B —

«Mercado»

Garrafas com data de enchimento desconhecida

	9 Análises			
	Pesquisas Positivas	%	Pesquisas Negativas	%
Pesquisa de coliformes em 100 ml	0	0	9	100
Pesquisa de Escherichia coli em 100 ml	0	0	9	100
Pesquisa de Streptococcus «fecais» em 100 ml	0	0	9	100
Pesquisa de Clostridium perfringens em 10 ml	0	0	9	100
Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml	1	11,11	8	88,88
Pesquisa de bolores em 2 ml	3	33,33	6	66,66

Contagem de Bolores (média/ml)
- Média dos casos positivos = 0,5 col./ml ($> 0 < 1$)
- Média do conjunto das 9 análises = 0,17 ($> 0 < 1$)

QUADRO N.º 35

ÁGUA N.º I — B —

«Mercado»

Contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais»

Garrafas com data de enchimento desconhecida

	Contagem em 100 ml — filtração por membrana Incubação a 37º C — Em 7 pesquisas			
Tempo de incubação	N.º total de leituras efectuadas	Resultados (n.º total de colónias)	Número de casos	%
48 horas a 37º C	6	incontável	6	100
Com prolongamento à temperatura ambiente até 13/15 dias	7	incontável	7	100
	Colónias com pigmento amarelo			
48 horas a 37º C	6	incontável	5	83,33
		ilegível	1	16,66
Com prolongamento à temperatura ambiente até 13/15 dias	7	incontável	7	100

QUADRO N.º 36

ÁGUA N.º 1 — B —

«Mercado»

Garrafas com data de enchimento desconhecida

— Contagem de germes, aeróbios, não exigentes, «totais»

Tempo de incubação	N.º total de leituras efectuadas	Resultados (n.º total de colónias)	Número de casos	%
	Contagem em 1 ml — Em 9 análises Incubação a 37º C			
24 horas	6	$\geqslant 0 < 1$	5	83,33
		$\geqslant 10^3 < 10^4$	1	16,66
5/6 dias	9	$\geqslant 10^3 < 10^4$	6	66,66
		incontável	3	33,33
	Colónias com pigmento amarelo			
5/6 dias	9	$\geqslant 10 < 10^2$	1	11,11
		$\geqslant 10^2 < 10^3$	2	22,22
		$\geqslant 10^3 < 10^4$	4	44,44
		incontável	1	11,11
		ilegível	1	11,11

QUADRO N.º 37

«Mercado»

— B — Garrafas com data de enchimento desconhecida

Contagem de germes, aeróbios, não exigentes, «totais»

Tempo de incubação	N.º total de leituras efectuadas	Resultados (n.º total de colónias)	Número de casos	%
	Contagem em 1 ml — Em 9 análises Incubação à temperatura do laboratório			
5/6 dias	9	$\geqslant 10^3 < 10^4$	5	55,55
		incontável	4	44,44
13/15 dias	8	$\geqslant 10^3 < 10^4$	2	25
		incontável	6	75
	Colónias com pigmento amarelo			
5/6 dias	9	$\geqslant 0 < 1$	2	22,22
		$\geqslant 10^3 < 10^4$	4	44,44
		incontável	2	22,22
		ilegível	1	11,11
13/15 dias	8	$\geqslant 10^2 < 10^3$	1	12,5
		incontável	6	75
		ilegível	1	12,5

ÁGUA N.º I **«Mercado»**

— B — Amostras com data de enchimento desconhecida

Médias referentes às colónias de germes aeróbios, não exigentes, «totais»

— Médias dos casos contáveis

		Média do número total de colónias	Média das colónias com pigmento amarelo
Incubação a 37º C (Placas semeadas com 1 ml e 0,1 ml)	Contagem às 24 horas	315 col/ml	0 col/ml
	Contagem às 48 horas	—	—
	Contagem aos 5/6 dias	$\gtrsim$ 2593,33 col/ml	$\gtrsim$ 1862,85 col/ml

* Não se indicam as médias de contagem às 48 horas, por se não ter efectuado um número significativo de leituras.

Placas semeadas com 100 ml (membrana filtrante) → Não se indicam médias, pois os resultados de todas as provas efectuadas foram «incontável» ou ilegível.

		Média do número total de colónias	Média das colónias com pigmento amarelo
Incubação à temperatura ambiente (Placas semeadas com 1 ml e 0,1 ml)	Contagem aos 5/6 dias	$\gtrsim$ 3244 col/ml	$\gtrsim$ 1681,66 col/ml
	Contagem aos 13/15 dias	Não se indicam as médias, devido ao facto da esmagadora maioria dos resultados se ter revelado «incontável» ou ilegível.	

Amostras «Mercado»

Numa apreciação global aos quadros onde se indicam os resultados obtidos, salientamos os valores das contagens de germes aeróbios, não exigentes, «totais», pela amplitude da sua variação.

Tal não será de estranhar, pois, algumas amostras, foram analisadas após curta permanência da água na garrafa e outras foram-no certamente ao fim de um dilatado período. Intervêm também outros factores, sendo alguns dos principais, a temperatura a que se encontram expostas as garrafas, a flora inicialmente presente em cada uma delas, e os factores nutritivos encontrados pelas bactérias na água.

A temperatura a que se encontra a água engarrafada pode favorecer umas espécies em detrimento de outras, chegando um tipo de flora, inicialmente em menor número relativo, por uma mudança de temperatura, a suplantar largamente outra, inicialmente mais numerosa. As altas temperaturas estivais favoreceram o desenvolvimento de algumas espécies produtoras de colónias com pigmento amarelo, em desfavor de outras espécies, sobretudo não pigmentadas, que se demonstrou, pelo menos para algumas, preferirem temperaturas mais baixas, desenvolvendo-se bem mesmo a +7º C (ver Anexo 2).

As altas temperaturas determinaram também valores mais elevados nas contagens de germes «totais», valores que nunca se encontraram nos meses de temperatura ambiente mais baixa.

Consideramos portanto a temperatura a que se encontram expostas as garrafas, como um dos factores mais influentes na determinação do tipo de flora e seu número por mililitro nas águas engarrafadas.

Não devemos aqui esquecer, a extraordinária influência que têm a temperatura de incubação das placas de contagem e os prazos de incubação, nos valores das contagens e na evidenciação de diferentes espécies ou tipos de flora.

Como amostras representativas da água em estudo, «no mercado», considerámos dois grupos. Um, constituído por 9 amostras, foi efectivamente adquirido em diferentes locais, sendo a data de enchimento das garrafas desconhecida.

São as amostras n.ºs:

	Data da colheita
2	14/01/76
14	18/02/76
25	31/03/76
26	31/03/76
27	31/03/76
32	7/04/76
59	23/06/76
67	15/07/76
111	10/11/76

Para este grupo, as contagens de germes «totais», aos 5/6 dias, nas condições indicadas, foram sempre $> 10^3$ col/ml, ou mesmo «incontável», tendo algumas amostras revelado uma flora de pigmento amarelo em cultura aparentemente pura nas condições da pesquisa.

Estes elevados valores por mililitro, não foram encontrados no outro grupo, constituído por garrafas colhidas na «oficina» mas cuja análise não foi efectuada no próprio dia do enchimento.

Para todas estas amostras, a data de enchimento era conhecida, quer por informação do técnico de colheitas, obtida junto da empresa, quer por, propositadamente, termos deixado decorrer, antes de procedermos à sua análise, prazos variáveis. Assim, quando se efectuou a análise de cada uma das amostras, era conhecido o tempo de permanência da água na garrafa. Eram também conhecidas as condições de conservação das amostras, no laboratório, à temperatura ambiente deste — que se situa, em média, de Outubro-Novembro a Abril-Maio, abaixo de 20º C, subindo, nos meses mais quentes, para temperaturas médias superiores a 20º C, embora com apreciáveis variações diárias — e expostas à luz indirecta.

Este grupo de 19 amostras revelou uma percentagem muito elevada de contagens de germes «totais» $\geqslant 0 < 10$ col/ml o que contrasta com os resultados obtidos para o outro grupo, que, como se indicou, foram na sua totalidade $> 10^3$ col/ml (sendo muitos resultados «incontável» em 1 ml), aos 5/6 dias de incubação.

Encontramos explicação para este facto na experiência colhida ao longo do trabalho (ver Anexo 1) e atribuímo-la:

1) o grupo de amostras colhidas no mercado, cuja data de enchimento era desconhecida, foi certamente submetida à análise após um longo período de permanência na garrafa, o que explica o número muito elevado de colónias/ml, sendo de atribuir a supremacia de colónias de pigmento amarelo em relação a colónias não pigmentadas, às condições de armazenagem, e à sua possível melhor adaptação para sobrevivência na água por um longo período de tempo. Como se indicou, as temperaturas mais elevadas favorecem a prazo a flora do pigmento amarelo;

2) o grupo constituído por amostras com data de enchimento conhecido (19 amostras) foi submetido à análise em 18 casos, no prazo de 1 a 7 dias a contar da data de enchimento, com conservação da maior parte das amostras, devido à época do ano, a temperaturas médias bastante inferiores a 20º C.

A data da instalação de um sistema de filtração da água, entre a emergência e o local de engarrafamento também possivelmente terá contribuído para tão acentuada variação nos resultados obtidos.

Nota — Para a execução da parte do presente trabalho que consistiu no estudo da evolução da flora «na garrafa» ao longo de aproximadamente 1 ano (ver Anexo1), tivemos como factor desfavorável de interpretação dos resultados obtidos, o facto, de, pela abertura e agitação das garrafas, se introduzir na água respectiva, uma certa quantidade de oxigénio.

Tínhamos assim, um factor considerável de afastamento entre as condições de estudo e as condições reais no momento da primeira análise da água de uma garrafa aberta propositadamente para o efeito.

No entanto, os resultados obtidos na primeira análise de numerosas águas engarrafadas («mercado») com data de enchimento desconhecida, revelaram a presença de altos números de bactérias habitualmente encontradas nas garrafas abertas e estudadas ao longo de dilatado período de tempo.

ÁGUA N.º I

— Apreciação comparada dos resultados obtidos para os **diferentes tipos de amostras** considerados

A — Pesquisa e contagem de germes indicadores de contaminação de possível origem fecal.

1) Pesquisa e contagem de coliformes em 100 ml da água

a) Na emergência — foi positiva em duas análises e negativa em 23;

b) nas garrafas colhidas na oficina e analisadas no próprio dia do seu enchimento (Garrafas «Oficina») — foi sempre negativa nas vinte e oito análises efectuadas;

c) nas garrafas «mercado» — foi sempre negativa (28 análises).

2) Pesquisa e contagem de Escherichia coli em 100 ml da água

a) Na emergência — foi positiva numa análise e negativa em vinte e quatro;

b) nas garrafas «Oficina» — foi sempre negativa (nas 28 análises);

c) nas garrafas «mercado» — foi sempre negativa (nas 28 análises).

3) Pesquisa e contagem de Streptococcus «fecais» em 100 ml

a) Na emergência — foi positiva em duas análises e negativa em vinte e três;

b) nas garrafas «Oficina» — foi sempre negativa (28 análises);

c) nas garrafas «mercado» — foi sempre negativa (28 análises).

4) Pesquisa de Clostridium perfringens em 10 ml

a) Na emergência — foi sempre negativa (nas 25 análises);

b) nas garrafas «Oficina» — foi sempre negativa (nas 28 análises);

c) nas garrafas «mercado» — foi sempre negativa (em 28 análises).

B — Pesquisa e contagem de germes indicadores de deficiente estado higiénico

5) Pesquisa e contagem de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml

a) Na emergência — foi sempre negativa (nas 25 análises);

b) nas garrafas «Oficina» — foi positiva numa análise e negativa em vinte e sete;

c) nas garrafas «mercado» — foi positiva em duas análises e negativa em vinte e seis.

6) Pesquisa e contagem de bolores em 2 ml

a) Na emergência — foi positiva em 9 análises e negativa em 16;

b) nas garrafas «Oficina» — foi positiva em 6 análises e negativa em 22;

c) nas garrafas «mercado» — foi positiva em 5 análises e negativa em 23.

7) Contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais»

Em 1 ml, a 37º C, às 24 horas de incubação

a) Na emergência — foi positiva numa contagem (1 col/ml) e negativa em 14. Ausência de colónias com pigmento amarelo;

b) nas garrafas «Oficina» — foi sempre negativa, $\geqslant 0 < 1$, nas 27 contagens;

c) nas garrafas «mercado» — foi positiva em 3 contagens e negativa em 20:

$$\text{contagens positivas} \begin{cases} 2 — \geqslant 1 \quad < 10 \\ 1 — \geqslant 10^3 < 10^4 \end{cases}$$

Ausência de colónias com pigmento amarelo.

Em 1 ml, a 37º C, às 48 horas de incubação

a) Na emergência — foi positiva em 12 contagens e negativa em 11. Ausência de colónias com pigmento amarelo;

b) nas garrafas «Oficina» — foi positiva em 5 contagens e negativa em 23. Ausência de colónias com pigmento amarelo;

c) nas garrafas «mercado» — foi positiva em 6 contagens e negativa em 15:

$$\text{contagens positivas} \begin{cases} 1 — \geqslant 1 \quad < 10 \\ 3 — \geqslant 10^2 < 10^3 \\ 2 — \text{«incontável»} \end{cases}$$

Ausência de colónias com pigmento amarelo.

Em 1 ml, a 37º C, aos 5/6 dias de incubação

a) Na emergência — foi positiva em 15 contagens e negativa ($\geqslant 0 < 1$) em 10. Como valor máximo encontrou-se o resultado de 43 col/ml.

Evidenciaram-se colónias com pigmento amarelo em 3 contagens e verificou-se a sua ausência em 22;

b) nas garrafas «Oficina» — foi positiva em 8 contagens e negativa ($\geqslant 0 < 1$) em 20. Todas as contagens se enquadram em $\geqslant 1 < 10$ col/ml.

Verificou-se a ausência de colónias com pigmento amarelo nas 28 contagens;

c) nas garrafas «mercado» — foi positiva em 15 contagens e negativa ($\geqslant 0 < 1$) em 13. Salienta-se que 9 contagens são $> 10^3$ col/ml.

Evidenciaram-se colónias com pigmento amarelo em 12 contagens, com um valor $> 10^3$ col/ml em 5 análises.

— Apreciação à contagem de germes aeróbios, não existentes, «totais», em 1 ml da água, com incubação a 37º C.

Alguns autores, consideram importante, para um manancial profundo de uma água de mesa ou mineral, a contagem de germes em agar nutritivo às 24 horas $\pm$ 1 hora após incubação a 37º C, na água colhida na emergência, portanto representativa do manancial. Segundo eles, o aparecimento de colónias de diâmetro superior a 1 mm, naquele prazo e a 37º C, significaria, que o germe que deu origem à colónia ou colónias, seria proveniente de um animal de sangue quente, pois teria o seu sistema enzimático adaptado àquela temperatura.

Não aceitariam, na apreciação da água em causa, a presença de qualquer colónia com as características indicadas.

Outros autores, consideram esta exigência demasiado rígida, e, para apreciação da água, valorizam mais a leitura conjunta de vários parâmetros, fazendo geralmente a contagem de germes aeróbios «totais» a 37º C/48 horas/ml e aos 5 dias/20-22º C/ml. Nesta opção, apenas se admitiriam, na emergência, colónias de bactérias «habituais» à água, perto do seu número anual médio, ou, não sendo o caso, um número de colónias muito baixo (< 10 col/ml), na condição de todos os outros índices, quer de estado sanitário, quer de estado higiénico da água, serem favoráveis.

Este considerando explica o motivo porque efectuámos, no decorrer do trabalho, leituras às 24 e às 48 horas. Para estudo, prolongámos a incubação até aos 5/6 dias a 37º C e depois à temperatura ambiente, o que se revelou útil.

Globalmente, podemos verificar, que, em nenhum caso, apareceram a 37º C, colónias com pigmento amarelo até às 48 horas de incubação, tanto para as amostras colhidas na emergência, como para as garrafas «Oficina» ou «mercado». Isto é especialmente significativo para as amostras «mercado», onde, prolongando a incubação, em algumas delas se evidenciaram colónias com pigmento amarelo em número muito elevado.

Indicámos, em quadro, os valores das contagens aos 5/6 dias de incubação, o que não significa, que se não tenham efectuado contagens aos 3 e 4 dias de incubação a 37º C.

Os seis dias foram o tempo limite tolerado pelas placas na estufa, sem que uma excessiva perda de humidade do agar prejudicasse gravemente o desenvolvimento bacteriano.

Em muitos casos, sobretudo se em número elevado por ml, evidenciaram-se colónias com pigmento amarelo às 72 horas, ainda que com dimensões muito pequenas.

Às 96 horas, as colónias de pigmento amarelo capazes de se desenvolverem a 37º C, mostraram-se já bem visíveis, pelas dimensões e pela pigmentação já patenteada.

Na impossibilidade de se prolongar a incubação a 37º C, deixando as placas à temperatura ambiente e expostas à luz indirecta ou na obscuridade, verificámos, que o número de colónias, **sobretudo as pigmentadas de amarelo**, aumentava, em geral, substancialmente até aos 13/15 dias a contar da data da sementeira, assim como aumentavam as suas dimensões e a intensidade da pigmentação.

Esta observação está na origem da opção de efectuarmos as contagens, no decorrer do estudo referente à evolução da flora «na garrafa», aos 13/15 dias de incubação à temperatura ambiente a contar da sementeira, após a incubação a 37º C.

A contagem às 24 e 48 horas a 37º C, na emergência, dá indicações aproveitáveis para avaliação do estado higiénico da água.

O prolongamento da incubação, quer a 37º C, quer à temperatura ambiente, é **muito útil** para o estudo da flora da água.

Após a execução do presente trabalho, pensamos que o **estudo** da flora «habitual» ou «própria» do manancial, deveria ser feito com incubação das placas de contagem à temperatura aproximada da água no manancial, isto é, para a água em estudo, à temperatura de

~ 27º C. Isso previlegiaria certamente a flora adaptada às condições do manancial, para um rápido desenvolvimento em relação a uma possível competição com alguma flora contaminante.

Continuando a apreciação das contagens a 37º C, em 1 ml, evidenciamos, que, tanto para as amostras na emergência, como para as garrafas, o número «total» de colónias aumenta até aos 5/6 dias, assim como o número de contagens positivas, isto é, > 1 col/ml.

Às 24 horas, o número de contagens negativas (⩾ 0 < 1 col/ml), revelou-se muito importante; a esmagadora maioria.

Às 48 horas, o número de contagens positivas é superior ao encontrado às 24 horas, e, até aos 5/6 dias, aumenta ainda aquele número, aumentado, nos casos positivos, também o número de colónias.

O valor da prova de contagem de germes «totais» a 37º C, não é idêntico para o manancial ou para as garrafas «Oficina» e «mercado»; ou melhor, as indicações obtidas podem ser interpretadas de forma diferente.

Na emergência, como se disse, dá indicações quanto ao estado higiénico da água no manancial, ou quanto a possíveis deficiências no sistema de captação.

Nas garrafas «Oficina», já poderá dar indicações quanto ao estado higiénico do sistema de industrialização (maquinaria, canalizações, depósitos, torneiras) ou das próprias embalagens («garrafas» e tampas).

Afirmamos aqui a importância do controlo de esterilidade destas.

Nas garrafas «mercado», dado o possível desenvolvimento de bactérias na água, o aspecto quantitativo torna-se de menor significado, interessando sobretudo o aspecto qualitativo, isto é, o ou os tipos de flora presentes.

——//——

— Contagem de germes aeróbios não exigentes «totais», a 37º C, em **100 ml** — (Membrana filtrante em agar nutritivo).

Às 48 horas de Incubação:

a) Na emergência — foi positiva em todas as leituras, isto é, em 21 das 24 provas efectuadas.

Salientamos 3 análises com resultados «incontável».

A média dos resultados contáveis foi de ~ 71,05 col/100 ml, o que daria a média de < 1 col/ml da água.

Verifica-se que não há uma correspondência perfeita entre os resultados obtidos na prova da filtração de 100 ml por membrana e os encontrados na contagem em 1 ml, em placa, nas mesmas condições de temperatura, 37º C, ao fim de idênticos períodos de incubação, embora a margem proporcional de afastamento dos resultados seja regra geral aceitável.

Evidenciamos ainda um resultado em que, às 48 horas, apareceram colónias com pigmento amarelo já bem desenvolvidas. Como nas restantes análises não se evidenciaram colónias com pigmento amarelo, às 48 horas, em 100 ml, colónias que só apareceram após uma incubação mais prolongada, temos de concluir tratar-se de uma espécie adaptada a temperaturas elevadas.

b) Nas garrafas «Oficina» — foi positiva em 12 contagens e negativa (> 0 < 1 col/ /100 ml) em 10 das 22 leituras efectuadas. Não se efectuaram duas provas.

Salientamos a presença, em três contagens, de colónias com pigmento amarelo, numa delas em cultura aparentemente pura.

A média dos resultados «contáveis» (todas as leituras efectuadas) foi de 7,63 col/100 ml, ou seja, 0,07 por mililitro da água.

Nota — Tratando-se de um manancial em que a média de germes «totais», como vimos, é < 1 col/ml, é indispensável, para estudo qualitativo da flora, a pesquisa em 100 ml da água.

Não se poderá estabelecer uma comparação linear entre os resultados obtidos para o manancial e para as garrafas «Oficina» no caso da água em estudo, pela existência, intercalado entre o local da colheita das amostras na emergência e o dispositivo de enchimento das garrafas, de um sistema de filtros.

Quanto a estes, é evidente que a sua capacidade de retenção bacteriana não é total. Acresce ainda, que a água, depois da passagem pelos filtros, poderá receber germes em pontos da cadeia de industrialização possivelmente não atingidos pelas desinfecções.

c) Nas garrafas «mercado» — efectuaram-se 17 contagens em 19 provas.

A contagem foi positiva em 11 das 17 contagens e negativa (> 0 < 1 col/100 ml) em 6.

Aqui intervém o factor tempo ou «idade» da água na garrafa, e as suas condições de conservação, não sendo de estranhar, que, a par de seis resultados negativos e de três resultados com um baixo número de colónias, se tenham revelado 8 resultados «incontável», sem dúvida devidos à multiplicação das bactérias na água engarrafada, tanto mais, que nas garrafas «Oficina» nenhum resultado «incontável» foi evidenciado, sendo a contagem máxima obtida, de 54 col/100 ml da água.

——//——

Contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais» em 100 ml (membrana filtrante em agar nutritivo), após incubação a 37º C/48 horas com prolongamento da incubação à temperatura ambiente até aos 13/15 dias

Já indicámos o motivo porque optámos por uma leitura ao fim deste esquema de incubação. Em resumo, reafirmamos, que entre a incubação a 37º C e após um prolongamento da incubação à temperatura ambiente, se verifica frequentemente, um muito significativo aumento do número de colónias, sobretudo pelo aparecimento de colónias com pigmento amarelo, que não se desenvolvem a 37º C, ou só o fariam com grande dificuldade.

Esta é outra indicação, que leva à ideia de que as colónias com pigmento amarelo observadas no estudo desta água, pertencem a espécies diferentes.

8) Contagem de germes aeróbios não exigentes «totais»:

Incubação à temperatura ambiente; contagem em 1 ml

Aos 5/6 dias de incubação —

a) Na emergência: foi positiva em 20 das 25 provas. Em 22 provas a contagem situou-se em $\geqslant 0 < 10$ col/ml, havendo duas contagens $> 10^2 < 10^3$.

Comparando com as contagens obtidas na incubação a 37º C, poderemos afirmar, que o número de **contagens positivas** foi muito superior na incubação à temperatura ambiente; frequentemente, para uma dada amostra, o **número de colónias** também foi superior na incubação à temperatura ambiente; mas, amostras houve, em que aconteceu o inverso, isto é, a contagem de colónias/ml a 37º C, mesmo às 48 horas, foi superior à contagem nas placas aos 5/6 dias à temperatura ambiente. Nalguns casos a contagem foi positiva a 37º C e negativa à temperatura do laboratório, e vice-versa.

Isto parece indicar a presença de germes adaptados a 37º C e de germes melhor adaptados à temperatura ambiente.

Estas observações são verdadeiras tanto para o conjunto das colónias, como para as que desenvolvem pigmentos amarelos.

Aos 5/6 dias, à temperatura ambiente, evidenciaram-se colónias de pigmento amarelo em 5 análises. Comparando os resultados destas 5 análises com a respectiva leitura aos 5/6 dias a 37º C, verificamos, que, em 3 análises, se encontraram colónias com pigmento amarelo à temperatura ambiente, colónias que não se evidenciaram a 37º C. Inversamente, as placas de 37º C/5/6 dias revelaram as colónias com pigmento amarelo em 2 amostras, sendo a sua evidenciação negativa à temperatura ambiente.

b) Garrafas «Oficina» — em 28 provas verificaram-se 9 contagens positivas, todas em $\geqslant 1 < 10$ col/ml, e 19 negativas ($\geqslant 0 < 1$ col/ml).

Como já indicámos, não se pode estabelecer uma comparação linear entre os resultados na emergência e nas garrafas «Oficina», devido à existência do sistema de filtros.

É notável, que das 18 colónias encontradas na totalidade das contagens à temperatura ambiente aos 5/6 dias, seis serem colónias de pigmento amarelo; e, tanto mais, porque em nenhuma contagem a 37º C, se evidenciou esse tipo de colónias.

Quer dizer, nas garrafas «Oficina», não apareceram germes com pigmento amarelo em 1 ml a 37º C, germes que aparecem, em número significativo relativamente à totalidade das colónias, à temperatura ambiente.

c) Garrafas «mercado» — foi positiva em 13 contagens e negativa ($\geqslant 0 < 1$ col/ml) em 15. Salientamos a enorme variação nos resultados evidenciados, com 10 contagens $> 10^3$ col/ml, e 15 contagens $\geqslant 0 < 1$ col/ml.

Esta variação é compreensível pelos motivos já expostos.

Evidenciaram-se colónias com pigmento amarelo em apenas sete contagens. Ao contrário do que se observou para as garrafas «ofi-

cina», encontraram-se na incubação a 37º C/ /5/6 dias, mais casos positivos, 12, do que à temperatura ambiente.

Pensamos, que, na «garrafa», coexistem espécies produtoras de pigmento amarelo e outros germes que preferem a temperatura de 37º C para o seu desenvolvimento, com espécies que preferem a temperatura ambiente, mais baixa. Consoante a análise é efectuada numa fase de supremacia de uma ou outra flora, o que é, entre outros factores, influenciado pela temperatura de conservação da «garrafa», assim há um melhor, ou mesmo exclusivo, desenvolvimento na incubação às diferentes temperaturas indicadas.

Salientamos, que, em três amostras com contagem $> 10^3$ col/ml, as colónias evidenciadas foram na totalidade colónias de pigmento amarelo, em cultura aparentemente pura.

Incubação à temperatura ambiente; contagem em 1 ml

Aos 13/15 dias de incubação

a) Na emergência: em 22 leituras, 21 contagens foram positivas e uma foi negativa ($\geqslant 0 < 1$ col/ml).

Em 17 casos, a contagem situou-se em < 10 col/ml.

Salientamos que em relação à leitura aos 5/6 dias, em 16 casos se verificou um aumento no número «total» de colónias.

Em relação às colónias com pigmento amarelo, aos 13/15 dias encontraram-se 9 contagens positivas, contra 5 aos 5/6 dias.

Houve aumento do número deste tipo de colónias entre os 5/6 dias e os 13/15 dias, em pelo menos 7 casos.

Em 3 casos, a presença de colónias com pigmento amarelo, negativa aos 5/6 dias, foi evidenciada aos 13/15 dias.

b) Nas garrafas «oficina» — em 28 contagens, 17 foram negativas ($\geqslant 0 < 1$ col/ml) e 11 positivas.

Todos os casos positivos se situaram em < 10 col/ml.

Em relação à leitura aos 5/6 dias, o número de colónias aumentou em 7 análises e manteve-se estacionário em 21 análises. Como se indicou, nestas 21 leituras, 17 foram sempre negativas.

Quanto à evidenciação de colónias com pigmento amarelo, ela verificou-se em 8 análises contra 5 na leitura aos 5/6 dias. Em 5 casos, o número de colónias pigmentadas de amarelo aumentou entre a leitura aos 5/6 dias e a leitura aos 13/15 dias, mantendo-se estacionário em 3 casos positivos.

O número máximo de colónias com pigmento amarelo, evidenciado em 1 ml, foi de 2.

Salientamos que se revelaram colónias com pigmento amarelo, nas placas incubadas à temperatura ambiente, em 8 análises, quando, em nenhum caso, se evidenciaram nas placas com 1 ml incubadas a 37º C. Isso já não se verificou na contagem em 100 ml, nem em comparação com idêntica pesquisa na emergência, pelo que concluímos haver uma diminuição sensível, embora não total, dos germes produtores de colónias com pigmento amarelo adaptados a 37º C, em relação aos que preferem temperaturas mais baixas, após passagem da água pelo sistema de filtração e pelos mecanismos de industrialização.

c) Nas garrafas «mercado»: salientamos a extrema variação dos resultados. Pelo menos em 10 casos as contagens foram $> 10^3$ col/ /ml; 11 casos foram negativos ($\geqslant 0 < 1$ col/ml) e, em 3 casos, enquadram-se em $\geqslant 1 < 10$ col/ml.

Os motivos que, em nossa opinião, explicam esta variação já foram expostos.

Estamos aqui já confrontados com a evolução da flora «na garrafa», e com todos os factores que nela podem influir.

Quanto às colónias com pigmento amarelo, o seu número aumentou sensivelmente entre a leitura aos 5/6 dias e a leitura aos 13/15 dias. Em algumas análises, as colónias de pigmento amarelo não se revelaram aos 5/6 dias, mas foram evidenciadas aos 13/15 dias.

Em anotação, indicamos, que, quando em número muito elevado por mililitro numa placa de agar nutritivo, as colónias com pigmento amarelo parecem evidenciar um desenvolvimento mais fácil, do que quando o seu número por mililitro é muito baixo.

Parece haver como que uma «ajuda» mútua para o desenvolvimento, certamente através da elaboração de factores de crescimento possivelmente necessários a algumas espécies.

A — **Bases de apreciação microbiológica para um manancial de uma água a industrializar.**

Para uma água como a que estamos a considerar, deverá exigir-se:

1 — ausência de germes patogénicos;
2 — ausência de coliformes em 100 ml;
3 — ausência de Escherichia coli em 100 ml;
4 — ausência de Streptococcucs «fecais» em 100 ml;
5 — ausência de Clostridium perfringens em 10 ml ou de clostridium sulfito-redutores em 100 ml;
6 — ausência de Bacteriófagos «fecais» não específicos ou polivalentes em 50 ml;
7 — ausência de colónias com diâmetro superior a 1 mm em agar nutritivo às 24 horas ± 1 hora de incubação;
8 — estabilidade da flora «normal» do manancial, apreciada quer quantitativa quer qualitativamente, com ausência de variações significativas do número médio de colónias em agar nutritivo, com incubação a 20-22º C/5 dias, ao longo do ano (com controlo do manancial pelo menos nas quatro estações e após fenómenos como inundações, degêlos, grandes chuvas);
9 — um número de germes aeróbios, não exigentes, «totais», em agar nutritivo a 37º C/48 horas, no máximo < 10 col/ml.

Comentário a este critério de apreciação:

a) a ausência de germes patogénicos deve ser absoluta no manancial;

b) a presença de coliformes em número significativo (n.m.p. > 10/100 ml) indicaria contaminação de possível origem fecal, abaixo deste número, indicaria sempre contaminação de superfície embora não obrigatoriamente de origem fecal, pelo que se exige a sua ausência em 100 ml;

c) a presença de Escherichia coli apenas confirma a gravidade da contaminação, que, neste caso, será sempre considerada de origem fecal (portanto a presença de coliformes com ausência de Escherichia coli poderá significar contaminação superficial sem origem fecal, se o seu número mais provável em 100 ml for < 10).

Assim, para uma água a industrializar, não se admitirá a presença de coliformes, pois mesmo que não signifiquem contaminação de origem fecal, indicam uma contaminação de «superfície» e portanto uma má protecção do manancial.

A ausência de E. coli é sempre de exigir pois significará contaminação de origem fecal;

d) a presença de Streptococcus «fecais» não é de admitir.

Mesmo em baixo número, em 100 ml, não tendo, na ausência de outros germes indicadores, o significado taxativo de contaminação de origem fecal, revelam pelo menos uma infiltração de superfície, que poderá ser mais ou menos antiga, dada a grande resistência destes germes;

e) a presença de Clostridium sulfito-reductores em 5 ml ou por exemplo 1 ml dá a certeza de que a água está poluída.

Exige-se em certas legislações internacionais a ausência de Clostridium perfringens em 10 ml ou de Clostridium sulfito-reductores em 100 ml;

f) a pesquisa de bacteriófagos «fecais» não específicos em 50 ml, deverá ser feita regularmente após grandes chuvas ou inundações na região que abastece o caudal, ou, se for caso disso, após o degêlo, e pelo menos uma vez em cada estação do ano. Fora estes casos é dispensável.

O aparecimento destes bacteriófagos no manancial, funciona como um sinal de alarme. Deverá então proceder-se à colheita de várias e sucessivas amostras para análise, a intervalos regulares. É frequente aparecerem os outros germes indicadores de contaminação fecal ao fim de 5/6 dias após a evidenciação dos bacteriófagos «fecais».

Cabe aqui indicar, que é útil ter presente, para a apreciação, uma «noção de associação»; por exemplo:

— { presença de coliformes em pequeno número + presença de bacteriófagos «fecais» = contaminação de origem fecal;
{ (a sua presença isolada não é concludente)

— presença de Klebsiella + Streptococcus «fecais» = contaminação fecal

— presença de Klebsiella, mas ausência de Streptococcus «fecais» = não concludente;

g) um manancial subterrâneo deverá ter assegurada uma boa protecção de superfície.

A determinação do «número médio» de bactérias aeróbias em agar nutritivo com incubação a 20-22° C/5 dias, dá indicações seguras sobre essa protecção. Em águas subterrâneas bem protegidas, o que é importante é a evolução da sua flora; flora que deve ser estável ao longo do ano. Em águas de superfície há variações. Após uma chuva, o número de germes aumenta sempre, diminuindo depois por diluição.

Para o manancial subterrâneo, a presença no agar nutritivo às 24 horas ± 1 hora a 37° C, de qualquer colónia bem desenvolvida, terá o significado de contaminação «banal» da água; a **presença regular** de colónias deste tipo não deverá admitir-se.

Como se afirmou, o n.º **médio** de colónias da água do manancial subterrâneo, obtido em contagem em agar nutritivo após 5 dias de incubação a 20-22° C é importante.

Deve manter-se constante (sem significativos afastamentos) ao longo do ano (nas 4 estações) e mesmo após chuvas intensas, inundações ou degêlos. O aspecto qualitativo (espécies) não deverá também variar significativamente.

A flora do manancial deve ser estudada nas placas de agar nutritivo incubadas a 20-22° C, temperatura de incubação que deverá sempre ser utilizada no protocolo de análise. Aparecem em geral germes pigmentados (pigmento carotenóide amarelo) que devem ser contados. Deverá tomar-se conhecimento dos sais minerais dominantes, pois influem no tipo de flora «normal».

O aparecimento **brusco** de outras bactérias que não as da flora «habitual», por exemplo Pseudomonas não pigmentadas ou fluorescens, é sinal de que surgiu uma contaminação de superfície.

Como se indicou o n.º médio de germes no manancial não deve revelar oscilações significativas. Se se mantiver estável, é porque o manancial está bem protegido.

É importante vincar, que não deve sobretudo verificar-se uma variação do número médio (e qualidade) de germes, entre a estação seca e a das chuvas.

A contagem de bolores na água é útil, pois reforça a ideia de boa protecção ou não do manancial, assim como da tecnologia da captação.

—— // ——

B — **Critério para apreciação das águas engarrafadas**

Deverá exigir-se:

1 — a ausência de germes patogénicos;

2 — a ausência de coliformes em 100 ml;

3 — a ausência de E. coli em 100 ml;

4 — a ausência de Streptococcus fecais em 100 ml;

5 — a ausência de Clostridium perfringens em 10 ml ou sulfito-reductores em 100 ml.

O número de colónias/ml em agar nutritivo é menos importante do que o seu aspecto qualitativo para apreciação do estado higiénico da água.

O que interessa saber, é se as colónias pertencem ou não à flora «habitual» do manancial, ou seja, é importante a comparação da flora encontrada nas garrafas, independentemente do seu número, com a flora própria da água do manancial. Sabe-se que a flora habitual deste, pode multiplicar-se na água engarrafada.

Havendo um processo de industrialização, que pode possibilitar contaminações de várias origens (maquinaria, canalizações, garrafas, tampas, pessoal, etc.) interessa evidenciar germes indicadores de má tecnologia e de mau estado higiénico da água, germes não pertencentes à flora habitual do manancial, como Pseudomonas aeruginosa e bolores.

Não será de admitir a presença de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml. A presença de bolores * (1) ou colónias de germes não pertencentes à flora própria do manancial em 1 ml, não será de admitir para além da margem de tolerância que legalmente exista. Todos estes germes indicam ou reforçam a ideia de mau estado higiénico da água. São indicadores de má tecnologia.

* (1) A legislação espanhola exige a ausência de bolores em 100 ml da água engarrafada.

A técnica utilizada para a pesquisa e contagem da flora aeróbia, não exigente, «total», presente na água, é muito importante.

Sendo constante o factor meio de cultura, o agar nutritivo simples, verifica-se a influência muito marcada dos factores temperatura e tempo de incubação das placas de contagem.

Para a água em estudo, utilizámos, de início, e sempre que nos foi possível, a incubação das placas a 37º C, com leituras às 24 horas e às 48 horas e incubação de outro grupo de placas à temperatura ambiente com leitura aos 5 dias (sempre que possível). A escolha destes parâmetros baseou-se:

incubação a 37º C — a) leitura às 24 horas — o desenvolvimento de colónias com um diâmetro apreciável (> 1 mm), nestas condições, indica a presença de bactérias com um sistema enzimático adaptado àquela temperatura, logo suspeitas de serem de origem superficial recente, e, mais propriamente, de provirem de um animal de sangue quente. Num manancial profundo a presença destes germes, alertará para uma possível infiltração de superfície, obrigando à pesquisa atenta e repetida em sucessivas análises, de outros indicadores de contaminação.

Para o manancial, portanto, a informação dada por esta técnica, funcionaria como um sinal de alarme, no campo do **estado sanitário** da água profunda.

A mesma informação, obtida em amostras colhidas já nos depósitos ou garrafas, na ausência de outros parâmetros de contaminação cairia antes no campo do estado higiénico da água;

b) leitura e contagem às 48 horas — esta técnica é a habitualmente utilizada para a contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais», em águas profundas ou de abastecimento, desinfectadas ou não.

É um indicador do estado higiénico da água. Os valores de contagem obtidos são importantes para a classificação de uma água sob o ponto de vista da potabilidade bacteriológica. A informação dada por esta técnica tem reduzido valor no campo da apreciação do estado sanitário da água, quando considerada isoladamente em relação aos outros indicadores de contaminação constantes do protocolo da análise bacteriológica.

Para uma água a industrializar, pressupostamente merecedora da classificação de bacteriologicamente pura, o número de colónias às 48 horas a 37º C, deverá ser inferior a 10 colónias/ml.

— Incubação à temperatura ambiente aos 5 **dias** — (mais exactamente a incubação deverá efectuar-se a uma temperatura precisa (20--22º C).

Esta técnica dá uma ideia da flora mesófila «baixa» presente na água. Dá informações úteis para o estudo da flora «habitual» do manancial, e é sobretudo importante para o seu controlo bacteriológico de rotina, pois permite evidenciar alterações súbitas qualitativas e quantitativas dessa flora, que, como é sabido, não se deve afastar significativamente de um número médio anual, nem revelar modificação sensível no campo das espécies habitualmente presentes.

Quem ler o presente trabalho, verificará que indicamos resultados de contagem obtidos em outros parâmetros de incubação.

A explicação encontra-se numa das finalidades deste trabalho, ou seja, o estudo comparativo da flora presente no manancial e na água já engarrafada, e na sua evolução, ao longo do tempo, «na garrafa».

Verificámos por experiência, que os tempos de incubação indicados, 24 h e 48 h a 37º C, e 5 dias à temperatura ambiente, não eram os mais úteis para esse estudo aprofundado.

A 37º C, a flora produtora de pigmento amarelo comportou-se, *para a água em estudo,* da seguinte maneira:

— **às 24 horas** → ausência total de colónias.

— **às 48 horas** → regra geral ausência de colónias, ou, vistas com lupa, colónias de dimensões extremamente reduzidas. Em excepção a esta regra, apareceram, em certas amostras, raras colónias com pigmento amarelo, já razoavelmente desenvolvidas, às 48 horas.

Isto demonstra a existência na água de diferentes espécies de germes produtores de pigmento amarelo.

Estas estirpes revelaram características de Flavobacterium, semelhantes às características obtidas para outras colónias com pigmento amarelo mas de mais lento desenvolvimento a 37º C.

— **às 72 horas** — em muitas amostras «na garrafa», contendo um elevado número de col/ml, evidenciam-se já numerosas colónias do tipo que estamos a considerar mas geralmente ainda muito pequenas (pin-point).

às 96 horas — encontram-se já bem desenvolvidas colónias com pigmento amarelo.

Tornando-se difícil prolongar a incubação a 37º C devido à dissecação do meio, constatámos, que, conservando essas placas à temperatura ambiente, quer no escuro, quer em exposição à luz indirecta, o número «total» de colónias aumentava substancialmente sobretudo pelo desenvolvimento de colónias com pigmento amarelo. Também o número de colónias amarelas aumentava pela formação de pigmento em colónias de coloração não bem definida. Verificámos, que, regra geral, o aumento do número de colónias prosseguia até aos 13/15 dias de incubação a contar da data da sementeira.

A 37º C desenvolveu-se bem uma certa flora não pigmentada Gram negativo. No prolongamento da incubação à temperatura ambiente o número de colónias desta flora também aumenta, mas em menor grau que as da flora amarela.

Por último, constatámos (ver Anexo 2), que os melhores resultados, em número de colónias, no seu desenvolvimento e pigmentação, foram obtidos incubando as placas à temperatura ambiente (~ 20º C) desde início, mas prolongando a incubação até aos 15 dias.

Para estudo da flora psicrófila, com incubação das placas no frio (+ 7º C) os melhores resultados foram obtidos com incubação das placas entre 21 a 30 dias.

Na escolha da melhor técnica de evidenciação das diferentes espécies, influi muito a temperatura a que se conserva a água engarrafada, dada a presença frequente de mais do que uma espécie, sendo a espécie predominante «seleccionada» por aquela *temperatura*.

Do exposto, e, em resumo, retiramos as seguintes recomendações:

a) *para o manancial* — 1) incubação de um grupo de placas de contagem a 37º C com leitura e contagem às 24 horas (indicação com incidência no aspecto sanitário) e às 48 horas (informação com ênfase no estado higiénico);

2) incubação de outro grupo de placas de contagem a 20-22º C, com contagem e estudo das colónias aos 5 dias (ter em conta a média anual de col/ml da água e o aspecto da flora presente para verificação de possíveis afastamentos do «habitual»).

Prolongar a incubação até aos 15 dias, para estudo.

3) para estudo da flora é útil a sua pesquisa num volume apreciável da água (100 ml). A incubação à temperatura ambiente dá melhores resultados do que a 37º C, mas deve ser prolongada até aos 15 dias;

b) *para as garrafas* — 1) colhidas na oficina e com análise no próprio dia do enchimento. — O mesmo que indicámos para o manancial;

2) colhidas no mercado, com análise ao fim de um tempo mais ou menos longo de permanência da água na garrafa — aqui influi muito a temperatura a que se conservou a água engarrafada e o facto do número de colónias ser frequentemente muito elevado.

Conservando-se a garrafa «no frio» há selecção de uma flora psicrófila, cujo estudo deve ser efectuado com incubação das placas à temperatura ambiente com contagem aos 15 dias, e com incubação de outro grupo de placas «no frio» entre 3 a 4 semanas.

Conservando-se a garrafa à temperatura ambiente, mas elevada, aparece frequentemente uma flora predominante com pigmento amarelo detectável a 37º C (melhor às 96 horas de incubação). A melhor técnica para estudo é também a incubação à temperatura ambiente com estudo e contagem das colónias aos 15 dias.

Se a temperatura ambiente de conservação da garrafa for relativamente baixa (bastante inferior a 20º C) surge frequentemente uma flora mista não pigmentada e com pigmento amarelo (esta com mau desenvolvimento a 37º C) pelo que se recomenda o seu estudo e contagem com incubação das placas à temperatura ambiente 15 dias.

Para controlo higiénico, uma boa indicação, nas águas engarrafadas, é fornecida pelo afastamento qualitativo da flora em relação à da água no manancial. Quantitativamente interessa a contagem de germes aeróbios, «totais», a 37º C às 48 horas. Pode ser útil a pesquisa em 100 ml, dado que se desconhece a idade da água na garrafa.

Vincamos a necessidade de se ter em conta a temperatura a que se conserva a água engarrafada, na escolha da técnica de incubação das placas de contagem.

Por exemplo, a incubação a 37º C, mesmo prolongada, dá uma ideia muito falseada da flora presente numa água engarrafada conservada no frio. As contagens poderão, neste caso, ser mesmo negativas, quando na realidade a flora presente, mas psicrófila, pode ser da ordem das dezenas de milhar de bactérias por mililitro.

Assim, e por último, não considerando aspectos de controlo laboratorial já focados, pensamos que o estudo da flora não exigente desta água mineral, quer no manancial, quer na garrafa, deve ser efectuado em 100 ml, e em 1 ml (se necessário com diluições para a água das garrafas «mercado»), com incubação das placas à temperatura ambiente durante pelo menos 15 dias. Esta técnica dá os melhores resultados médios para todas as condições em que se encontre a água.

Temos pena de não nos ter sido possível estudar a flora da água, quer do manancial, quer de *garrafas conservadas à temperatura do manancial*, com incubação das placas a essa temperatura. Temos a ideia de que um tal procedimento poderá dar os melhores resultados no estudo da flora «própria» de uma água mineral profunda.

Resumo e Conclusões referentes à Água N.º I

Considerando que se trata de uma água profunda (~ 200 metros) captada para utilização em estância termal e, após um processo de industrialização (engarrafamento), para comercialização no mercado; considerando as ideias expostas na introdução deste trabalho e apreciando os resultados obtidos, concluimos:

A) **quanto ao manancial** (no período abrangido pelo presente estudo, de Janeiro de 1976 a Janeiro de 1977, nas condições de pesquisa indicadas, e em 25 análises).

Trata-se de uma água subterrânea mal protegida e, ou, com deficiente tecnologia de captação.

Não apresenta índices concludentes de contaminação de possível origem fecal.

No conjunto das 25 análises, evidenciaram-se germes indicadores de contaminação de possível origem fecal em 3 análises:

em 9/6/76 → Streptococcus «fecais» em 100 ml — 2 colónias

em 16/6/76 → coliformes em 100 ml → n.m.p.=350; Escherichia coli em 100 ml → n.m.p.=22; Streptococcus «fecais» em 100 ml →=1 colónia

em 15/9/76 → coliformes em 100 ml → n.m.p.=2

dado que as duas primeiras análises se efectuaram no espaço de uma semana em Junho de 1976 e a restante em Setembro, dado que a presença de coliformes coincidiu com um aumento do número médio do manancial em colónias de germes aeróbios «totais» na incubação a ~ 20º C (temperatura ambiente) aos 5/6 dias e dado que nas restantes 22 análises não se evidenciaram indicadores de contaminação de possível origem fecal, atribuimos os casos positivos, esporádicos, a má protecção do manancial ou a deficiência no sistema de captação, em localização anterior ao local de colheita das amostras (emergência).

Duas pesquisas de bacteriófagos «fecais» não específicos, revelaram-se negativas em 50 ml; uma pesquisa paralela, numa água de poço, revelou-se positiva para as duas estirpes E. coli $_{36}$ e Sy $_{6}$ R.

A ausência de Clostridium perfringens em 10 ml, em todas as análises, reforça a ideia de ausência de contaminação de possível origem fecal.

A presença de bolores, em 2 ml, em 9 análises, (36 %) é um índice desfavorável.

A constatação de variações do número médio de colónias de germes «totais» ao longo do ano, atingindo por vezes valores elevados, e a evidenciação constante de colónias não pigmentadas, essencialmente do género Pseudomonas, e de outras colónias de germes Gram positivo ou negativo, certamente de origem telúrica ou hídrica de superfície, levam-nos à conclusão de que se trata de um manancial mal ou deficientemente protegido. Não revelou contaminação de origem fecal concludente, mas revelou sem dúvida a presença de germes de origem superficial.

Durante o período de estudo a contaminação foi sem dúvida «banal», mas sempre presente.

A contagem de germes aeróbios, não exigentes, «totais», em agar nutritivo a 37º C às 24 horas, apenas revelou 1 colónia bem desenvolvida em 15 leituras.

Às 48 horas o número foi > 10 col/ml em 3 análises e em média de 4,17 col/ml, não se evidenciando colónias com pigmento amarelo.

O prolongamento da incubação a 37º C até aos 5/6 dias destinou-se a pesquisar estas colónias, que efectivamente se revelaram em 3 análises.

A contagem de germes aeróbios em agar nutritivo à temperatura ambiente (~ 20º C) é, como se indicou, muito importante para o estudo da flora do manancial, quer no seu aspecto quantitativo, quer qualitativo.

No aspecto quantitativo verificaram-se 3 resultados significativamente elevados em relação aos restantes. São como que três «picos» em relação a um conjunto de resultados < 10 col/ml; um registado em Junho, outro em Agosto e outro em Setembro. A esmagadora maioria de colónias evidenciadas, na totalidade destas contagens, foi de colónias não pigmentadas essencialmente Pseudomonas, sendo raras as colónias com pigmento amarelo. As médias são indicadas em quadro próprio.

Sendo baixo o número de colónias por mililitro da água, é útil o estudo das colónias em 100 ml. Fizémo-lo por filtração por membrana e em agar nutritivo, com incubação a 37º C seguida de um prolongamento da incubação até aos 13/15 dias à temperatura ambiente. A média das contagens finais, dos casos contáveis, foi de 76,66 col/100 ml (de várias espécies, com predominância de Pseudomonas não pigmentadas) e de 3,05 colónias com pigmento amarelo em 100 ml, também nos casos contáveis.

O que concluir destes resultados?

Trata-se de uma água com um número médio de colónias por mililitro geralmente baixo. Apresentou variações desse «número médio» que coincidiram com a época estival de maior exploração do manancial ou com a queda de chuvas.

O número de colónias de pigmento amarelo é, em média, ainda mais baixo, dado que a grande maioria das colónias evidenciadas não apresentam aquela pigmentação.

As colónias com pigmento amarelo, de germes Gram negativo, não pertencem todas à mesma espécie. Umas preferem para o seu desenvolvimento a temperatura ambiente, outras desenvolvem-se bem a 37º C.

Se considerarmos que a flora com pigmento amarelo é a flora «própria» do manancial, verificamos que é suplantada em número por uma flora não pigmentada, constantemente presente no período de estudo.

Todos os tipos de colónias revelaram variações no seu número por mililitro ou em 100 ml da água, no período considerado.

O exposto reforça a ideia de má protecção do manancial;

B) quanto às águas engarrafadas: — 1) — ***colhidas na «oficina» e analisadas no próprio dia do enchimento.***

Temos conhecimento que, após a captação, a água passa por um sistema de filtros para retenção bacteriana, antes do engarrafamento.

Isto explica as diferenças encontradas entre os resultados obtidos nas amostras colhidas na emergência e os obtidos nas amostras constituídas por água já engarrafada, colhidas na «oficina» e analisadas no próprio dia do enchimento.

As 28 análises efectuadas (referentes a garrafas de vidro com água natural e a capacidade de 1 l), não revelaram em nenhum caso a presença de coliformes, Streptococos «fecais» ou Clostridium perfringens, isto é, indicadores de contaminação de possível origem fecal, durante o processo de industrialização o que consideramos importante e favorável em relação às embalagens (garrafas e tampas).

Num caso (3,57%), em 23 de Junho, obteve-se um resultado positivo na pesquisa de Pseudomonas aeruginosa, e, em estudo posterior, verificámos que esta espécie se multiplicou na água até contagens da ordem de dezenas de milhar de colónias por mililitro (ver Anexo 1; amostra n.º 57).

Em 6 casos (21,42 %) evidenciaram-se bolores em 2 ml, em número baixo médio de colónias/ml.

Estes dois parâmetros sugerem uma ideia de deficiente estado higiénico da maquinaria ou embalagens.

Observando os resultados das contagens em agar nutritivo, com incubação a diferentes temperaturas, podemos concluir que a retenção bacteriana dos filtros, não é total.

A contagem em 100 ml, nas condições indicadas, deu um resultado médio do número total de colónias de 36,25 col contra 76,66 na emergência antes dos filtros, isto é, cerca de metade; mas, pelo contrário, verificou-se um número médio de colónias de pigmento amarelo em 100 ml de 20,75 contra ~ 3,05 na emergência.

Considerando o número médio do total de colónias, este vê-se, nas garrafas «oficina», reduzido a cerca de metade do número obtido na emergência; mas simultaneamente o número médio de colónias com pigmento amarelo encontrado para as garrafas foi de aproximadamente 4 vezes superior em relação à emergência.

Se considerarmos as contagens em 1 ml, não se verifica o mesmo fenómeno, havendo uma redução real de todos os tipos de colónias.

Para nós, a explicação encontra-se no facto de que uma redução na membrana filtrante do número total de colónias, permite a evidenciação de colónias com pigmento amarelo, de crescimento mais difícil, que não se evidenciam, embora os germes estejam presentes, quando o número de colónias na membrana é mais elevado.

Em relação às garrafas colhidas na oficina e nas condições indicadas, concluimos, que os resultados, embora influenciados pela existência de um sistema de filtros, revelam, em relação a algumas amostras, um deficiente estado higiénico, que atribuimos a falhas da boa tecnologia, sendo os restantes aceitáveis.

2) *quanto às águas engarrafadas colhidas no mercado* (ou não analisadas no próprio dia do enchimento).

Nas 28 análises efectuadas, não se evidenciaram em nenhum caso, coliformes, Streptococcus «fecais» e Clostridium perfringens, nas condições de pesquisa.

Duas amostras (7,14 %) revelaram a presença de Pseudomonas aeruginosa em 100 ml (uma das amostras evidenciou-a em 1 ml), e 5 amostras (17,85 %) mostraram conter bolores em pequeno número de colónias por mililitro, o que significa um deficiente estado higiénico dessas amostras.

Observando os resultados obtidos para as contagens de germes aeróbios não exigentes «totais», nas diferentes condições de pesquisa, é evidente uma grande irregularidade nos resultados obtidos.

A contagem em agar nutritivo com incubação 5/6 dias à temperatura ambiente, revela desde contagens $\geqslant 0 < 1$/ml até vários resultados «incontável»/ml; desde amostras exclusivamente com colónias não pigmentadas, a amostras com colónias de pigmento amarelo em cultura aparentemente pura.

«Grosso modo», esta irregularidade coincide com os dois grupos de amostras «mercado» estudados, como indicamos no capítulo próprio.

Assim, os mais altos valores de contagem (incluindo os que revelam apenas colónias com pigmento amarelo) foram obtidos, regra geral, no grupo de amostras colhidas no mercado e com data de enchimento desconhecido, e os valores mais baixos nas amostras colhidas na oficina, com data de enchimento conhecida e analisadas após um período mais ou menos longo de permanência na garrafa (máximo ~ 1 mês). No Anexo 1, encontraremos a possível explicação para esta irregularidade, que está ligada aos factores que influenciam o desenvolvimento da flora na água engarrafada ao longo do tempo.

Interessa reter, em conclusão, que na água engarrafada, comparando os resultados obtidos no próprio dia do enchimento com os obtidos em amostras analisadas ao fim de um período mais ou menos longo de permanência na garrafa, há evolução (multiplicação) de germes na água, quer de germes produtores de colónias com pigmento amarelo, quer de outros germes.

A evolução da flora na água engarrafada, que influencia os resultados obtidos para as águas representativas do «mercado», foi estudada, e as respectivas conclusões são apresentadas no Anexo 1 — Água N.º I.

(Continua)

AS GRANDES POPULAÇÕES DE DINOFLAGELADOS TÓXICOS NA LAGOA DE ÓBIDOS

Estela Sousa Silva

Em 1946 foram descritas, pela primeira vez no nosso País, intoxicações alimentares graves de um tipo particular, ocasionadas por ingestão de bivalves da lagoa de Óbidos (Sampaio, Mendes e Correia, 30). Foi então apontada a semelhança entre esses acidentes alimentares e aqueles que tinham sido atribuídos por diversos cientistas à acção de uma toxina dos mexilhões, a *mitilotoxina*, cuja origem já nessa altura se atribuia a grandes populações de Dinoflagelados (9, 15). Por outro lado, dois anos antes, foi observada em águas litorais perto de Peniche (24) uma grande população fitoplanctónica constituída quase exclusivamente pelo Dinoflagelado *Gonyaulax polyedra* Stein. Fenómenos idênticos tinham sido detectados desde a 2.ª década deste século nas costas da Califórnia e em algumas regiões da Europa (1, 6, 16) e, em muitos casos, foi observada simultânea mortandade de peixes ou uma toxicidade muito particular nos bivalves que viviam nas proximidades. A partir da bibliografia consultada e de algumas observações então feitas surgiu no Instituto de Biologia Marítima a ideia (levantada por M. Ramalho e J. Pinto) de fazer um estudo da microflora das águas da lagoa de Óbidos, prevendo-se que, pelas características das intoxicações observadas naquela região, poderia haver íntima relação entre os bivalves tóxicos e alguns microorganismos das mesmas águas. Os estudos de plancton foram iniciados naquela lagoa em 1949 (35), estudos que se têm prolongado e por vezes reactivado sempre que surgiu nova hipótese de trabalho mais ou menos relacionada com a toxicidade dos Dinoflagelados (26, 37-46). A presente nota consta de uma revisão de observações feitas ao longo de mais de 25 anos na lagoa de Óbidos, ou de estudos delas derivados publicados ou não, e de uma discussão dos resultados mais recentemente obtidos.

As águas da lagoa são ricas em microorganismos que se desenvolvem por vezes de um modo excepcional, devido a factores ecológicos particulares, e determinam a sua riqueza em peixes e bivalves. As grandes populações planctónicas que ali ocorrem com frequência são essencialmente constituídas, quase sempre, por uma só espécie estando todos os outros planctontes representados ou pelas quantidades habituais na composição microbiológica das águas da lagoa ou por um número bastante reduzido, ou ainda pode acontecer que muitas espécies, usualmente comuns na época em que ocorre o *bloom*, tenham desaparecido durante esse período. O desenvolvimento de grandes populações — os *blooms* — de uma espécie fitoplanctónica deve-se a factores ecológicos que a dada altura se estabelecem num conjunto propício àquele processo biológico. Entre as formas que se podem desenvolver excepcionalmente na lagoa estão alguns Dinoflagelados que, com frequência, foram responsáveis pela

toxicidade dos bivalves ali existentes. São esses *blooms* que nos têm ocupado particularmente desde o início dos trabalhos (26, 39, 40).

As observações feitas directamente na lagoa de Óbidos ou em material nela colhido foram continuadas, no caso dos Dinoflagelados tóxicos, pelo estudo das mesmas espécies em cultura. A pesquisa do seu ciclo de vida tem permitido interpretar muitas das formas de desenvolvimento observadas no desenrolar de todo o processo nas águas da lagoa. O tema fundamental dos trabalhos realizados de início, e relacionados com os *blooms* de espécies tóxicas, tem evoluído quer numa busca da origem citológica dessa toxicidade (37, 38, 46, e trabalhos em curso) quer por outras linhas de pesquisa relacionadas com o ciclo celular (38, 41, 44).

Em relação com as grandes populações de Dinoflagelados tóxicos *(red waters)* detectadas na lagoa de Óbidos, abordaremos aqui 3 aspectos: (1) alguns factores ecológicos determinantes do desenvolvimento excepcional de uma espécie, (2) as suas manifestações de toxicidade e (3) alguns caracteres particulares do ciclo de vida das espécies que proliferam excepcionalmente na lagoa.

Alguns factores ecológicos responsáveis por fenómenos de «red water» na lagoa de Óbidos

Para que uma espécie de Dinoflagelados possa desenvolver-se excepcionalmente até atingir concentrações de alguns milhões de células por litro de água são necessárias condições óptimas de nutrição, a presença de factores de crescimento e ausência de factores inibidores (43). Uma larga variação de factores ecológicos pode ser expressa por curvas anuais que, em algumas regiões temperadas, variam por vezes de um ano para o outro devido a condições climáticas irregulares. Na lagoa de Óbidos, pelo contrário, acontece muitas vezes verificar-se uma certa repetição no ritmo anual dos valores de alguns factores ecológicos o que pode originar o aparecimento de grandes populações da mesma espécie em anos consecutivos; por ex.: os *red waters* de *Exuviella baltica Lohm.* foram observados com frequência na mesma época do ano.

Por outro lado, um conjunto de factores ecológicos necessário ao desenvolvimento do *bloom* de uma espécie pode estabelecer-se em diferentes épocas do ano e mais tarde, durante anos, não se repetir esse todo ecológico indispensável para que a mesma espécie se desenvolva excepcionalmente. Isto foi observado com *Gonyaulax tamarensis* Leb. de que estudámos grandes populações (cerca de 4 milhões de células por litro) em Outubro de 1958, em Fevereiro de 1959 e em Junho de 1962 (39, 40); mais tarde, sempre que esta espécie foi encontrada nas amostras de água da lagoa, ela estava representada por poucos exemplares (não fizemos observações em 1965 e 1966, e apenas nos meses de Setembro e Outubro de 1974 a 1978).

Algumas vezes o início de um *bloom* parece estar condicionado por factores particulares; por exemplo, o abaixamento brusco de salinidade das águas devido a grandes chuvadas. Na realidade, isto é mais complexo do que uma simples diluição dos sais ou outras substâncias na água; assim, temos de considerar, para além do acréscimo de água proveniente da chuva, aquela que provém de ribeiros ou de enxurradas e transporta, a partir das margens ou de regiões mais distantes, as mais diversas substâncias: nutrientes, vitaminas, alguns metais em quantidades vestigiais, etc. *Exuviella baltica* desenvolve-se geralmente a seguir a fortes chuvadas por curto período de tempo (fim do Verão ou início de Outono); *Glenodinium foliaceum* Stein, outra espécie tóxica, quase sempre inicia um intenso desenvolvimento depois de longo período de chuva. Dado que as duas espécies são eurialianas, para a primeira o principal factor, ou o de influência mais próxima, parece ter sido o enriquecimento das águas pelas terras arrastadas na enxurrada, uma vez que grandes populações de *E. baltica* foram detectadas a muito diferentes níveis de salinidade (de 14 a 32 $^0/_{00}$). Os *red waters* por *Gl. foliaceum* ocorreram na lagoa de Óbidos (39, 40) com salinidades muito baixas (de 3 a 12 $^0/_{00}$) portanto, neste caso, parece ser realmente a descida dos valores da salinidade um dos factores ecológicos mais directamente actuante. Existe um factor que pode ser selectivo para cada uma destas espécies, a temperatura; enquanto que os *red waters* por *E. baltica* foram detectados a temperaturas entre 16 e 22° C, os de *Gl. foliaceum* ocorreram com temperaturas próximas de 11.°.

A subida rápida da temperatura pode ter influência no início de grande desenvolvimento de uma espécie, como acontece com *E. baltica*. Do abaixamento súbito da temperatura ambiente pode resultar diferenças de 4 a 5° C entre as águas superficiais e as que se encon-

tram a 4 ou 5 m de profundidade, diferenças estas que provocam correntes verticais e trazem substâncias nutritivas (e outras) do fundo para a superfície. Este enriquecimento tem muita importância para algumas espécies clorofilinas com uma maior intensidade metabólica quando atingem a superfície nas suas migrações verticais diárias. Pensamos ser este o caso de *Gon. tamarensis* que, para além de outros factores ecológicos, requere um meio nutritivo particularmente rico.

O período de dia-luz varia do mesmo modo através do ano, mas a intensidade da luz está muito dependente das condições climáticas. Os *red waters* por *E. baltica* na lagoa de Óbidos podem ocorrer poucos dias depois de grandes chuvadas, com temperaturas de cerca de 19º C, quase sempre com sol brilhante (Verão ou início do Outono) e permanecer aí por várias semanas se o tempo se mantiver bom.

Há ainda outros factores que têm uma grande influência no desenvolvimento de uma espécie de Dinoflagelados, esses factores provêm de outros microorganismos. Quanto ao papel desempenhado pelas populações que precedem um *bloom* temos de considerar dois aspectos: (1) a sua contribuição como elo da cadeia alimentar e (2) as diversas acções dos seus metabolitos. Os nutrientes libertados na lise das células de uma população que precede um *red water* devem corresponder, em grande parte, a necessidades nutricionais da espécie ou espécies que se lhe seguem. Por ex.: *E. baltica* desenvolve-se com grande intensidade atingindo populações excepcionalmente densas, muitas vezes, a seguir a *blooms* por uma das Diatomáceas *Skeletonema costatum* Cl. ou *Cyclotella* sp. ambas muito frequentes na lagoa. Quanto ao outro aspecto, o da influência mútua de diferentes microorganismos, será abordado a seguir particularmente no que se refere a espécies tóxicas.

Manifestações de toxicidade relacionadas com grandes populações de Flagelados

Acontece com frequência que o desenvolvimento muito intenso de uma espécie de Dinoflagelados, ou de outros Flagelados, pode limitar o desenvolvimento de outros microorganismos e até mesmo inibir a sua presença nas mesmas águas. O primeiro caso pode ser simplesmente o resultado de uma utilização mais rápida dos nutrientes por parte de espécies que encontram todos os outros factores ecológicos e níveis óptimos para o seu crescimento. Por outro lado, o fraco ou nulo desenvolvimento de alguns microorganismos pode ser devido a metabolitos com acção inibidora e que provêm da espécie que então prolifera intensamente (3, 6, 34). Entre esses metabolitos encontram-se substâncias tóxicas que têm sido detectadas em algumas espécies de Dinoflagelados que se desenvolvem frequentemente em grandes populações na lagoa de Óbidos. Nas observações feitas ao longo de todos estes anos, verificámos que os microorganismos habituais no plancton da lagoa estavam então representados por pequeno número de indivíduos ou tinham mesmo desaparecido. Contudo, os metabolitos tóxicos de determinada espécie não têm a mesma acção inibidora sobre todos os outros organismos e não foi raro que um *red water* por uma espécie tóxica (*E. baltica* ou *Gl. foliaceum*) tivesse sido observado ao mesmo tempo de outra população importante, Diatomácea ou pequeno Flagelado; foi mesmo observado algumas vezes que a última forma acabava por ser dominante. Este facto teria resultado de uma insensibilidade aos metabolitos tóxicos mas também de necessidades nutricionais diferentes. A acção antibiótica de algumas espécies fitoplanctónicas é tema que tem sido abordado por diversos autores (12, 47) e particularmente por Aubert e seus colaboradores do «Centre d'Études et de Recherches de Biologie et d'Oceanographie Medicales», em Nice (3, 4). Entre nós foi feito um estudo sobre as acções cardio-vasculares do veneno de *Ceratoderma edule* L. (18) com extractos daqueles bivalves colhidos por ocasião de *red waters* na lagoa.

Em material de cultura não existe influência de outros microorganismos (excepto bactérias intracelulares) dado que se trata de culturas uni-algas, contudo, os próprios metabolitos da espécie cultivada têm uma acção sobre os diferentes estados do seu desenvolvimento o que, em grande parte, constitue o envelhecimento da cultura. Esta acção tem-se revelado diversa de espécie para espécie; assim, em alguns casos uma cultura foi mantida no mesmo líquido nutritivo por vários meses, até um pouco mais de um ano, em condições razoáveis e com a possibilidade de as suas células darem origem a novas culturas. Isto foi observado nas espécies *Gymnodinium splendens Lebour, Gl. foliaceum, Peridinium trochoideum* Stein, etc. Outras culturas, pelo contrário não se mantêm por mais de 2 meses ou até

menos como acontece com *Amphidinium carterae* Hulb., *Gonyaulax spinifera* Dies. ou *Gon. tamarensis*. Este comportamento pode não ser devido apenas a um consumo rápido dos nutrientes do meio, pois a adição de novo líquido nutritivo nem sempre permite um rejuvenescimento da cultura; pensamos que se deve considerar uma acção frenadora da parte dos metabolismos da própria espécie.

São 4 as espécies de Dinoflagelados que, quando em grandes populações na lagoa de Óbidos, têm originado uma particular toxicidade nos bivalves ali existentes: *Exuviella baltica*, *Prorocentrum micans* Ehr., *Glenodinium foliaceum* e *Gonyaulax tamarensis*. A primeira destas espécies é a responsável pelo *red water* que mais frequentemente tem ocorrido na lagoa. No fim do Verão ou início do Outono, por vezes em anos consecutivos, *E. baltica* desenvolve-se em grandes populações no braço da Barrosa e daí pode estender-se a grande parte da lagoa. É então frequente encontrarmos na água 40 a 50 milhões de células por litro, mais excepcionalmente essa concentração pode subir a 80 milhões e uma vez encontrámos 136 milhões de células/l; a toxicidade dos bivalves *(C. edule)* atingiu 16 000 UR (unidades-rato, 26), não tendo sido porém determinada durante as duas maiores populações. *Prorocentrum micans* é uma espécie considerada endémica na lagoa de Óbidos (35, 40) onde praticamente pode ser encontrada durante todo o ano e, em certas épocas, mesmo com abundância; contudo, as grandes populações (2 a 3 milhões de células/l) têm sido pouco frequentes. A toxicidade encontrada em *C. edule* durante um *red water* desta espécie atingiu 16 000 UR (26). *Glenodinium foliaceum* tem provocado, por vezes, toxicidade nos bivalves da lagoa quando atinge concentrações de 3 a 5 milhões de células por litro. Os valores então encontrados para a toxicidade de *C. edule* situavam-se entre 4000 e 14 000 UR (39). Os *red waters* por *Gonyaulax tamarensis* provocaram sempre uma toxicidade muito elevada em *C. edule*, tendo atingido 26 000 UR quando a densidade celular atingia números próximos de 4 700 000/l (39).

As 4 espécies referidas têm sido mantidas em cultura no laboratório desde há anos; são culturas clonais obtidas de material colhido na lagoa quer por ocasião dos respectivos *red waters* quer em épocas de pequena abundância. De todas essas culturas merece especial referência a de *Gon. tamarensis* que se mantem desde Junho de 1962 sempre com uma toxicidade elevada. As outras espécies geralmente perdem a toxicidade alguns meses depois de cultivadas, mesmo quando seleccionadas de *blooms* com acções tóxicas.

Numa revisão das observações feitas por nós e das que encontrámos descritas na bibliografia consultada, verificamos que a toxicidade de alguns Dinoflagelados parece não ser constante e a sua acção sobre outros organismos pode não ser sempre a mesma. As 4 espécies que, na lagoa de Óbidos, foram já consideradas como origem da toxicidade ali detectada em *C. edule*, não foram registadas como tóxicas noutras regiões em que também se desenvolveram excepcionalmente. Por outro lado, uma mesma espécie pode revelar diferentes tipos de toxicidade como é o caso de *E. baltica* (36, 39). Sem dúvida que existem determinantes diversas, ecológicas e outras, que podem condicionar o metabolismo celular nessas espécies. Uma possível influência de bactérias intracelulares (simbiontes?) no metabolismo dos Dinoflagelados, com nítida interferência na produção de metabolitos tóxicos, é uma hipótese que levantámos há anos (37, 38) mas só recentemente foi possível retomar essa linha de trabalho; dados agora obtidos no estudo das relações entre aqueles microorganismos vieram confirmar tal hipótese e abrir um vasto campo de pesquisa sobre toxicidade nos Dinoflagelados (46).

Uma acção inibidora do desenvolvimento normal de populações heterogéneas no plancton da lagoa de Óbidos pode ter origem noutros Flagelados (25). Durante o ano de 1972 fizemos ali colheitas para pesquisa e selecção de algumas espécies com o fim de obter culturas para estudos citofisiológicos; em Fevereiro deparámos com um grande *bloom* de *Prymnesium parvum* Carter (Haptophyceae) que constituía a quase totalidade da população microplanctónica em algumas zonas da lagoa. Os Dinoflagelados que normalmente são ali comuns ou abundantes na Primavera e Verão, quase desapareceram até meados de Agosto, altura em que começámos a encontrá-los de novo nas águas da lagoa e apenas nas zonas onde o *bloom* de *Prymnesium* tinha sido menos intenso. Somente a partir de Setembro a sua presença se tornou normal sem contudo se ter verificado qualquer população importante, como é frequente na lagoa de Óbidos nessa época do ano. Em relação com o que acabamos de descrever, admitimos que a grande mortandade de peixes ocorrida na lagoa no início do Verão do mesmo ano, a única de que tivemos

conhecimento, deve ter sido consequência do grande *bloom de Prymnesium* (espécie ictiotóxica) ali observado no fim do Inverno e muito provavelmente com surtos ulteriores que não foram detectados por não terem sido feitas colheitas com a periodicidade necessária à pesquisa de tais fenómenos.

As grandes populações de Dinoflagelados e o ciclo de vida das espécies que as constituem

Do estabelecimento de um conjunto de factores ecológicos a níveis óptimos para uma espécie resulta a intensificação da sua reprodutibilidade, e a manutenção desses níveis permite um prolongamento da fase de multiplicação intensa conduzindo a uma dominância absoluta dessa espécie sobre todos os outros microorganismos nas mesmas águas. Os factores que permitem ou provocam o aumento da reprodutibilidade de uma espécie não serão os mesmos de que depende o seu metabolismo celular, então particularmente activo, mas é sem dúvida da simultaneidade de todos que resulta o *bloom*.

Nos Dinoflagelados que temos estudado citologicamente, a maior parte de cultura e alguns de *blooms* naturais, a grande actividade reprodutora resulta directamente de uma excepcional actividade sintética nuclear. Relacionado com este comportamento do núcleo dos Dinoflagelados em pleno desenvolvimento está um tipo de divisão muito particular: a divisão directa com presença de elementos cromáticos individualizados, como de resto existem também na célula em repouso (41, 44). No ciclo de vida das espécies estudadas, que se desenvolvem em condições ecológicas óptimas e deram origem a grandes populações, julgamos de interesse referir aqui uma *pequena forma* que quase sempre aparece a determinada altura no desenrolar de um processo de *red water* ou até, por vezes, em populações menos importantes (43). São pequenas células que apresentam os caracteres específicos externos mas com dimensões de 1/4 a 1/8 do tamanho normal da espécie. Esta *pequena forma* pode chegar mesmo a dominar numericamente sobre a forma típica o que já tem levado a identificações taxonómicas erradas. A sua interpretação citológica e a discussão das várias hipóteses foram feitas anteriormente (41, 44). Na lagoa de Óbidos foi observada a *pequena forma* em numerosas espécies quando abundantes e, em cultura, na maior parte das que temos mantido no laboratório ao longo de 23 anos.

Outros aspectos do ciclo de vida foram ainda observados em diversos Dinoflagelados. Assim, durante um período extenso de *red water* de *Gl. foliaceum* na lagoa, observaram-se dois picos máximos da concentração celular nas águas; numa primeira fase do *bloom* a divisão celular ocorreu em indivíduos que se moviam livremente, sendo então frequentes os pares de recém-divididos. Mais tarde, ultrapassada a primeira concentração máxima (de 4 850 000 células por litro) observou-se um decréscimo da população em que existiam numerosas células imóveis, em divisão dendro de quistos hialinos, particularmente nas camadas abaixo da superfície. Estes quistos de divisão tinham 4, 8 ou 16 células, geralmente pequenas, que se libertavam quando era atingida a sua diferenciação específica. A seguir o *bloom* apresentou um segundo surto e atingiu novo pico com uma densidade de população equivalente à primeira (39, 42). No 1.º surto do *red water* descrito as células de *Gl. foliaceum* eram muito verdes enquanto que no 2.º se mostravam castanho-avermelhadas com estrutura densa e acumulação de carotinóides, aparentemente em diferentes fases do seu metabolismo celular. Ao primeiro pico da densidade celular correspondeu uma toxicidade muito mais elevada em *C. edule* (39). A população de *Gl. foliaceum* descrita, depois de ter atingido uma primeira grande concentração parece ter sofrido uma redução na sua actividade reprodutora. Para interpretar a divisão celular ulterior dentro de quistos hialinos, devemos considerar duas hipóteses: (a) a célula isola-se dentro do quisto devido a piores condições de ambiente (subida da salinidade, metabolitos?) e a seguir divide-se ali originando 4, 8 ou 16 células geralmente de menores dimensões (42); (b) a célula que se isola dentro da membrana hialina pode corresponder a uma fase sexuada no ciclo de vida de *Gl. foliaceum*. Assim, o 2.º pico da concentração celular poderá corresponder ou à libertação quase simultânea das células jovens em presença de melhores condições de ambiente ou, na 2.ª hipótese, a uma reactivação da divisão celular depois de uma fase sexuada. Em *Gl. foliaceum*, independentemente da formação de pequenas células dentro do quisto hialino, observámos também a *pequena forma*, ainda que muito menos frequentemente que na maior parte das espécies estudadas (42).

Na fase final dos *blooms* de diversos Dinoflagelados encontram-se com certa frequência quistos de repouso, principalmente em camadas mais profundas das águas da lagoa. Foi sempre muito raro o aparecimento de quistos no material de cultura, particularmente desde que, a partir de 1966, se mantêm constantes os valores de temperatura e luz.

Discussão e Conclusões

É difícil precisar as relações de causa e efeito entre os diferentes factores ecológicos considerados e o início de qualquer dos *blooms* estudados na lagoa de Óbidos, antes de nada, porque as determinações químicas das águas obtidas até 1972 foram de âmbito muito restrito (35, 40). Durante o ano seguinte, de colaboração com a Dr.ª Maria Emília Peixoto, os trabalhos na lagoa puderam, em parte, apoiar-se em estudos químicos bastante mais vastos mas infelizmente houve grandes falhas de colheita durante o Verão e parte de Outono, falhas que não permitem conclusões nítidas e precisas. Actualmente é impossível compensar com colheitas adicionais essas falhas pois as condições ecológicas na lagoa alteraram-se bastante nos últimos anos; esta convicção surgiu através de observações microbiológicas das suas águas, feitas no fim do Verão e Outono nos últimos 4 anos.

A lagoa de Óbidos constitui um sistema ecológico muito favorável ao desenvolvimento de determinados organismos planctónicos e consequentemente de animais pelágicos ou de fundo que constituem a sua grande riqueza. Nesta nota pretendeu-se dar uma ideia dos condicionamentos ecológicos mais evidentes ou imediatos que permitiram ou provocaram o desenvolvimento excepcional de alguns Dinoflagelados tóxicos. Das 4 espécies tóxicas que na lagoa constituiram grandes populações e originaram uma toxicidade mais ou menos intensa nos bivalves ali existentes, estão descritos outros *red waters* nas mais diversas regiões e acompanhados ou não de acções tóxicas por vezes de natureza diferente. Em 1951 tivemos ocasião de estudar um intenso e vasto *red water* de *E. baltica* nas costas de Angola (36), espécie que constituia quase exclusivamente a densa massa celular das amostras de água colhidas. Essa grande população revelou-se extremamente tóxica tendo provocado a fuga e morte de peixes e outros animais marinhos. Alguns anos mais tarde repetiu-se, naquela região, idêntico fenómeno originado pela mesma espécie (22). Em nenhum destes casos foram feitos ensaios de toxicidade nos bivalves de regiões próximas. Por outro lado, desde 1950 que temos detectado na lagoa de Óbidos, com frequência, grandes populações de *E. baltica* mas só a partir de 1956 foi possível atribuir-lhes a origem da toxicidade verificada nos bivalves das mesmas regiões durante a permanência daquelas populações e mesmo algum tempo depois de iniciado o seu declínio (23, 26). Zotter (49) estudou recentemente grandes *blooms* de *E. baltica* ocorridos na Baía de Galveston, em 1976 e 1977, em que encontrou a concentração máxima de 420 000 000 células por litro, sem ter sido detectada, aparentemente, qualquer manifestação tóxica.

Prorocentrum micans, muito embora possa ser considerada uma espécie endémica na lagoa, poucas vezes foi ali registada em populações de 1 ou 2 milhões de células por litro mas, então, foi geralmente acompanhada de uma toxicidade nos bivalves de cerca de 16 000 UR (23, 26). Nas costas da Califórnia, entre 1938 e 1946 foram detectados frequentes *red waters* de *P. micans* como refere Allen (1). Também Ayres registou populações consideráveis desta espécie na costa nordeste britânica tendo encontrado alguma correspondência entre a toxicidade de *Mytilus edulis* L. e a sua elevada concentração nas mesmas águas (5). Nas costas da Holanda foram igualmente observados *red waters* de *P. micans*, acompanhada ou não de outras espécies de *Prorocentrum*, com acções tóxicas mas nem sempre do mesmo tipo (14, 16).

Glenodinium foliaceum é outro Dinoflagelado que, quando extremamente abundante na lagoa (3 a 5 milhões de células/1), provocou uma toxicidade que atingiu 14 000 UR em *C. edule* (39). Um *bloom* desta espécie, simultaneamente com *Peridinium triquetum*, ocorrido perto de Rostock em 1917, foi estudado por Lindmann (19) que lhe atribuiu a origem da grande mortandade de peixes então observada. Outras populações importantes de *Gl. foliaceum* foram observadas por Grontved em 1941 em Praesto Fjord (8) mas não lhes atribuiu então qualquer acção tóxica.

Gonyaulax tamarensis provocou, na lagoa de Óbidos, a mais elevada toxicidade all encontrada em *C. edule*, 26 000 UR (39). Tem interesse referir que esta espécie, primeira-

mente estudada por Lebour (17) em material do sul de Inglaterra (foz do rio Tamar) e registada ali por vezes com abundância, somente se revelou tóxica nas águas litorais inglesas em 1968 altura em que foi encontrada uma toxicidade máxima de 20 000 UR em *Mytilus edulis* L. (7, 11). No Canadá, Golfo do Maine e Baía de Fundy, desde 1942 que se tem registado repetidos *red waters* de *G. tamarensis* e sempre acompanhados por elevada toxicidade nos bivalves das mesmas regiões (20, 21, 27). Mais recentemente foi também atribuída a esta espécie a toxicidade de *Mytilus* em Tronheimsfjord, Noruega (29).

Além das 4 espécies de Dinoflagelados que, em grandes populações na lagoa de Óbidos, têm causado elevada toxicidade nos bivalves, particularmente em *C. edule*, devemos citar ainda *Gonyaulax polyedra* Stein que tem aparecido ali com frequência mas até agora sem nunca ter atingido elevada concentração celular nem portanto ter manifestado qualquer acção tóxica. Esta espécie, em 1945, desenvolveu-se em grande *red water* na costa portuguesa, ao sul da Baía de Peniche mas então não foi procurada nem houve notícia de qualquer manifestação de toxicidade (24). *Gonyaulax polyedra*, nas costas da Califórnia, originou intensos *red waters* a que por vezes se atribuiu a elevada toxicidade encontrada nos bivalves das mesmas regiões (1, 9, 15). Alguns Dinoflagelados nús podem desenvolver-se também excepcionalmente na lagoa de Óbidos mas não foi possível atribuir-lhe com nitidez qualquer tipo de toxicidade (40).

Além dos Dinoflagelados existem outros microorganismos planctónicos, particularmente Flagelados, que podem revelar-se extremamente tóxicos quando em grandes populações (6, 25). *Prymnesium parvum* (Haptophyceae) provocou grande mortandade de peixes em diversas regiões por ocasião de *blooms* importantes, de que foram particularmente estudados os que ocorreram em Israel (31-33). Na lagoa de Óbidos observámos em Fevereiro de 1972 uma população de *P. parvum* extremamente densa em algumas zonas (Barrosa e Bom Sucesso); contudo, a grande mortandade de peixes que ali se verificou no início do Verão do mesmo ano não lhe pode ser atribuída com precisão visto não terem sido então colhidas amostras de água com a frequência necessária e não termos conhecimento de qualquer estudo fundamentado nesta ou noutras hipóteses. Recentemente foi observado que a toxicidade de *P. parvum* está muito dependente do valor do pH das águas em que prolifera; este factor condicionante pode explicar o facto de não ter sido verificada qualquer acção tóxica no período em que detectámos o *bloom* referido, mas sim mais tarde com um provável recrudescimento do *bloom*, então em pH propício à formação da toxina. Temos observado uma variação importante do pH nas águas das diferentes zonas da lagoa.

O estudo citológico e ultraestrutural de diversas espécies de Dinoflagelados de cultura, (ou de grandes *blooms*), levou-nos a relacionar o aparecimento de uma *pequena forma* com a grande actividade nuclear detectada no período de maior crescimento de uma população e situámos a sua origem numa divisão nuclear directa desigual (41, 43, 44). A maior abundância da *pequena forma* ocorre quando o *bloom* atinge o seu máximo ou pouco depois; então, e a seguir a uma queda dos níveis óptimos dos factores ecológicos, observa-se uma diminuição no ritmo da divisão celular na mesma espécie. As condições ecológicas já não favorecem o rápido desenvolvimento da *pequena forma* de modo a atingir em pouco tempo as dimensões e estrutura típicas da espécie. Embora as pequenas células sejam então formadas em menor número devido a uma menor actividade nuclear, a sua percentagem aumenta, dada a maior lentidão no processo evolutivo, numa população que então apresenta uma quebra no seu ritmo reprodutivo. Apstein (2) observou dominância de pequenas células (a que chamou *mikroschwärmer*) em *blooms* de *Ceratium* depois do pico máximo da sua concentração celular. Hasle e Nordli (10) verificaram que a variedade *truncata* (forma pequena) de *Ceratium tripos* Nitsch atingia um máximo de 70 % na concentração celular em culturas densas. Em *Glenodinium foliaceum* as pequenas células podem ser originadas ou a partir de uma divisão nuclear directa desigual — a *pequena forma* — não muito comum nesta espécie, ou em quistos hialinos em número de 4, 8 ou 16, as quais, a verificar-se a hipótese atrás referida, corresponderiam a uma fase sexuada no ciclo de vida de *Gl. foliaceum* (39, 42). As observações que fizemos nesta espécie levam-nos a comparar os referidos quistos e as células mais ou menos pequenas (dependendo do número) à descrição de Van Stosch (48) sobre a repro-

dução sexuada que estudou em 3 espécies de água doce e 1 marinha. Contudo, devemos acentuar que a *pequena forma* que desde há anos vimos estudando em numerosas espécies de Dinoflagelados, tem uma origem, estrutura e fisiologia diferentes das que correspondem às células mais ou menos pequenas resultantes de divisões nucleares típicas de uma célula imobilizada dentro de um quisto hialino, sejam elas gametas ou resultantes do zigoto (41, 44, 48).

Nos últimos anos as nossas observações na lagoa de Óbidos têm sido reduzidas a 2 ou 3 colheitas quinzenais no fim do Verão e Outono; contudo, temos verificado que as espécies, que frequentemente se desenvolvem em *blooms* nos braços mais internos, são encontradas agora em concentrações muito reduzidas na região média e mais extensa da lagoa. Este facto pode ter resultado das dragagens profundas feitas na Primavera e Verão de 1975 o que veio provocar uma alteração apreciável nas condições ecológicas sazonais, devido quer a um possível enriquecimento das águas por agitação dos fundos lodosos, quer a uma maior movimentação das águas, agora muito mais intensa durante as marés. Assim a grande diversificação de espécies planctónicas que se tem detectado na lagoa nos últimos Outonos, pode ser atribuída a uma maior variedade de nutrientes (e outras substâncias) criando oportunidades a um maior número de espécies. Por outro lado, o aumento muito importante das massas de água deslocadas através do canal de comunicação entre a lagoa e o mar, agora aprofundado, não permite o estabelecimento de *blooms* de Dinoflagelados nas zonas da lagoa menos profundas e portanto de águas mais renovadas, precisamente onde são colhidos os bivalves para consumo alimentar. Deste modo parece possível explicar que nos últimos anos não se tenha registado qualquer toxicidade nos testes feitos periodicamente com extractos de *C. edule*, apesar de terem sido detectados algumas vezes *blooms* de *Dinoflagelados* tóxicos mas apenas nos braços mais interiores (Barrosa e Bom Sucesso).

Só recentemente nos foi possível retomar como tema de trabalho uma hipótese que levantámos há anos (37, 38) sobre a origem da toxicidade nos Dinoflagelados. Durante as observações citológicas, então feitas no microscópio óptico, em material vivo ou fixado, sempre detectámos bactérias intracelulares que viviam e até se multiplicavam na célula dos Dinoflagelados de cultura ou livres do mar. Dado que uma mesma espécie podia ou não apresentar acções tóxicas ou ainda diferentes tipos de toxicidade (como dissemos atrás) surgiu-nos a ideia de que as bactérias intracelulares poderiam ter uma acção importante na metabolismo do Dinoflagelado em relação à produção de toxinas. Isolámos bactérias de diversas espécies, tóxicas ou não, e verificámos que a estirpe obtida de *G. tamarensis* era a única que, inoculada em culturas clonais não tóxicas de 3 outras espécies, originava clones tóxicos; os extractos das suas células quando injectados em ratinhos provocavam as características reacções e morte quando muito concentrados (46). Ballantine e Abbott (6) tinham já verificado que as culturas de *Gymnodinium veneficum* (espécie ictiotóxica) quando livres de bactéria no meio nutritivo perdiam a sua toxicidade e concluiram que a toxina encontrada era possivelmente um produto da acção de bactérias sobre uma substância inócua produzida por aquele Dinoflagelado. Neste caso a toxina foi obtida principalmente do líquido sobrenadante.

O vasto campo de estudos abordado nesta nota, de um modo geral, no que se relaciona com os metabolitos tóxicos de alguns Dinoflagelados é sem dúvida prometedor se nos lembrarmos que, em algumas dessas substâncias, foram encontradas acções farmacológicas de muito interesse, particularmente sobre os sistemas nervosos central e periférico ou ainda sobre a pressão arterial. Eles situam-se entre os compostos altamente activos provenientes de organismos marinhos (3, 4, 18) que, segundo Ruggieri, podem servir como modelos no desenvolvimento de novas drogas (28). Os Dinoflagelados constituem de facto um grupo de microorganismos com caracteres muito particulares que privilegiam certos tipos de investigação ligada à saúde e o interesse no seu estudo tem aumentado bastante nos últimos anos. As duas primeiras conferências internacionais realizadas (50, 51) exclusivamente sobre *blooms* de espécies tóxicas incluiram uma secção sobre «toxinas dos Dinoflagelados e Farmacologia». Para além da pesquisa de metabolitos nestes microorganismos, outros dois aspectos de muito interesse devem ser explorados: (a) a sua estrutura citológica, particularmente o núcleo, que pode levar a uma experimentação útil sobre a acção de certos fármacos, ou de outras substâncias, a nível de biologia molecular, e (b) a associação (simbiose?) com bactérias intracelulares (45, 46) ou extracelulares (6).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 ALLEN, W. E., 1941 — Twenty years statistical studies of marine plankton Dinoflagellates of Southern California. **Am. Midland Naturalist,** 26: 603-635.

2. APSTEIN, C., 1911 — Biologische studie über **Ceratium tripos** var. **subsalsa** Ost. **Wiss. Meeressuntere., Abt. Kiel,** 12: 137-162.

3. AUBERT, M. AUBERT, J. e GAUTHIER, M., 1968 — Pouvoir autoépurateur de l'eau de mer et substances antibiotiques produits par les organismes marins. **Rev. Intern. d'Oceanogr. Medicale,** X: 137-208.

4. AUBERT, M. AUBERT, J. e GAUTHIER, M., 1967 — Origine et nature des substances antibiotiques présentes dans le milieu marin. Étude systématique de l'action antibacterienne d'espèces phytoplanktoniques. **Idem,** V:63.

5. AYRES, P. A., 1971 — Results of the 1971 monitoring programme for mussel toxicity on the north-east coast of Britain. **Intern. Couns. Expl. of the Sea,** E. 27.

6 BALLANTINE, D. e ABBOTT, B. C., 1957 — Toxic marine Flagellates, their occurrence and physiological effects on animals. **J. Gen. Microbiol.** 16: 274--281.

7. CLARK, R. B., 1968 — Biological causes and effects of paralytic shellfish poisoning. **«Lancet», Oct.;** 770--772.

8. GRONTVED, J., 1950 — The phytoplankton of Praesto Fjord. **Folia Geographica,** III: n.° 6.

9. GUNTER, C., 1942 — Offats Bayou, a locality with recurrent summer mortality of marine organisms. **Am. Midl. Naturalist,** 28 (3): 631-633.

10. HASLE, G. R. e NORDLI, E., 1951 — Forms variation in **Ceratium fusus** and **tripos** populations in cultures and from the sea. **Avhand. Norske. Viden. Akad. Oslo, Mat. Naturv., n.° 4.**

11 INGHAM, H. R.; MASON, F. e WOOD, P. C., 1968 — Distribution of toxin in Molluscan shellfish following the occurrence of mussel toxicity in north-east England. **Nature,** 220, n.° 5162: 25-27.

12 JORGENSEN, E. G., 1962 — Antibiotic substances from cells and culture solutions of unicellular algae with special reference to some chlorofyll derivatives. **Physiologia Pl.,** 15: 530-545.

13. KAO, C. Y., 1975 — Cardiovascular actions of saxitoxin. **Proc. 1st. Intern. Conf. on Toxic Dinoflagellate blooms, Boston** (1974): 347-353.

14. KAT, M., 1979 — The occurrence of **Prorocentrum** species and coincidental gastro-intestinal illness of mussel consumers. **Proc. 2nd Intern. Conf. on Toxic Dinoflagellates blooms,** 1: 215-220.

15. KOFOID, C. A., 1911 — Dinoflagellate of the San Diego region. IV. The genus **Gonyaulax. Univ. Calif. Publ. in Zool.,** 8, n.° 4: 187-269.

16. KORRINGA, P. e ROSKAM, R. T., 1961 — **Intern. Couns.** Epl. of the Sea, Shellfish Com. n.° 48.

17. LEBOUR, M., 1925 — The Dinoflagellatee of the Northern Seas. **Plymouth Mar. Biol. Ass. Publ.,** 1--250.

18. LEITÃO, J. A. e PINTO, J. S., 1965 — Acções cardiovasculares do veneno de **Cardium edule** L. in: **Livro de homenagem ao Prof. Fernando Fonseca:** 1023-1036.

19 LINDMANN, E., 1924 — Der bau der bel **Heterocapea** und **yrKptoperidinium folleaceum** (Stein), nom. nov. **Bot. Arch.,** 2.

20. MEDCOF, J. C., 1960 — Shellfish poisoning- another north american ghost. **Fish Res. Bd. Canada,** 75.

21. NEEDLER, A. B., 1949 — Paralytic shellfish poisoning and **Gonyaulax tamarensis** Leb. **J. Fish. Res. Bd. Canada,** 7 (8): 480-504.

22 PAREDES, J. F., 1962 — On an occurrence of red waters in the coast of Angola. **Mem. Jun. Inv. Ultr., 2.ª ser., n.°** 33: 89-114.

23. PINHO, B. B.; PINTO, J. S. e HENRIQUES, D. C., 1956 — Intoxicação alimentar colectiva por berbigão (**Cardium edule** L.). **J. Soc. Cien. Med.,** 120: 3.

24 PINTO, J. S., 1949 — Um caso de **red water** motivado por abundância anormal de **Gonyaulax polyedra** Stein. **Bol. Soc. Port. Cien. Nat.,** XVII: 94-96.

25. PINTO, J. S., 1953 — Intoxicações alimentares e outros acidentes causados por Flagelados marinhos. **A Medicina Contemporânea,** LXX, 2: 103-19.

26. PINTO, J. S. e SILVA, E. S., 1956 — The toxicity of **Cardium edule** L. and its possible relation to the Dinoflagellate **Prorocentrum micans** Ehr. Not. **Est. do Inst. Biol. Mar., n.°** 12: 1-21.

27 PRAKASH, A., 1967 — Growth and toxicity of a marine Dinoflagellate, **Gonyaulax tamarensis** Labour, **J. Fish. Res. Bd. Canada,** 24: n.° 7: 15.

28. RUGGIERI, G. D., 1976 — Marine organisms with novel chemical constituents are excelent sources of new drugs. **Science,** 194: 491-497.

29 SAKSHAUG, E.; JENSEN, A. e PRAKASH, A., 1971 — **Gonyaulax tamarensis,** the causative organism of mussel toxicity in Trondheimsfjord. **Inst. Couns. Expl. Sea, L:** 14.

30 SAMPAIO, A. A. C.; MENDES, M. E. e CORREIA, F., 1946 — Um caso de intoxicação colectiva por marisco. **Bol. Inst. Sup. Hig. Dr. Ricardo Jorge,** 1: 206-215.

31. SHILO, M., 1964 — Review on toxinogenic algae. **Verh. Int. Verein. theor. angew. Limnol.,** 15: 782-794.

32. SHILO e ASCHNER, M., 1953 — Factors governing the toxicity of cultures containing the phytoflagellate **Prymnesium parvum** Carter. **J. Gen. Microbiol.,** 8 (3): 333-343.

33. SHILO, M. e ROSENBERGER, R. F., 1960 — Studies on the toxic principles formed by the Chrysomonad **Prymnesium parvum** Carter. **Ann. New York Acad. of Scien.,** 90, n.° 3.

34 SIEBURTH, J. M. N., 1968 — The influence of algal antibiosis on the ecology of marine organisms. In: **Advances in Microbiology of the Sea, Ed. Droop & Wood:** 63-94.

35. SILVA, E. S., 1952 — Estudos de plancton na lagoa de Óbidos. I. Diatomáceas e Dinoflagelados. **Rev. Fac. Cien. Lisboa, 2.ª ser. C** (2): 5-44.

36 SILVA, E. S., 1953 — **Red water** por **Exuviella baltica** Loh. com simultânea mortandade de peixes nas águas litorais de Angola. **An. Jun. Inv. Ultr.,** III, T. 1, f. II: 3-12.

37. SILVA, E. S., 1959 — Some observations on marine Dinoflagellates cultures. I. **Prorocentrum micans** Ehr. and **Gyrodinium** sp., **Not. Est. do Inst. Biol. Mar.,** n.° 21: 1-20.

38 SILVA, E. S., 1962 — Idem. III **Gonyaulax tamarensis** Leb. and **Peridinium trocholdeum** Lemm. **Idem,** n.° 26: 1-26.

39 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 Inter. Seaweed Symp.** (1961): 265-275.

40 SILVA, E. S., 1968 — Plancton da lagoa de Óbidos (III). Abundância, variações sazonais e grandes blooms. **Not. Est. do Inst. Biol. Mar.,** n.° 34: 1-87.

41. SILVA, E. S., 1971 — The «small form» in the life cycle of Dinoflagellates and its cytological interpretation. **Proc. 2nd Intern. Plankt. Conf., Roma** (1970): 1157-1167.

42. SILVA, E. S., 1972 — The cytology of **Glenodinium foliaceum** Stein. **Proc. 7th Inter. Seaweed Symp. Sapporo** (1971): 192-197.

43. SILVA, E. S., 1974 — Ecological factors responsable for intensive growth in Dinoflagellates and their expression in the life cycle phases. in: **Actualités Protozoologiques, 4th Intern. Congr. on Protozool. Clermont-Ferrand** (1973): 224.

44. SILVA, E. S., 1977 — Some ultrastructural variations of the nucleus in Dinoflagellates throughout the life cycle. **Acta Protozool.**, 16 (3/4): 277-288.

45. SILVA, E. S., 1978 — Endonuclear bacteria in two species of Dinoflagellates. **Protistologica**, XIV, f. 2: 113-119.

46 SILVA, E. S., 1979 — Intracellular Bacteria, the origin of the Dinoflagellates toxicity. **Intern. IUPAC Symp. on Mycotoxins and Phycotoxins. Lausanne. Resumo** in: **Chemische Rundschau.**

47. STEEMAN-NIELSEN, E., 1955 — The production of antibiotics by plankton algae and its effects upon the bacterial activities in the sea. **Pap. in Mar. and Oceanogr., Suppl. to the vol. 3 of Deep-Sea Res.**

48. VAN STOSCH, H. A., 1973 — Observations on vegetative reproduction and sexual life cycles of two freshwater Dinoflagellates, **Gymnodinium pseudopalustris** Schil. and **Woloszynskia apiculata** sp. nov. **Br. Phycol.** J., 8 (2): 105-134.

49 ZOTTER, J. ,1979 — **Exuviella baltica:** a bloom organism of Galveston Bay System. **Proc. 2nd Intern. Conf. on Toxic Dinoflagellates blooms. Miami** (1978): 195-198.

50. Proceedings of the First International Conference on Toxic Dinoflagellate Blooms. Boston, 1974.

51. Proceedings of the Second International Conference on Toxic Dinfoflagellate Blooms. Miami, 1978.

ESTUDO PROSPECTIVO DE LIPÍDEOS SANGUÍNEOS EM AMOSTRAS DA POPULAÇÃO PORTUGUESA (a)

Valores de referência na região de Lisboa

Alfredo Franco (1)
Maria do Carmo Martinho (2)
Maria do Carmo Cavalheiro Martins (3)

I — Introdução

Desde que, há cerca de um século, se começou a falar da possível inter-relação colesterol-aterosclerose, este problema tem assumido grande complexidade. O enorme desenvolvimento, ultimamente verificado da Bioquímica e da Fisiologia, assente em técnicas de laboratório cada vez mais aperfeiçoadas e permitindo resultados exactos e precisos, passíveis de comparação, permitiu que se determinassem com confiança e se valorizassem outras fracções lipídicas, seus mecanismos de transporte e fixação nas paredes vasculares. Foi este desenvolvimento das duas ciências que possibilitou aos investigadores clínicos e laboratoriais o estudo da inter-relação hiperlipidémias-desenvolvimento da aterosclerose, quer a nível humano quer a nível experimental em animais de laboratório.

Por outro lado, as doenças ateroscleróticas, particularmente as cérebro-vasculares e as isquémicas do miocárdio e dos membros inferiores, tornaram-se uma das causas mais frequentes de morbilidade e de mortalidade, sobretudo nos países industrializados.

Entre nós também vários autores se têm dedicado ao estudo das doenças ateroscleróticas e da sua relação com as hiperlipidémias. De facto estas doenças têm tomado grande incremento no nosso País e assim, recentemente, em 1975, os dados estatísticos revelam que as doenças cérebro-vasculares e as isquémias do coração estão à cabeça nas causas de mortalidade desse ano no País (30,2 % no total dos óbitos).

Já em 1966 e 1968 um de nós deu a conhecer resultados da determinação de colesterol do sangue em uma amostra de população considerada sã da área de Lisboa. Ampliamos agora esse estudo com maior número de pessoas analisadas e diferentes condições laboratoriais, apresentando neste trabalho os valores de referência de várias fracções lipídicas em uma amostra de população da região

---

(a) Extracto de trabalho de investigação em curso e de colaboração entre a Consulta de Aterosclerose e Dislipidémias dos Hospitais Civis de Lisboa (A. Franco e M. C. Martinho) e o Laboratório de Química Clínica do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (M. C. Cavalheiro Martins).

(I) Director de Serviço de Clínica Médica dos H.C.L.

(II) Especialista de Clínica Médica dos H. C. L. Responsável pela Consulta de Aterosclerose dos H. C. L.

(III) Responsável pelo Laboratório de Química Clínica e Hematologia do INSA.

de Lisboa considerada clinicamente sã e sua descrição estatística. Com o conhecimento destes valores é nosso objectivo efectuar ulteriores estudos sobre o papel que as hiperlipidémias podem ter na epidemiologia das doenças ateroscleróticas entre nós.

II — Material e Métodos

1 — *Amostras*

As amostras de sangue foram colhidas com um jejum de, pelo menos, 12 horas em indivíduos considerados clinicamente sãos por criteriosa observação clínica e que acederam voluntariamente a efectuar os exames.

Os soros e plasmas (EDTA) obtiveram-se por centrifugação imediata uma vez recebidas as amostras, no laboratório; as determinações que envolviam lipoproteínas efectuavam-se imediatamente, enquanto que as de colesterol e triglicerídos se faziam em período que não excedia os três dias.

2 — *As determinações efectuadas — métodos e variações analíticas*

a) *As determinações e os métodos laboratoriais utilizados*

Efectuámos as determinações a seguir indicadas com os métodos referidos, em 1369 pessoas (945 do sexo masculino e 424 do sexo feminino).

— Lipoproteínas de baixa densidade (β+ +Pré β) — Burstein e Samaille
— Colesterol total — Watson modificado
— Colesterol α e β lipoproteínas — Watson modificado para o colesterol ligado às α lipoproteínas, após precipitação do colesterol ligado às β+Pré β lipoproteínas por heparina e manganês ião
— Triglicerídos — Von Eggstein - Richterich
— Electroforese de lipoproteínas — em agarose, segundo modificação do método de Noble

b) *Padronização e controlo de qualidade*

Os reagentes utilizados foram preparados no laboratório, as determinações de colesterol e triglicerídos padronizadas, em cada série, por introdução de duplicados de diferentes concentrações de padrões, todos os métodos controlados diariamente em função de um «pool» de soros do laboratório e de materiais de referência adquiridos no comércio.

Podemos considerar que as variações analíticas no próprio dia e de dia para dia se mantiveram constantes ao longo da execução do trabalho, o que procuramos demonstrar através dos valores dos desvios padrão e dos coeficientes de variação patentes no quadro seguinte, N.º I — 1, e obtidos em três fases distintas — princípio (I), meio (II) e fim (III) — do período de tempo durante o qual efectuámos o presente trabalho.

As determinações envolvendo lipoproteínas, colesterol α e β lipoproteínas, lipoproteínas Pré β+β, electroforese, acusam os mais altos coeficientes de variação, embora, todavia, dentro dos limites internacionalmente aceites como bons. Deve-se este facto à natureza dos métodos usados, que são os disponíveis, turbidimétricos no todo ou em parte (β+Pré β lipoproteínas, colesterol α e β lipoproteínas) à densitometria, processo que quantifica as fracções electroforéticas de maneira não absoluta, e ainda à labilidade das lipoproteínas nos soros de referência, ao longo do tempo. Este último aspecto permitiu mesmo avaliar apenas, com segurança, a variabilidade laboratorial no próprio dia e não de dia para dia. Procurámos, todavia, e sempre que as nossas determinações de lipoproteínas β+Pré β, colesterol α e β, fossem tão exactas e precisas quanto possível por repetição, em triplicado, das determinações turbidimétricas no soro de cada um dos indivíduos analisados.

c) *Análise estatística*

A amostra populacional considerada não é, nem pretende ser, nos vários grupos etários, representativa da pirâmide etária portuguesa, já que, como referimos, as colheitas foram feitas em voluntários.

Os resultados de cada uma das determinações efectuadas foram analisados estatisticamente, considerando os parâmetros de tendência central, a dispersão e a assimetria, por sexos e diferentes grupos etários e para a globalidade destes grupos, em cada sexo.

No sexo masculino o grupo etário mais numeroso situa-se na década dos 30 anos, enquanto que no feminino é na década dos 40.

O grupo etário superior aos 70 anos está pouco representado nos dois sexos, particularmente no masculino, o que aliás também acontece no conjunto da população de Lisboa, cerca de 1 homem para duas mulheres.

QUADRO N.º I — 1

Variações analíticas no próprio dia e de dia para dia

	NO PRÓPRIO DIA			DIA A DIA		
	I	II	III	I	II	III
COLESTEROL						
N.º de ensaios	30	58	30	30	58	30
Média, mg/100 ml	192,5	194,52	299,7	192,5	194,52	299,7
Desvio padrão	6,4	6,49	7,18	5,09	5,27	7,4
Coef. variação %	3,3	3,3	2,39	2,64	2,7	2,47
TRIGLICERIDOS						
N.º de ensaios	30	28	27	30	28	27
Média, mg/100 ml	60	114,5	112,7	60	114,5	112,7
Desvio padrão	2	2,87	3	2,7	3,56	4
Coef. variação %	3,3	2,5	2,66	4,5	3,10	3,6
LIPOP. BAIXA DENSIDADE (β+Pré β)						
N.º de ensaios	30	30	30	30	30	30
Média, mg/100 ml	320,5	480,9	533	320,5	480,9	533
Desvio padrão	28,9	43,0	40,9	24,4	43,5	44,5
Coef. variação %	9,0	8,9	7,67	7,6	9,04	8,35
COLESTEROL α LIPOPROTEÍNAS						
N.º de ensaios			18			18
Média, mg/100 ml			58,3			58,3
Desvio padrão			3,8			3,9
Coef. variação %			6,55			6,7
LIPIDOGRAMA						
α lipiproteínas						
N.º de ensaios	10	12	11			
Média, mg/100 ml	23,5	34,5	30,11			
Desvio padrão	15,5	2,36	2,1			
Coef. variação %	6,6	6,8	7			
Pré β lipoproteínas						
N.º de ensaios	10	12	11			
Média, mg/100 ml	16,5	12,18	11,06			
Desvio padrão	0,69	0,70	0,66			
Coef. variação %	4,2	5,75	5,96			
β lipoproteínas						
N.º de ensaios	10	12	11			
Média, mg/100 ml	60	53,32	58,82			
Desvio padrão	1,5	2,46	3,52			
Coef. variação %	2,5	4,62	6			

III — Resultados e Comentários

Os resultados obtidos para os constituintes lipídicos séricos em adultos, considerados por sexo e grupos etários de dez anos, a partir dos 20 anos, constam dos quadros, histogramas e curvas de distribuição n.ºs III — 1 a III — 30.

Índices estatísticos mencionados:

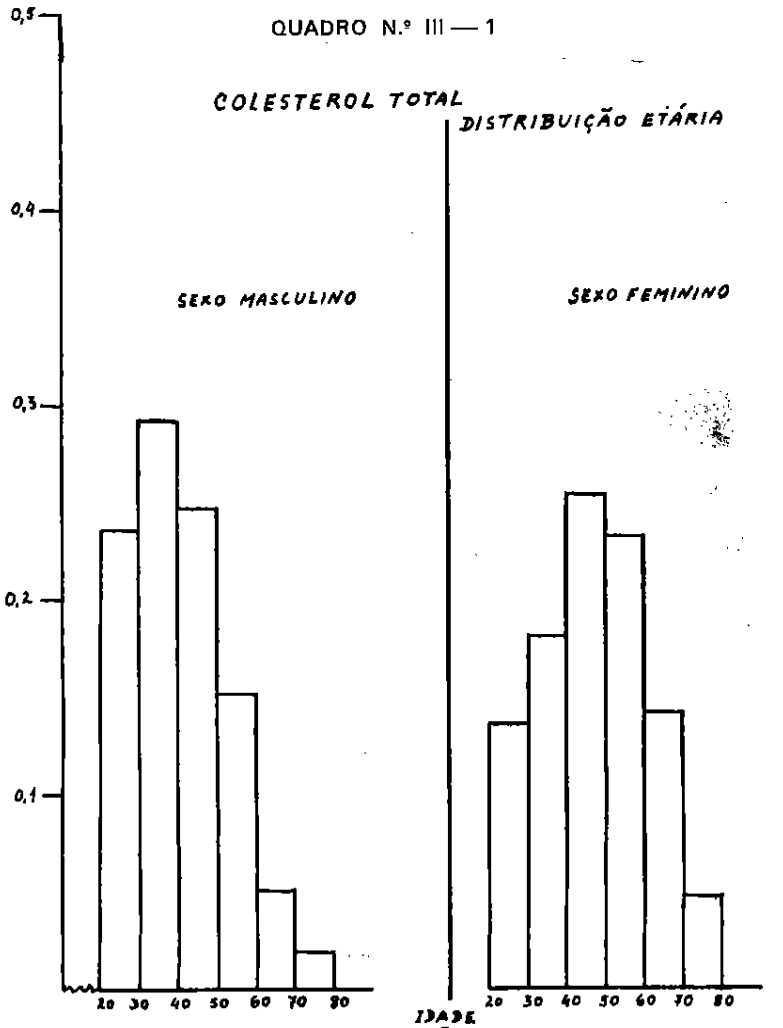
n — número de indivíduos
$\bar{x}$ — média aritmética
mo — moda
me — mediana
s — desvio padrão
C.V. — coeficiente de variação por cento
$x'm = \bar{x} - 2s$
$x'M = \bar{x} + 2s$
$\emptyset$ — percentagem de observações entre $\bar{x} - 2s$ e $\bar{x} + 2s$
$g = \frac{\bar{x} - mo}{s}$
f (x) — frequência de cada uma das classes de valores relativamente ao total de observações

Colesterol total

Verifica-se que, para este constituinte sérico, tal como para todos os outros que determinámos e conforme referimos em MATERIAL E MÉTODOS, o grupo etário mais numeroso é no sexo masculino o dos 30-39 anos e, no feminino, o dos 40-49 anos.

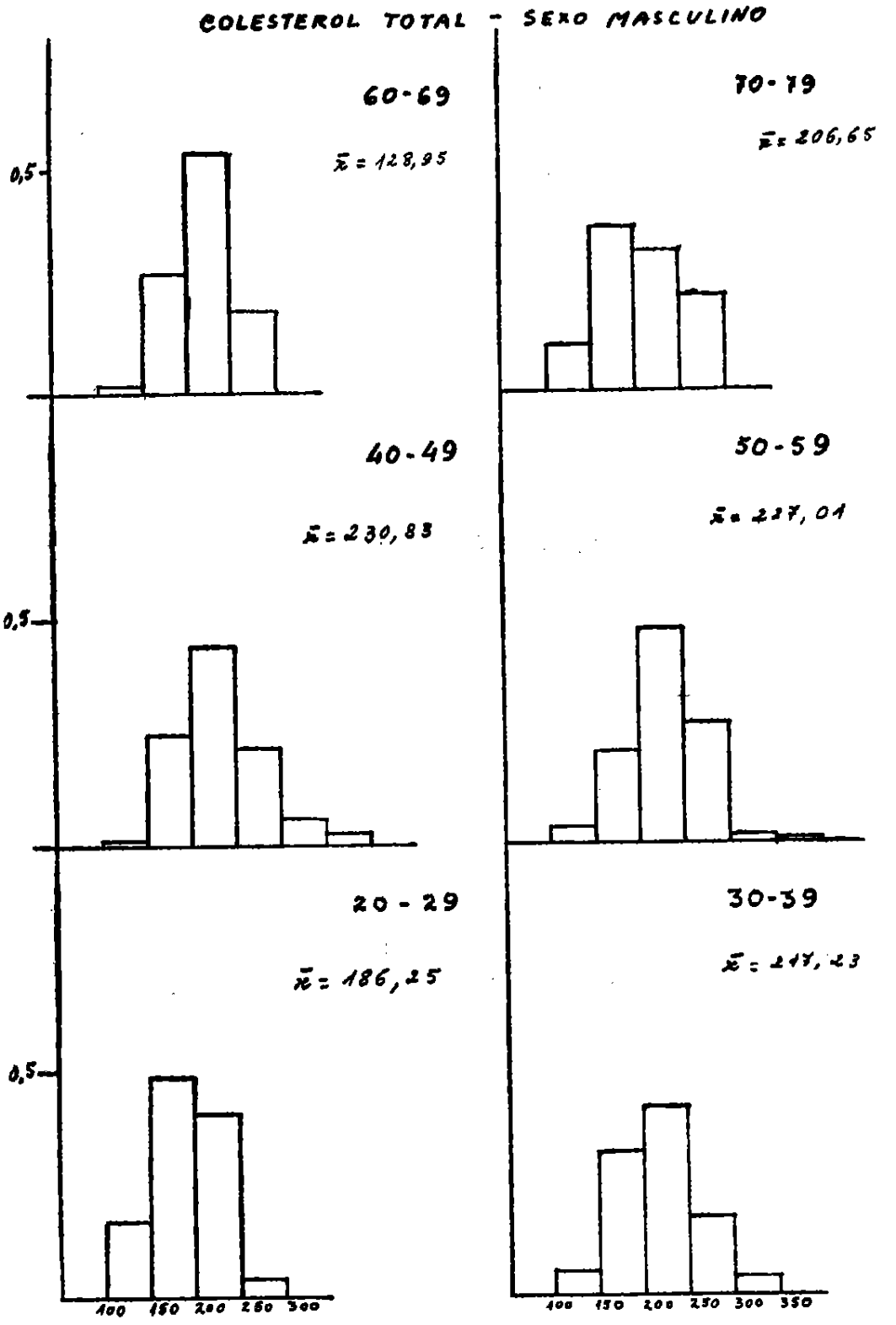
COLESTEROL TOTAL

QUADRO N.º III — 1



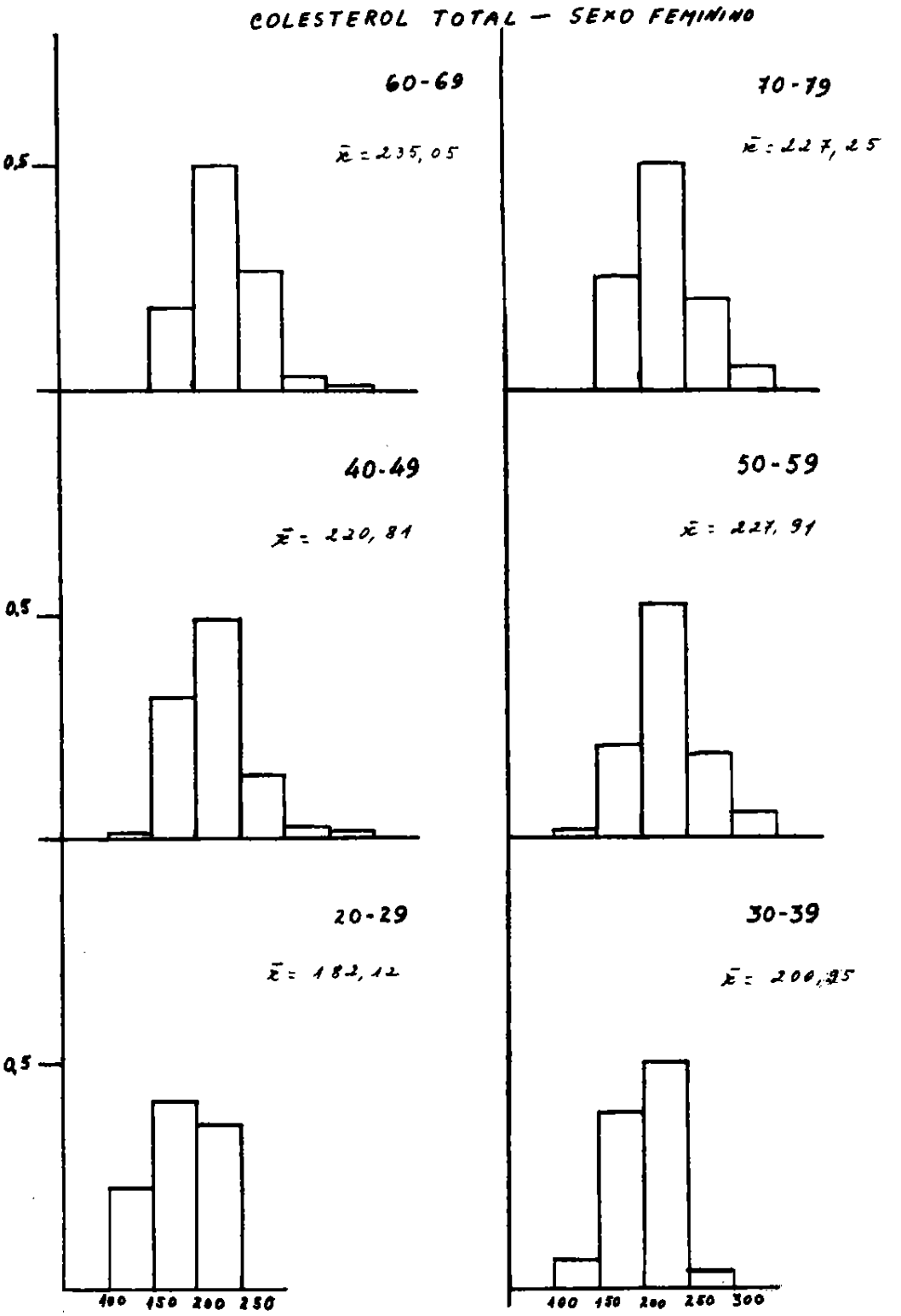
Histograma representativo da distribuição etária e por sexos, na população analisada

QUADRO N.º III — 2



Histograma representativo da distribuição das concentrações de colesterol encontradas no sexo masculino, por grupos etários. Está referido o valor médio obtido para cada um desses grupos etários

QUADRO N.º III — 3



Histograma representativo da distribuição das concentrações de colesterol encontradas no sexo feminino, por grupo etário; está referido o valor médio obtido para cada um dos grupos etários

QUADRO N.º III — 4

COLESTEROL TOTAL — MASCULINOS

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	∅	g	Gl
GLOBAL	945	214,46	213,55	213,90	42,24	19,7	129,98	298,94	0,952	0,02	0,554
20 — 29	224	186,25	182,16	184,46	34,73	18,6	116,79	255,71	0,908	0,117	0,174
30 — 39	277	217,23	214,71	216,02	42,40	19,5	132,43	302,03	0,924	0,061	0,431
40 — 49	233	230,83	223,21	227,69	42,73	18,5	145,37	316,29	0,925	0,179	1,208
50 — 59	143	227,01	228,27	227,58	42,61	18,7	141,88	312,32	0,953	−0,030	−0,034
60 — 69	49	218,95	221,7	220,24	35,85	16,4	147,17	290,73	0,947	−0,076	−0,066
70 — 79	19	206,65	191,75	204,27	46,48	22,5	113,69	299,61	0,970	0,32	0,008

Colesterol total — mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários do sexo masculino e para o global de todos estes grupos.

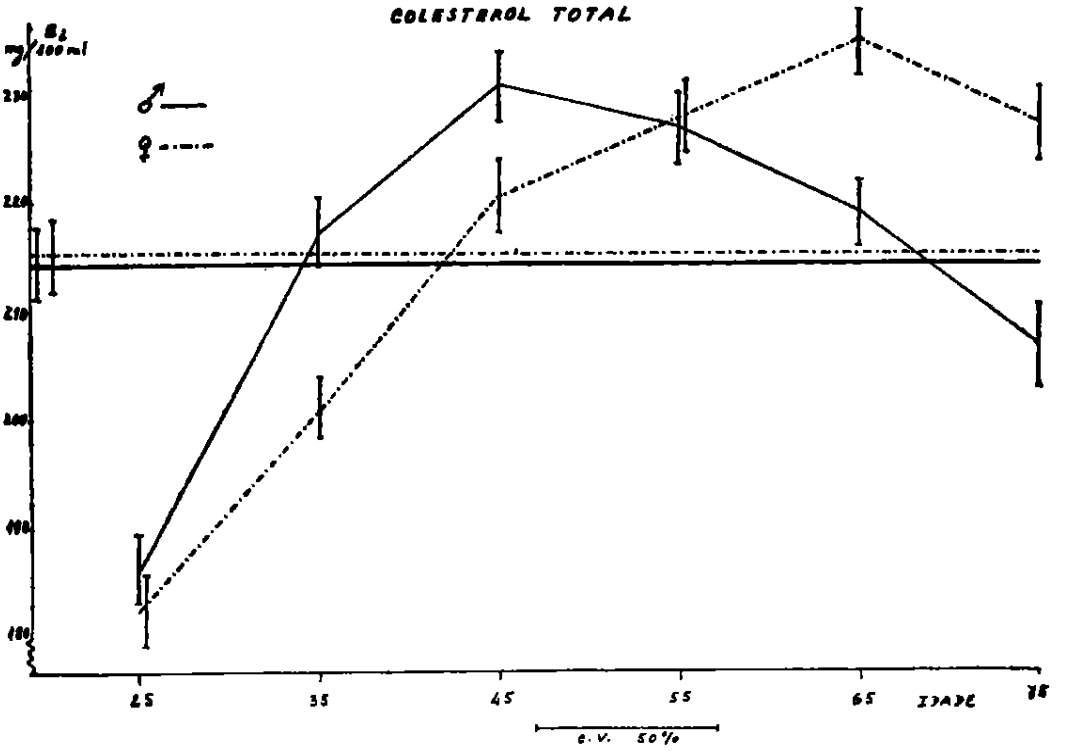
QUADRO N.º III — 5

COLESTEROL TOTAL — FEMININOS

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	∅	g	Gl
GLOBAL	424	215,92	217,6	216,02	43,88	20,32	128,16	303,68	0,939	−0,038	0,43
20 — 29	58	182,12	189,25	183,33	36,58	20,08	108,98	255,26	0,960	−0,195	−0,38
30 — 39	77	200,95	209,95	204,45	33,82	16,8	133,31	268,59	0,932	−0,266	−0,39
40 — 49	108	220,81	216,67	217,92	43,45	19,6	133,91	307,71	0,952	0,095	1,2
50 — 59	101	227,91	224,23	225,90	42,04	18,4	143,83	312,03	0,938	0,087	0,26
60 — 69	60	235,05	228,79	231,7	41,67	17,7	151,7	318,39	0,956	0,15	0,431
70 — 79	20	227,25	212,5	225	41,62	18,3	144,01	316,08	0,966	0,36	0,45

Colesterol total — mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários do sexo feminino e para o global de todos estes grupos

QUADRO N.º III — 6



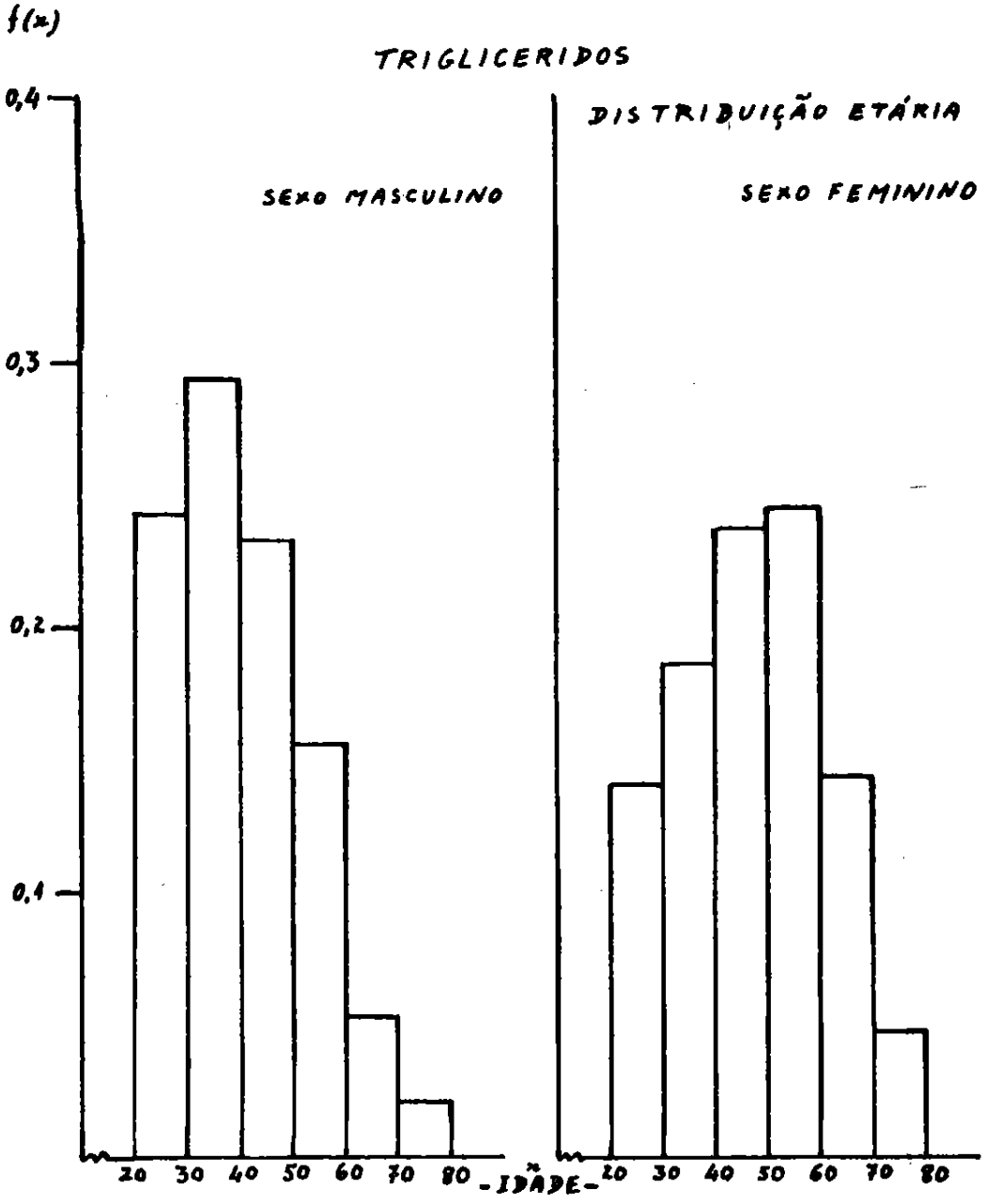
Curva representativa das variações das concentrações do colesterol por idade e sexo — síntese dos mapas III — 4 e III — 5. Encontram-se assinalados os coeficientes de variação para cada grupo etário

No sexo masculino a curva é ascendente até à idade dos 40 e descendente a partir daí; no sexo feminino é ascendente até à década dos 60 e só a partir daí é descendente. Os valores médios totais para cada sexo são muito semelhantes e a dispersão não é muito marcada.

Em síntese podemos pois referir para a distribuição do colesterol total: dispersão relativamente reduzida, simetria positiva (enviezada à esquerda).

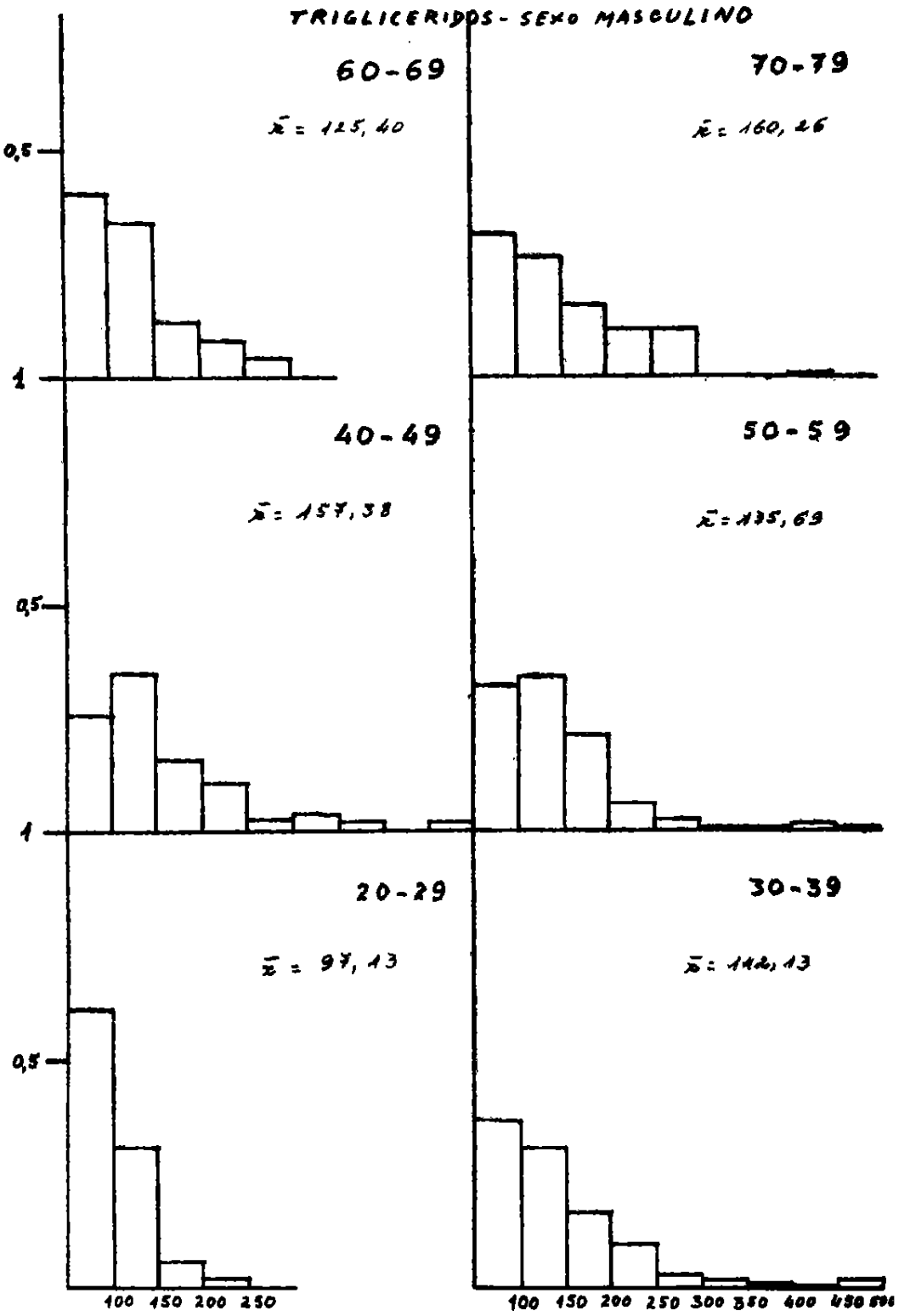
TRIGLICERIDOS

QUADRO N.º III — 7



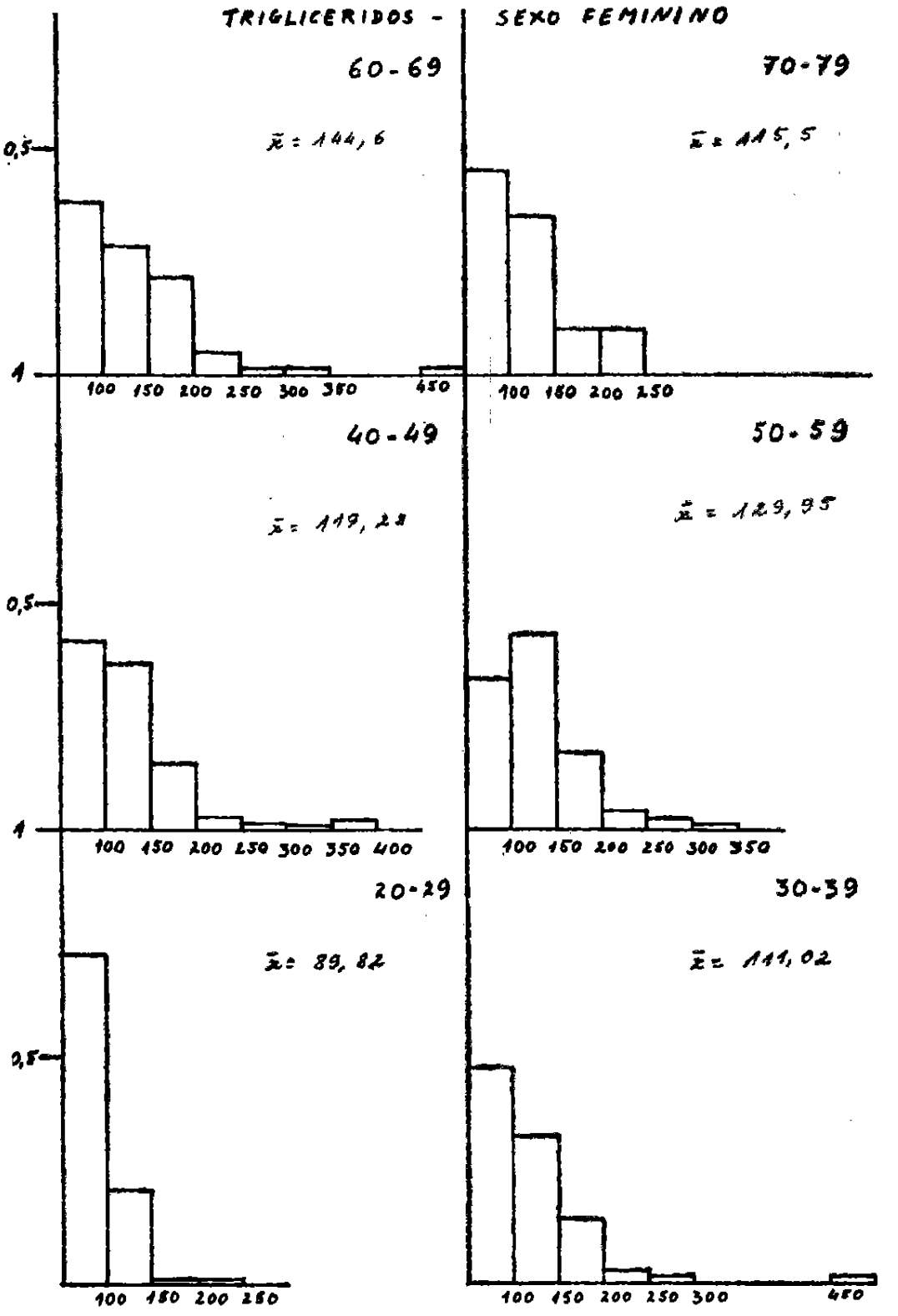
Triglicéridos: — histograma representativo da distribuição etária e por sexos na população analisada

QUADRO N.º III — 8



Histograma representativo da distribuição das concentrações de triglicéridos encontradas no sexo masculino por grupos etários; está referido o valor médio obtido para cada um dos grupos etários

QUADRO N.º III — 9



Histograma representativo da distribuição das concentrações de trigliceridos encontradas no sexo feminino por grupos etários; está referido o valor médio obtido para cada um dos grupos etários

QUADRO N.º III — 10

TRIGLICERIDOS — MASCULINOS

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	∅	g	G1
GLOBAL	928	134,64	92,13	116,15	82,08	62	(50)	297,53	0,957	0,502	1,941
20 — 29	225	97,13	83,56	90,98	34,66	36	(50)	166,45	0,940	0,393	1,687
30 — 39	272	142,13	93,03	122,30	90,40	64,6	(50)	332,93	0,964	0,543	1,510
40 — 49	216	157,38	116,07	134,28	102,02	64,8	(50)	361,42	0,955	0,405	1,475
50 — 59	144	135,69	107	126,47	75,19	55,4	(50)	286,07	0,956	0,382	2,235
60 — 69	49	125,40	93,49	113,25	56,20	44,8	(50)	237,8	0,938	0,567	1,013
70 — 79	19	160,26	92,85	134,98	93,71	58,5	(50)	347,68	0,949	0,719	1,105

Triglicerídos: — mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários no sexo masculino e para o global de todos estes grupos

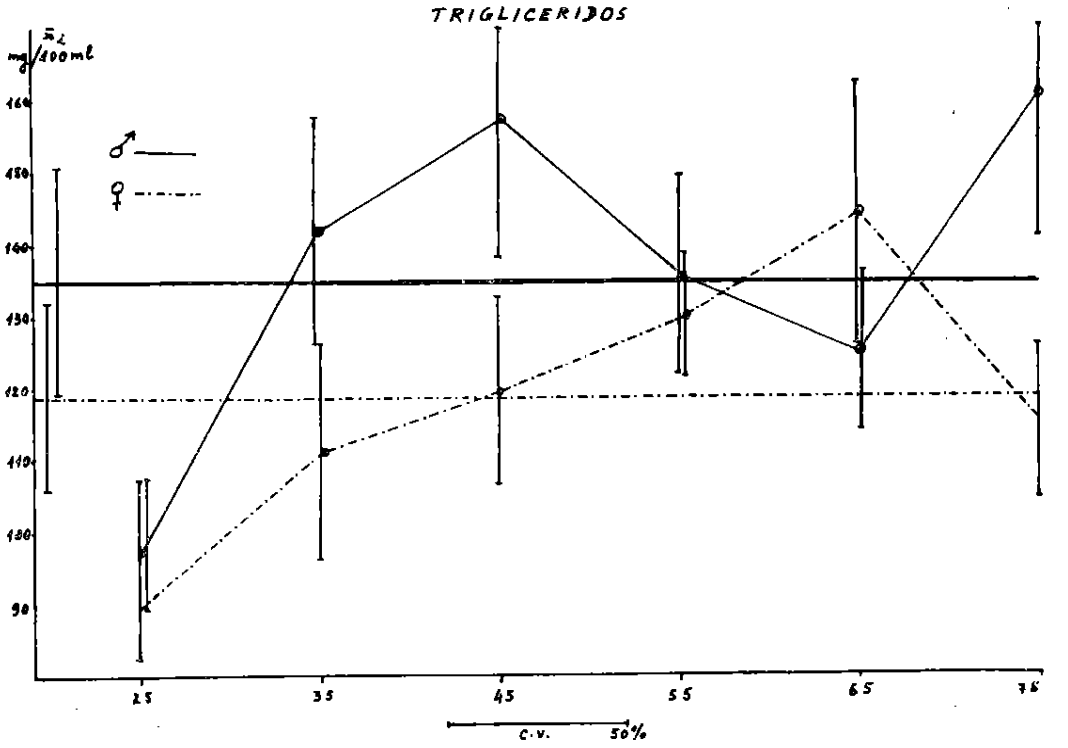
QUADRO N.º III — 11

TRIGLICERIDOS — FEMININOS

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	x	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	∅	g	G1
GLOBAL	415	118,77	90,18	108,01	62,13	52	(50)	243,03	0,960	0,46	2,616
20 — 29	58	89,82	79,17	84,53	51,94	57,76	(50)	193,7	0,962	0,205	0,819
30 — 39	78	111,02	87,80	104,05	67,87	61	(50)	246,7	0,973	0,342	3,31
40 — 49	98	119,28	94,56	111,17	63,04	52,85	(50)	245,36	0,956	0,392	1,933
50 — 59	100	129,95	113,88	119,77	45,02	34,64	(50)	220	0,946	0,357	1,43
60 — 69	60	144,6	89,65	120,67	104,96	72,5	(50)	353,98	0,966	0,238	0,956
70 — 79	20	115,5	90,91	107,14	49,44	42,8	(50)	214,38	0,929	0,497	1,015

Triglicerinos: — mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários no sexo feminino e para o global de todos estes grupos

QUADRO N.º III — 12



Curva representativa das variações das concentraçõeõs dos trigliceridos por idade e sexo. Encontram-se assinalados os coeficientes de variação para cada grupo etário

No sexo masculino e, tal como no colesterol, a curva é ascendente até à década dos 40 e descendente a partir daí e até à década dos 60 para depois voltar a subir, diferentemente do que sucedia na curva do colesterol que descia; no sexo feminino e tal como no colesterol é ascendente até à década dos 60 e só a partir daí é descendente.

Os valores médios totais, para cada sexo, distanciam-se um pouco mais que no colesterol, sendo mais elevados no sexo masculino.

A dispersão é aqui muito maior que no colesterol e a distribuição ligeiramente assimétrica positiva.

QUADRO N.º III — 13

COLESTEROL α — LIPOPROTEÍNAS — MASCULINOS

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	Ø	g	G1
GLOBAL	840	68			26,10	38	15,8	120,2			
20 — 29	207	64,85			21,40	32,99	22,05	107,65			
30 — 39	229	70,85			29,20	41,21	12,48	129,25			
40 — 49	212	70,42			27,09	38,47	16,30	124,6			
50 — 59	131	65,07			24,19	37,17	16,69	113,45			
60 — 69	45	63,44			22,6	35,62	18,24	108,64			
70 — 79	17	65			25,43	39,12	14,14	115,85			

Colesterol α lipoproteínas: — mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários e para o global destes grupos — sexo masculino

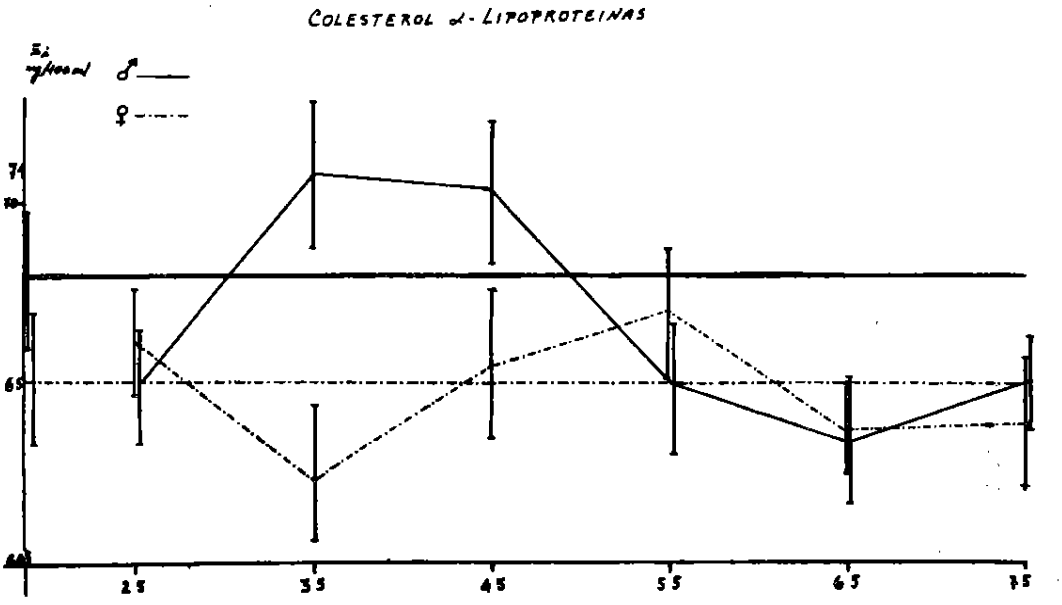
QUADRO N.º III — 14

COLESTEROL α — LIPOPROTEÍNAS — FEMININOS

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	Ø	g	G1
GLOBAL	389	65			23,48	36	18,04	111,96			
20 — 29	56	66,25			18,98	28,64	28,29	106,21			
30 — 39	69	62,39			23,49	37,66	15,41	109,37			
40 — 49	103	65,48			26,99	41,21	11,5	119,46			
50 — 59	89	67,02			24,5	36,61	18,02	116,02			
60 — 69	54	63,70			16,67	26,16	30,36	97,04			
70 — 79	19	63,94			22,68	35,47	18,58	109,3			

Colesterol α lipoproteínas: — mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários e para o global destes grupos — sexo feminino

QUADRO N.º III — 15



Curva representativa das variações do colesterol α lipoproteínas por idade e sexo, síntese dos mapas III — 13 e III — 14

É difícil a interpretação desta curva que não apresenta relação com a curva do colesterol total.

No sexo masculino o ponto mais alto é atingido na década dos 30 anos, para descer até à década dos sessenta e voltar depois a subir ligeiramente.

De acordo com a importância que actualmente se dá ao colesterol ligado às α lipoproteínas (HDL, segundo a mais comum terminologia internacional) quererá isso dizer que é maior o risco de aparecimento de doenças vasculares a partir, precisamente, da década dos 40 ?

A curva no sexo feminino é ainda mais complexa. Nota-se uma descida da década dos 20 para a dos 30 anos, depois uma subida progressiva até à década dos 50 anos, com uma segunda descida a partir dos 50 anos, para estabilizar em valores baixos pelos 60 anos. Talvez se possa admitir a hipótese de que a baixa na década dos 30 não está em relação com a incidência de doenças aterogénicas nestas idades pela protecção devida aos estrogéneos; pelo contrário, quando as hormonas femininas descem, o risco de eclosão dessas doenças é muito mais acentuado. Na verdade podemos lembrar que para os homens o aparecimento de doenças cardíacas isquémicas é na década dos 50 e nas mulheres a partir da menopausa.

QUADRO N.º III — 16

COLESTEROL β LIPOPROTEÍNAS — MASCULINOS

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	∅	g	G1
GLOBAL	839	146,49			48,33	33	49,83	212,49			
20 — 29	203	120,51			33,24	27,58	54,03	186,99			
30 — 39	226	148,98			46,80	31,41	55,38	242,58			
40 — 49	213	160,15			45,16	28,19	69,83	250,47			
50 — 59	131	158,66			41,83	26,36	75,9	242,32			
60 — 69	45	148,77			57,92	38,93	32,93	264,61			
70 — 79	17	147,94			47,50	32,10	52,94	242,34			

Colesterol β lipoproteínas: — Mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários e para o global destes grupos — sexo masculino

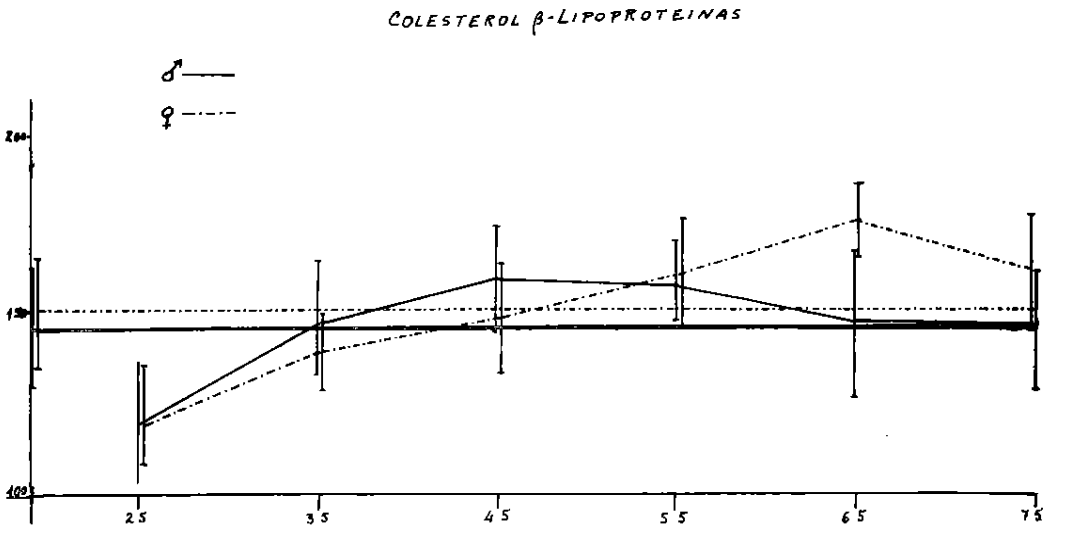
QUADRO N.º III — 17

COLESTEROL β LIPOPROTEÍNAS — FEMININOS

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	∅	g	G1
GLOBAL	386	151,49			43,47	29	64,55	238,43			
20 — 29	56	119,46			31,67	26,51	56,12	182,8			
30 — 39	68	140,88			30,73	21,81	79,42	202,34			
40 — 49	101	149,25			44,26	29,65	60,73	237,77			
50 — 59	89	161,17			48,79	30,27	63,59	258,75			
60 — 69	53	176,13			38,69	21,97	98,75	254,05			
70 — 79	19	163,36			50,88	31,99	100,58	265,32			

Colesterol β lipoproteínas: — Mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários e para o global destes grupos — sexo feminino

QUADRO N.º III — 18



Curva representativa das variações das concentrações do colesterol β lipoproteinas, por idade e sexo, sintese dos mapas III — 16 e III — 17. Acompanha a curva do colesterol total

QUADRO N.º III — 19

LIPOPROTEÍNAS DE BAIXA DENSIDADE (Pré β + β) — MASCULINOS

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	e	C.V.	x'm	x'M	∅	g	G1
GLOBAL	936	526,46			270,94	51	—	1068,34			
20 — 29	223	325,44			128,16	33	—	581,76			
30 — 39	277	563,15			293,22	52	—	1149,59			
40 — 49	225	606,13			257,09	42	92,13	1120,15			
50 — 59	143	602,32			258,09	43	86,32	1118,5			
60 — 69	49	577,24			252,88	44	71,48	1083			
70 — 79	19	534,99			256,43	48	22,15	1047,85			

Lipoproteínas de baixa densidade (β + Pré β) — Mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários e para o global destes — sexo masculino

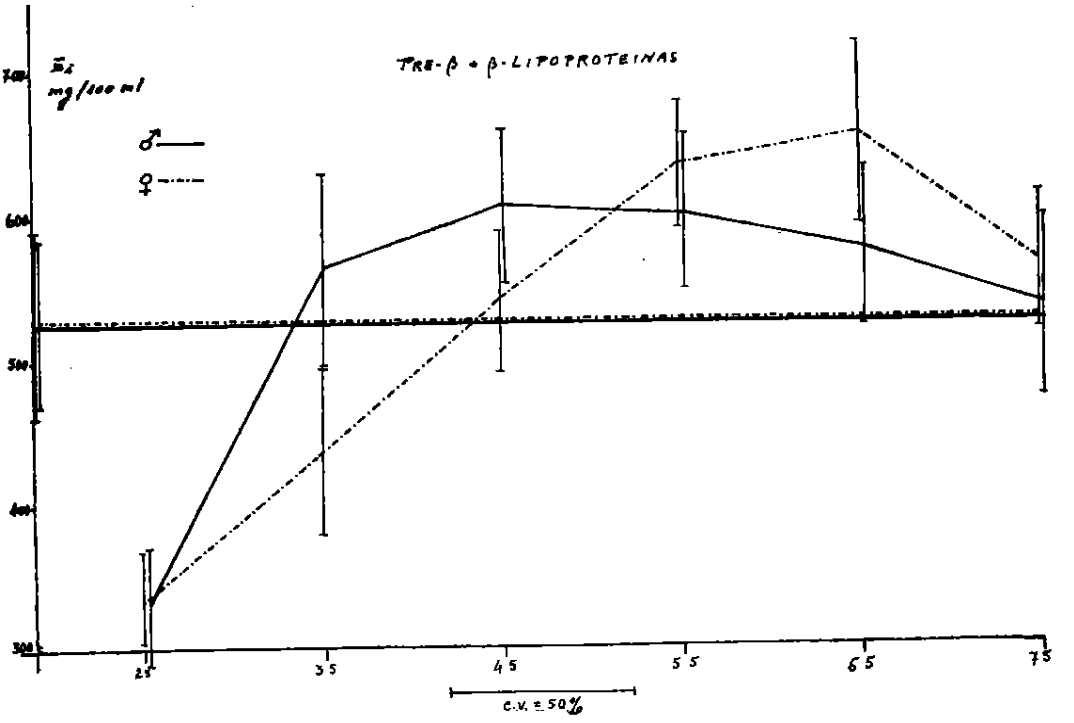
QUADRO N.º III — 20

LIPOPROTEÍNAS DE BAIXA DENSIDADE (Pré β +β) — FEMININOS

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	e	C.V.	x'm	x'M	∅	g	G1
GLOBAL	420	527,65			242,8	46	42,05	1013,25			
20 — 29	55	333,09			85,84	25,77	161,41	504,77			
30 — 39	78	437,05			206,43	47,23	24,19	849,91			
40 — 49	109	544,26			211,18	38,80	121,9	966,62			
50 — 59	98	636,53			218,61	34,34	199,31	1073,75			
60 — 69	60	655,66			324,1	49,43	7,46	1303,86			
70 — 79	20	565,5			207,61	36,71	150,28	980,72			

Lipoproteínas de baixa densidade (β + Pré β) — Mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários e para o global destes — sexo feminino

QUADRO N.º III — 21



Curva representativa das variações de concentrações e das lipoproteínas de baixa densidade (β + Pré β) por idade e sexo, síntese dos mapas III — 19 e III — 20

Há paralelismo com as curvas do colesterol e triglicerídos, o que é lógico dado que são o agente fundamental de transporte destas duas fracções lipídicas.

QUADRO N.º III — 22

α — LIPOPROTEÍNAS (LIPIDOGRAMA) — MASCULINO

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	Ø	g	G1
GLOBAL	948	25,56			11,25	44	3,06	48,06			
20 — 29	223	29,93			8,68	29,0	12,57	47,29			
30 — 39	279	20,50			12,58	61,30	—	45,66			
40 — 49	233	24,73			12,10	48,92	—	48,93			
50 — 59	145	24,06			11,11	46,17	—	46,28			
60 — 69	49	21,77			9,49	43,59	—	40,75			
70 — 79	19	19,24			6,69	34,77	—	32,62			

α lipoproteinas (Lipidograma) — Mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários e para o global destes grupos — sexo masculino

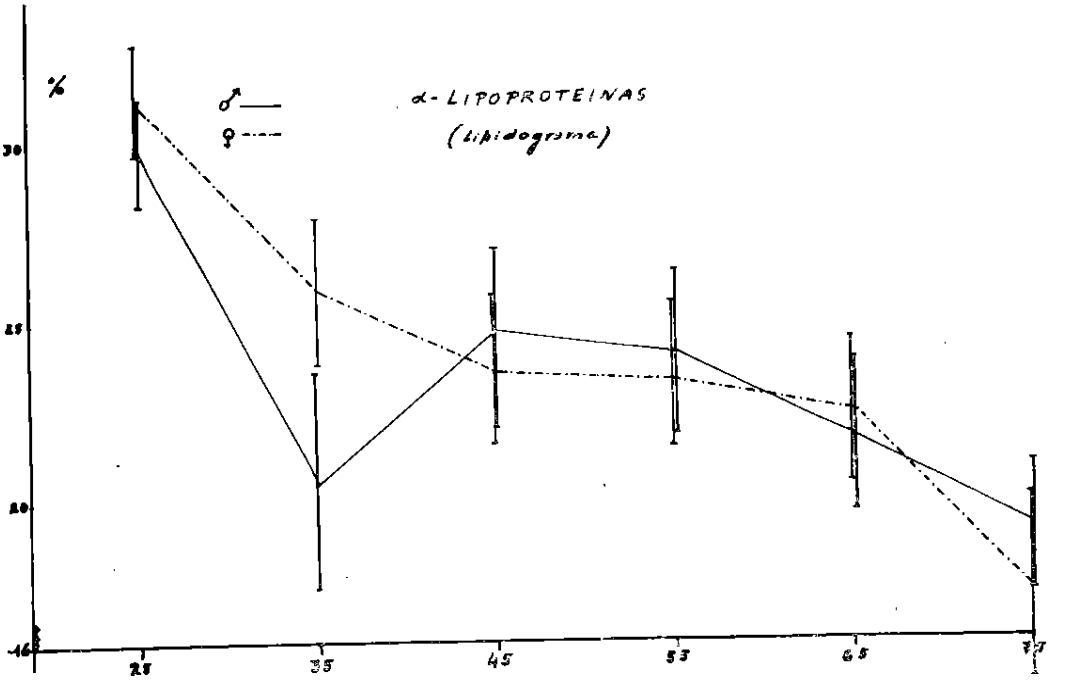
QUADRO N.º III — 23

α — LIPOPROTEÍNAS (LIPIDOGRAMA) — FEMININO

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	Ø	g	G1
GLOBAL	434	24,13			10,35	43	—	44,83			
20 — 29	58	31,20			9,63	30,47	—	50,46			
30 — 39	78	25,91			17,74	41,45	—	61,39			
40 — 49	109	23,64			10,15	42,93	—	43,94			
50 — 59	102	23,35			9,77	41,84	—	43,89			
60 — 69	60	22,43			9,00	40,12	—	40,43			
70 — 79	27	17,37			9,37	53,94	—	36,11			

β lipoproteinas — Lipidograma — Mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários e para o global destes — sexo feminino

QUADRO N.º III — 24



α lipoproteínas (Lipidograma) — Curva representativa das variações das α lipoproteínas por idade e sexo, síntese dos mapas III — 22 e III — 23

QUADRO N.º III — 25

PRÉ β — LIPOPROTEÍNAS (LIPIDOGRAMA) — MASCULINO

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	Ø	g	G1
GLOBAL	885	20,72			12,47	60	—	45,66			
20 — 29	252	20,19			10,28	50,91	—	40,75			
30 — 39	262	22,01			12,44	56,51	—	46,89			
40 — 49	208	21,71			13,71	63,15	—	49,13			
50 — 59	136	19,22			12,75	64,26	—	44,72			
60 — 69	48	15,95			8,21	51,47	—	32,37			
70 — 79	19	20,34			13,03	64,06	—	46,40			

Pré β lipoproteínas (Lipidograma) — Mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários e para o global destes grupos — sexo masculino

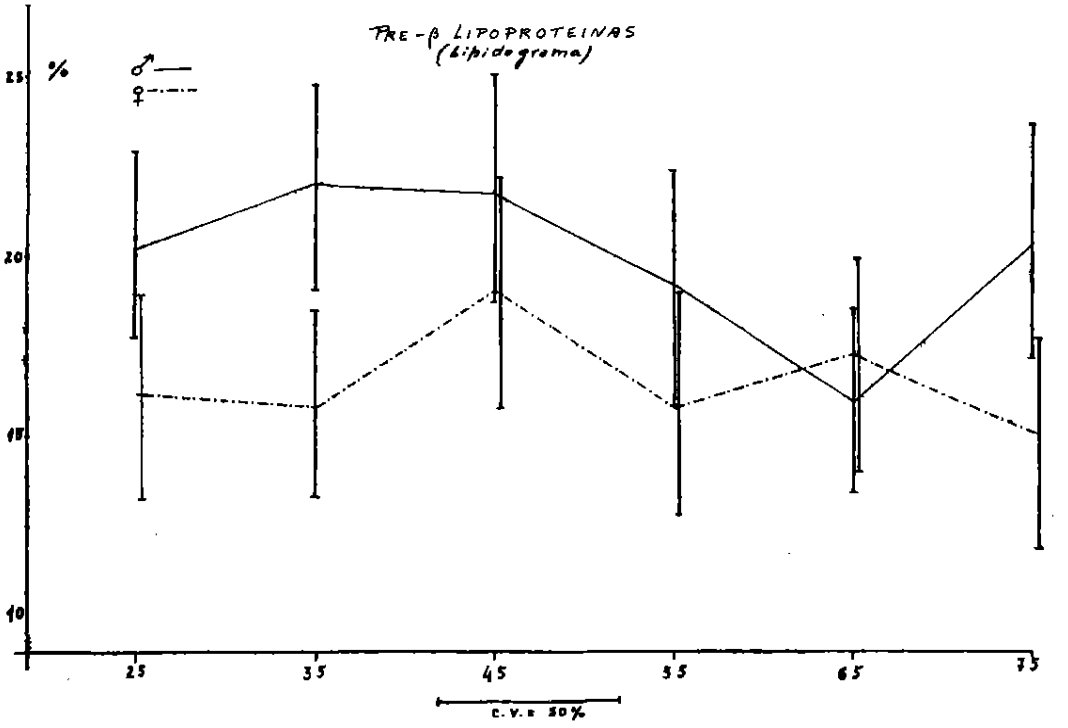
QUADRO N.º III — 26

PRÉ β — LIPOPROTEÍNAS (LIPIDOGRAMA) — FEMININO

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	Ø	g	G1
GLOBAL	409	16,81			10,64	63	—	38,09			
20 — 29	56	16,18			9,25	57,17	—	34,68			
30 — 39	72	15,68			8,14	51,91	—	31,96			
40 — 49	105	19,0			12,10	63,68	—	43,20			
50 — 59	96	15,85			9,71	61,26	—	35,27			
60 — 69	60	17,30			10,11	58,43	—	37,52			
70 — 79	20	15,15			8,18	53,99	—	31,51			

Pré β lipoproteínas (Lipidograma) — Mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários e para o global destes grupos — sexo feminino

QUADRO N.º III — 27



Curva representativa das variações das lipoproteinas Pré β (Lipidograma) por idade e sexo, síntese dos mapas III — 25 e III — 26

Não existe praticamente sobreposição com a curva dos trigliceridos o que é particularmente evidente no sexo feminino.

QUADRO N.º III — 28

β — LIPOPROTEÍNAS (LIPIDOGRAMA) — MASCULINO

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	Ø	g	G1
GLOBAL	926	54,91			12,09	22	30,73	79,09			
20 — 29	218	50,55			9,90	19,58	30,75	70,35			
30 — 39	269	54,03			12,48	23,09	29,07	78,99			
40 — 49	229	55,65			12,46	22,38	30,73	80,57			
50 — 59	142	58,3			12,48	21,41	33,34	83,26			
60 — 69	49	63,57			10.10	15,88	43,37	83,77			
70 — 79	19	60,78			11,83	19,46	37,12	84,44			

β lipoproteínas — Lipidograma — Mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários e para total destes — sexo masculino

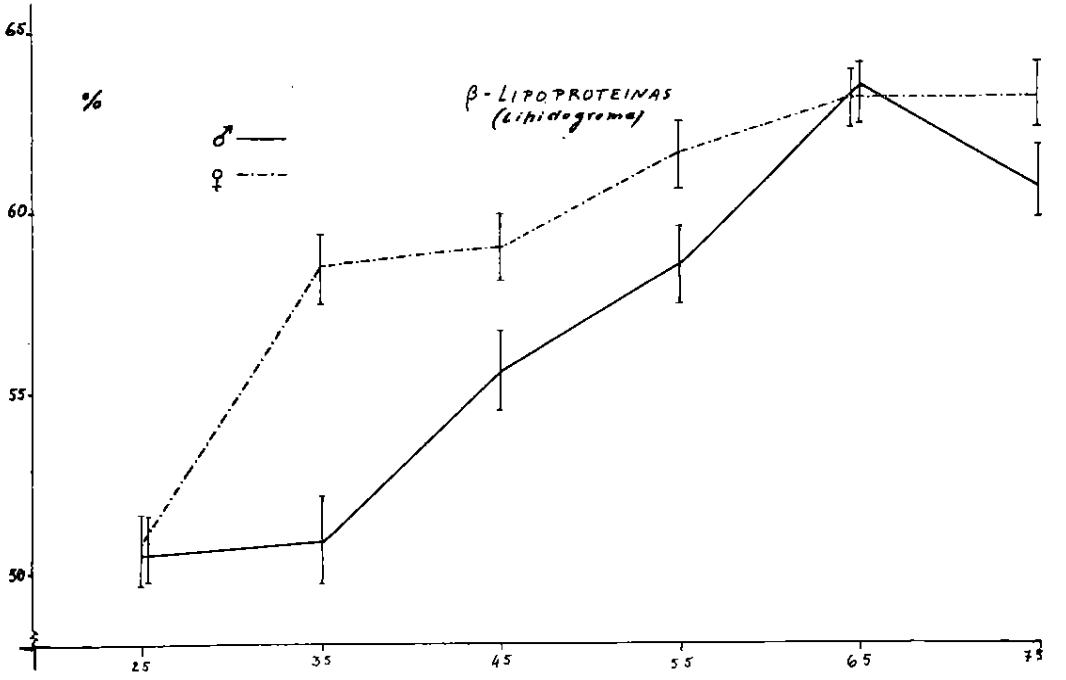
QUADRO N.º III — 29

β — LIPOPROTEÍNAS (LIPIDOGRAMA) — FEMININO

Amostras / Medidas	DIMENSÃO	TENDÊNCIA CENTRAL			DISPERSÃO					ASSIMETRIA	
	n	$\bar{x}$	mo	me	s	C.V.	x'm	x'M	Ø	g	G1
GLOBAL	424	59,74			10,46	18	38,82	80,66			
20 — 29	58	53,96			9,22	17,08	35,52	72,40			
30 — 39	78	58,58			10,49	17,9	37,60	79,56			
40 — 49	108	59,16			10,72	18,12	37,72	80,6			
50 — 59	101	61,73			10,35	16,76	41,03	82,43			
60 — 69	59	63,30			9,41	14,87	44,48	82,12			
70 — 79	45	63,22			10,8	17,8	41,62	84,82			

α lipoproteínas (Lipidograma) — Mapa representativo da análise estatística efectuada por grupos etários e para o global destes grupos — sexo feminino

QUADRO N.º III — 30



β lipoproteínas (Lipidograma) — Curva representativa das variações das β lipoproteínas por idade e sexo, síntese dos mapas III — 28 e III — 29

Sobem simultaneamente até à década dos 60. Inversão dos valores dos masculinos e femininos em relação às curvas do colesterol total.

QUADRO N.º IV — 1

Indivíduos clinicamente sãos — Resultados globais por sexo. Encontram-se assinalados os valores de referência ($\bar{x} + 2s$)

SEXO	COLESTEROL TOTAL mg/100 ml	COLESTEROL α LIPOPROT. mg/100 ml	COLESTEROL β LIPOPROT. mg/100 ml	TRIGLICE-RIDOS mg/100 ml	LIPOPROT. DE BAIXA DENS. (β+Pré β) mg/100 ml	LIPIDOGRAMA		
						α LIPOPROT. %	PRÉ β LIPOPROT. %	β LIPOPROT. %
MASCULINO	$\bar{x}$=214,46 s= 42,24 V.Ref.=214,46 + 84,48 CV%= 19,7 N=945	$\bar{x}$= 68 s= 26,10 V. Ref. 68+ + 52,2 CV%= 38 N=840	$\bar{x}$=146,49 s= 48,33 V.Ref.=146,49 + 96,66 CV%= 33 N=839	$\bar{x}$=134,64 s= 82,08 V. Ref.=134+ +541,88 CV%= 62 N=928	$\bar{x}$=526,46 s=270,94 V.Ref.=526,46 +541,88 CV%= 51 N=936	$\bar{x}$= 25,56 s= 11,25 V.Ref.= 25,56 + 22,5 CV%= 44 N=948	$\bar{x}$= 20,72 s= 12,47 V.Ref.= 20,72 + 24,94 CV%= 60 N=885	$\bar{x}$= 54,91 s= 12,09 V.Ref.= 54,91 + 24,18 CV%= 22 N=926
FEMININO	$\bar{x}$=215,92 s= 43,88 V.Ref.=215,92 + 87,76 CV%= 20,32 N=424	$\bar{x}$= 65 s= 23,48 V. Ref. 65+ + 46,96 CV%= 36 N=389	$\bar{x}$=151,49 s= 43,47 V.Ref.=151,49 + 86,94 CV%= 29 N=386	$\bar{x}$=118,77 s= 62,13 V. Ref. 118,77 +126,26 CV%= 52 N=415	$\bar{x}$=527,65 s=242,8 V.Ref.=527,65 +485,6 CV%= 46 N=420	$\bar{x}$= 24,13 s= 10,35 V.Ref.= 20,13 + 20,7 CV%= 43 N=434	$\bar{x}$= 16,81 s= 10,64 V.Ref.= 16,81 + 21,28 CV%= 63 N=409	$\bar{x}$= 59,74 s= 10,46 V.Ref.= 59,74 + 20,92 CV%= 18 N=424

IV — Conclusões

1 — Não é fácil determinar valores de referência para lipídeos séricos por também não ser fácil excluir de grupos populacionais clinicamente sãos, casos com lesões vasculares ou outras, silenciosas embora, mas susceptíveis de repercussão sobre a lipidemia.

Carlson verificou, a este propósito, numa amostragem de 151 indivíduos aparentemente sãos, que a colesterolémia, definida no seu máximo como $\bar{x}+2s$, era de cerca de 360 mg/100 ml caindo para 320 após exclusão dos indivíduos em que se encontraram alterações patológicas, sobretudo no electrocardiograma de esforço. Carlson verificou mesmo que a influência sobre os triglicerídos era ainda maior.

Na população que estudámos, considerada clinicamente sã, os valores de referência globais por sexo, para os lipídeos sanguíneos considerados, constam do quadro anterior (N.º IV — 1).

Os dois desvios padrão adicionados à média e para cada determinação laboratorial constituem, como para Carlson, o limite máximo dentro do qual deverá cair qualquer hipotético valor observado em dado indivíduo para este poder considerar-se, relativamente ao constituinte lipídico em causa, como não hiperlipidémico.

A inferência destes valores para a população de Lisboa parece-nos, todavia, dever efectuar-se com reserva, dadas as condições da amostra populacional que referimos.

2 — Que comentários nos merece este quadro N.º IV — 1 à luz dos modernos conceitos sobre «valores de referência»?

Existe, e é o mais notório, uma enorme dispersão dos resultados para cada determinação, o que vem expresso pelos altos valores obtidos para o desvio padrão e coeficiente de variação.

Quais os factores que poderão ter sido responsáveis por esta dispersão?

Considera-se que deverão ser mantidas sob controlo, tão rígido quanto possível, ao determinarem-se valores de referência, as variáveis seguintes:

a) condições de colheita;

b) métodos laboratoriais;

c) critérios clínicos a definirem como em «estado de saúde» os indivíduos que constituem a população de referência;

d) conjunto de factores responsáveis por variações fisiológicas intra e inter individuais, como sejam: idade, sexo, actividade física, factores nutricionais, tabagismo e outros.

Procurámos, conforme referimos atrás, em MATERIAL E MÉTODOS, fixar, tanto quanto possível, a generalidade destes factores. Para lá da idade e do sexo, não foi, todavia, nosso objectivo analisar, neste trabalho, a influência que a actividade física, o regimen alimentar, o tabagismo, etc., podem exercer nas variações inter e intra individuais.

Pelo que se refere aos métodos laboratoriais, e relativamente à dispersão dos valores encontrados na população de referência, parece-nos interessante comparar valores, o que fazemos no quadro N. IV — 2 através do desvio padrão (s) e coeficiente de variação por cento (CV %) em um soro controlo (variação analítica) e na população de referência (variação analítica adicionada da variação fisiológica intra e inter individual) para concluirmos que esta é incomparavelmente maior que aquela.

QUADRO N.º IV — 2

		$\bar{X}$	s	CV %
Colesterol mg/100 ml	Soro de controlo	192,5	5,09	2,64
	Pop. de referência	215,21	42	20
Triglicerídos mg/100 ml	Soro de controlo	114,5	3,56	3,10
	Pop. de referência	129,86	76,77	59
Colesterol α L P mg/100 ml	Soro de controlo	58,3	3,9	6,7
	Pop. de referência	65,71	22,7	34,6
Lipoprot. b. densid. (β+Pré β) mg/100 ml	Soro de controlo	533	44,5	8,35
	Pop. de referência	529,7	215,8	40,7
Lipidograma % do total α L P	Soro de controlo	34,5	2,36	6,8
	Pop. de referência	23,7	9,93	41,9
Pré β L P	Soro de controlo	12,18	0,70	5,75
	Pop. de referência	18,21	10,63	58,3
β L P	Soro de controlo	53,32	2,46	4,62
	Pop. de referência	58,6	10,85	18,53

A mais alta dispersão foi obtida para triglicerídos e lipoproteínas de baixa densidade (β + Pré β) mas a dispersão no seu todo relaciona-se primordialmente e, quanto a nós, com o aparecimento, na população estudada e considerada clinicamente sã de cerca de 30,9 % dos homens e 31,56 % das mulheres com os parâmetros estudados altos, relativamente ao que a literatura refere como «normais». Estas percentagens descem para, respectivamente, 20,57 e 17,5 se considerarmos apenas os valores altos verificados em colesterol e/ou triglicerídos, eliminando lipoproteínas de baixa densidade, o que nos parece mais correcto atendendo à inespecificidade e diminuta sensibilidade desta determinação, turbidimétrica, valiosa todavia no rastreio das hiperlipidemias conforme um de nós teve ocasião de expor em trabalho anterior sobre o assunto.

Parece-nos poder distinguir-se, na população de referência estudada, dois subgrupos: um a que chamaremos bioquimicamente «normal» e conforme com os valores considerados «normais»; e outro, bioquimicamente com valores mais altos que esses, clássica e internacionalmente aceites como «normais». O subgrupo bioquimicamente com valores altos influencia o total dos resultados encontrados para a população estudada e constitui, em nossa opinião, a principal causa da dispersão dos valores determinados.

QUADRO N.º IV — 3

Subgrupo com valores considerados bioquimicamente normais

	HOMENS N=681	MULHERES N=299
Lipoproteínas de baixa densidade (β+Pré β) (mg/100 ml)	363,58 ± 216,36	390,5 ± 211,2
Colesterol total (mg/100 ml)	193,28 ± 55,73	194,89 ± 59,4
Colesterol α lipoproteínas (mg/100 ml)	65,42 ± 46,33	65,27 ± 35,8
Colesterol β lipoproteínas (mg/100 ml)	126,92 ± 71,06	155,95 ± 59,16
Triglicéridos (mg/100 ml)	103,5 ± 83,15	94,42 ± 74,11
Lipodograma:		
α lipoproteínas (% do total)	26,98 ± 20,54	25,95 ± 19,08
Pré β lipoproteínas (% do total)	17,52 ± 18,63	29,61 ± 15,39
β lipoproteínas (% do total)	59,64 ± 19,75	60,06 ± 18,46

— Os primeiros números, em cada coluna, representam a média e os segundos dois desvios padrão.

QUADRO N.º IV — 4

Subgrupo com valores que se afastam bioquimicamente dos valores considerados normais

	HOMENS N=335	MULHERES N=135
Lipoproteínas de baixa densidade (β+Pré β) (mg/100 ml)	795,94 ± 376,36	761,08 ± 345,54
Colesterol total (mg/100 ml)	244 ± 78,11	241,43 ± 63,14
Colesterol α lipoproteínas (mg/100 ml)	69,64 ± 63,26	67,66 ± 56,10
Colesterol β lipoproteínas (mg/100 ml)	179,9 ± 81,29	174,74 ± 38,91
Triglicéridos (mg/100 ml)	199,99 ± 184,67	174,12 ± 73,98
Lipidograma:		
α lipoproteínas (% do total)	19,196 ± 12,68	18,95 ± 11,76
Pré β lipoporteínas (% do total)	25,7 ± 29,46	24,08 ± 23,22
β lipoproteínas (% do total)	57,44 ± 26,79	57,6 ± 20,38

— Os primeiros números, em cada coluna, representam a média e os segundos dois desvios padrão.

No subgrupo cujos valores são bioquimicamente mais altos que os considerados normais foi possível caracterizar, no sexo masculino:

Tipos IIa de Fredrickson — 71
6,9 % dos homens analisados (1016)
Tipos IIb de Fredrickon — 47
4,62 % dos homens analisados (1016)
Suspeitos de Tipo III de Fredrickon — 4
0,39 % dos homens analisados (1016)
Tipos IV de Fredrikson — 75
7,38 % dos homens analisados (1016)

e no sexo feminino:

Tipos IIa de Fredrikson — 42
9,6 % das mulheres analisadas (434)
Tipos IIb de Fredrikson — 14
3,22 % das mulheres analisadas (434)
Suspeitos de tipo III de Fredrikson — 1
0,23 % das mulheres analisadas (434)
Tipos IV de Fredrikson — 19
4,38 das mulheres analisadas (434)

Agradecimento

Estamos muito gratos ao Dr. José Carlos Dias Leonardo pela ajuda prestada na análise estatística.

BIBLIOGRAFIA

BEAUMONT, V. J. L. BEAUMONT (Créteil) — «Le traitement des hyperlipidémies — Bases et principles» — La Nouvelle Presse Médicale, 19 et 26 Avril, 1975.

CARLSON, L. A. — «Serum lipids in normal men» — Acta Medica Scandinava, 167, 377-398, (1960).

CARLSON, L. A. — «Serum lipids in men with myocardial infarction» — Acta Medica Scandinava, 167, 399-413 (1960).

CARLSON and LINDSTEDT — «The Stockolm Prospective Study — The inicial values for plasma lipids» — Acta Medica Scandinava, Sup. 493.

FRANCO, A. — «Aspectos do complexo bioquímico da Aterosclerose» — V Congresso Luso-Espanhol de Cardiologia, Madrid, 1966.

FRANCO, A. — «Estudo clínico e laboratorial do complexo bioquímico da Aterosclerose» (em colaboração com a Dra. Maria Manuela Quintanilha) — Sociedade Méd. dos Hosp. Civis de Lisboa, 21 e 28 — VII — 1968.

LEVY — «Hyperlipoproteinemia» — Yama, Nov. 5, 1973, vol. 226, n.º 6.

LEWIS, LENA A. and HERBERT K. N. — «Relation of Hypertension, Lipids and Lipoproteins to Atherosclerosis» — Clinical Chemistry, 24/12, 2081, 2098, 1978.

MARTINS, M. DO C. CAVALHEIRO — «Interesse da determinação turbidimétrica das β + Pré β lipoproteínas no rastreio de estados hiperlipidémicos — Análise de alguns resultados» — Revista Portuguesa de Bioquímica Aplicada, n.º 2, 1978.

MORGANROTH and LEVY, ROBERT I. — «The diagnosis and management of the hyperlipoproteinemics» — Current Cardiovascular Topics, vol. I (Drugs in Cardiology, part I) Edited by E. Donoso, 1975.

RIFKING, BASIL M. and LEVY, ROBERT I. — «Hyperlipidemia — Diagnosis and Therapy» — Grune and Stratton, 1977.

SCHITTLER, G. and WEIZEL, A. — «Atherosclerosis III» — Proceedings of the third International Symposium, 1974.

SIEST, G.; HENNY, J. et al. — «Valeurs de reference en Biologie, approche et critique de la notion de normalité» — Vie Medicale, 29 — Setembro, 1973/4.

Instituto Nacional de Estatística — 11.º Recenseamento da população (1970).

3.ª SECÇÃO

— Serviço Nacional de Saúde e cuidados primários de saúde

F. A. Gonçalves Ferreira

SERVIÇO NACIONAL DE SAÚDE E CUIDADOS PRIMÁRIOS DE SAÚDE

F. A. Gonçalves Ferreira *

A publicação da Lei n.º 55/79, de 15 de Setembro, que instituiu as bases de um Serviço Nacional de Saúde (SNS) em Portugal, e o movimento, à parte, que se desenvolveu nos últimos dois anos à volta da ideia de criar a «especialidade» de médico generalista no nosso País, e que no presente se orienta para a organização de um serviço individualizado de Cuidados Primários de Saúde (CPS), com uma carreira própria de médico de clínica geral, sem características de especialista, têm como objectivo central a procura de uma solução para o problema do mau funcionamento de que ainda não saíram os nossos serviços de saúde.

Mas todo o assunto tem sido apresentado à população portuguesa, sem ligação com o que já existe entre nós, isto é, sem ter em conta a estrutura altamente evoluída, sob os pontos de vista técnico e organizacional, dos nossos serviços de saúde, nem a necessidade imediata de os fazer funcionar correctamente para assegurarem a cobertura da população, como lhes compete, de acordo com as suas atribuições e potencialidade de meios criados. Cada novo legislador, em série, parece querer ignorar a realidade portuguesa e apenas desejar fazer leis com a sua assinatura. Por isso, o nível atingido em 1973 pelos nossos serviços de saúde tem-se degradado, ano a ano.

A lei do SNS, que deverá ser regulamentada nos seis meses seguintes à publicação, ou seja até 15 de Março de 1980, repete ou confirma os princípios básicos já estabelecidos pela legislação que criou a nova orgânica de serviços de saúde de 1971 (Decretos-Leis n.ºs 413 e 414/71, de 27 de Setembro), no que se refere, respectivamente, à política geral de saúde e estrutura dos serviços prestadores de cuidados e às carreiras dos profissionais de saúde, e que são, em resumo:

— a responsabilidade e competência governativa na definição e execução da política de saúde em Portugal, centrada no Ministério da Saúde ou Ministério afim;
— a generalização da prestação dos cuidados essenciais de saúde a toda a população, sem discriminação nem peias burocráticas, por meio de serviços tecnicamente coordenados;
— a gratuitidade destas prestações, uma vez que o Estado passou já a assumir pelo OGE a responsabilidade da sua cobertura financeira;
— o planeamento das tarefas da saúde no País, para o que foi criado o órgão respectivo;

* Director do Instituto Nacional de Saúde.

— o vínculo dos profissionais de saúde, incluindo os médicos, aos serviços no regime de remuneração por horário de trabalho continuado e não por tarefa ou acto profissional;

— o regime de carreira profissional para os Técnicos dos serviços de saúde.

Estas características do SNS que começaram a ser estabelecidas, entre nós, desde 1971, pela via da legislação, não tiveram ainda na prática a aplicação desejada, continuando os serviços a funcionar com grandes deficiências e a aumentar as despesas anualmente de forma injustificada, em termos de custo/resultados.

Nos números seguintes (1 e 2) é dado o texto da lei do SNS, com comentários esclarecedores, e feito o resumo do estado actual do problema da organização de um serviço independente de CPS, que seria implantado entre os serviços hospitalares (prestadores de cuidados diferenciados) e o serviço de saúde pública, ainda não definido na sua orgânica futura, mas de qualquer forma reduzido a actividades mal individualizadas e muito limitadas, em relação às presentes, o que se pode considerar um erro em termos de política de saúde nacional.

1 — Serviço Nacional de Saúde

TÍTULO I

Disposições Gerais

ARTIGO 1.º

É criado, no âmbito do Ministério dos Assuntos Sociais, o Serviço Nacional de Saúde (SNS), pelo qual o Estado assegura o direito à protecção da saúde, nos termos da Constituição.

ARTIGO 2.º

O SNS é constituído pela rede de órgãos e serviços prevista neste diploma que, na dependência da Secretaria de Estado da Saúde e actuando de forma articulada e sob direcção unificada, gestão descentralizada e democrática, visa a prestação de cuidados globais de saúde a toda a população.

ARTIGO 3.º

1 — Compete ao Governo a definição e coordenação global da política de saúde.

2 — À Administração Central de Saúde, prevista no artigo 24.º deste diploma, incumbe dirigir o SNS e superintender na execução das suas actividades.

ARTIGO 4.º

1 — O acesso ao SNS é garantido a todos os cidadãos, independentemente da sua condição económica e social, e reger-se-á por normas regulamentares a estabelecer.

2 — O acesso ao SNS é também garantido aos estrangeiros, em regime de reciprocidade, aos apátridas e aos refugiados políticos que residam ou se encontrem em Portugal.

ARTIGO 5.º

Ao direito à protecção da saúde assegurado pelo SNS corresponde o dever, que a todos incumbe, de a defender e promover, nos termos da Constituição.

ARTIGO 6.º

1 — A garantia consagrada no artigo 4.º compreende o acesso a todas as prestações abrangidas pelo SNS e não sofre restrições, salvo as impostas pelo limite de recursos humanos, técnicos e financeiros disponíveis.

2 — O SNS envolve todos os cuidados integrados de saúde, compreendendo a promoção e vigilância da saúde, a prevenção da doença, o diagnóstico e tratamento dos doentes e a reabilitação médica e social.

ARTIGO 7.º

O acesso ao SNS é gratuito, sem prejuízo do estabelecimento de taxas moderadoras diversificadas tendentes a racionalizar a utilização das prestações.

TÍTULO II

Dos utentes

ARTIGO 8.º

É reconhecida aos utentes a liberdade de escolha do responsável pela prestação de cuidados de saúde, dentro dos condicionalismos referidos na parte final do n.º 1 do artigo 6.º

e das normas de distribuição racional e regionalização dos serviços.

ARTIGO 9.º

1 — É garantido aos utentes, nas relações com o SNS, o respeito pela sua dignidade e a preservação da intimidade da sua vida privada.

2 — Igualmente são reconhecidos aos utentes os direitos decorrentes da sua integração no agregado familiar e na comunidade a que pertençam.

ARTIGO 10.º

É assegurado aos utentes o direito ao sigilo por parte do pessoal do SNS relativamente aos factos de que tenha conhecimento em razão do exercício das suas funções, salvo intervindo decisão judicial ou justa causa de revelação, nos termos legais.

ARTIGO 11.º

A violação dos direitos garantidos aos utentes faz incorrer o infractor em responsabilidade disciplinar por falta grave, para além da responsabilidade civil ou criminal que ao caso couber.

ARTIGO 12.º

Para além do disposto no artigo anterior, os utentes, sempre que sejam lesados nos seus direitos pelos órgãos ou pessoal do SNS, têm direito a ser indemnizados pelos danos causados, nos termos da lei reguladora da responsabilidade civil extracontratual do Estado no domínio dos actos de gestão pública.

ARTIGO 13.º

1 — Os utentes podem ainda apresentar, individual ou colectivamente, petições, sugestões, reclamações ou queixas sempre que se considerem lesados nos seus direitos.

As reclamações, queixas, petições e sugestões devem ser dirigidas à entidade responsável pelo estabelecimento ou serviço a que se refiram, sem prejuízo do direito de reclamação hierárquica, nos termos legais.

TÍTULO III

Dos cuidados de saúde

ARTIGO 14.º

Os utentes do SNS têm direito, em termos a regulamentar, às seguintes prestações:

a) Cuidados de promoção e vigilância da saúde e de prevenção da doença;
b) Cuidados médicos de clínica geral e de especialidades;
c) Cuidados de enfermagem;
d) Internamento hospitalar;
e) Transporte de doentes quando medicamente indicado;
f) Elementos complementares de diagnóstico e tratamentos especializados;
g) Suplementos alimentares dietéticos;
h) Medicamentos e produtos medicamentosos;
i) Próteses, ortóteses e outros aparelhos complementares terapêuticos;
j) Apoio social, em articulação com os serviços de segurança social.

ARTIGO 15.º

1 — O acesso às prestações enunciadas no artigo anterior é assegurado, em princípio, pelos estabelecimentos e serviços da rede oficial do SNS.

2 — Enquanto não for possível garantir a totalidade das prestações pela rede oficial, o acesso será assegurado por entidades não integradas no SNS em base contratual, ou, excepcionalmente, mediante reembolso directo dos utentes.

ARTIGO 16.º

1 — Os cuidados de saúde enunciados no artigo 14.º compreendem cuidados primários e cuidados diferenciados.

2 — Compreendem-se nos cuidados primários:

a) Os destinados à prevenção da doença e promoção da saúde e os cuidados de tipo ambulatório, abrangendo os de clínica geral, materno-infantis e de planeamento familiar, escolares e geriátricos, incluindo os domiciliários;
b) Cuidados de especialidades, abrangendo nomeadamente as áreas da oftalmo-

logia, da estomatologia, da otorrinolaringologia e da saúde mental;

c) Internamentos que não impliquem cuidados diferenciados;

d) Elementos complementares de diagnóstico e terapêutica, incluindo a reabilitação;

e) Cuidados de enfermagem, incluindo os de visitação domiciliária.

3 — Compreendem-se nos cuidados diferenciados o internamento hospitalar e os actos ambulatórios especializados para diagnóstico e terapêutica, reabilitação e ainda as consultas externas de especialidades.

4 — São compreendidos nos cuidados de nível primário e de nível diferenciado os cuidados de urgência na doença e no acidente.

5 — Os serviços prestadores de cuidados de saúde deverão ainda proceder ao registo de dados estatísticos e à análise epidemiológica.

6 — A prestação dos cuidados de urgência na doença e no acidente previstos no n.º 4 entende-se sem prejuízo do direito de regresso em relação às entidades seguradoras ou outras, no caso responsáveis.

ARTIGO 17.º

O acesso aos cuidados diferenciados está condicionado a prévia observação e decisão dos serviços de cuidados primários, salvo nos casos de urgência.

TÍTULO IV

Da organização e funcionamento

CAPÍTULO I

Princípios gerais

ARTIGO 18.º

1 — O SNS goza de autonomia administrativa e financeira e estrutura-se numa organização descentralizada e desconcentrada, compreendendo órgãos centrais, regionais e locais e dispondo de serviços prestadores de cuidados primários e serviços prestadores de cuidados diferenciados.

2 — O SNS será apoiado por estabelecimentos e actividades de ensino que visem a formação e aperfeiçoamento de profissionais da saúde.

ARTIGO 19.º

Aos órgãos do SNS compete, no seu conjunto, assegurar a distribuição racional, a hierarquização técnica e o funcionamento coordenado dos serviços, definir a complementaridade de valências e promover a descentralização decisória e a participação dos utentes no planeamento e na gestão dos serviços.

ARTIGO 20.º

Aos órgãos centrais cabem, especialmente, as seguintes atribuições:

a) Estudo e proposta da política de saúde;

b) Planeamento e avaliação da prestação de serviços e das actividades de saúde;

c) Elaboração de normas de funcionamento de estabelecimentos e serviços;

d) Inspecção técnica e avaliação de resultados;

e) Tomada de decisões necessárias à organização e funcionamento do SNS;

f) Coordenação dos difreentes sectores de actividade;

g) Elaboração de normas sobre a celebração de convénios com entidades não integradas no SNS e a outorga de convénios de âmbito nacional;

h) Participação em actividades interministeriais;

i) Formação e investigação no campo da saúde;

j) Tutela e fiscalização da actividade privada no âmbito do sector da saúde.

ARTIGO 21.º

1 — Aos órgãos regionais cabem, especialmente, as seguintes atribuições:

a) Execução da política de saúde;

b) Administração e gestão de serviços, registo de dados e análise epidemiológica;

c) Inspecção;

d) *Controlo* do exercício profissional;

e) Planeamento e avaliação da prestação de serviços e das actividades de saúde;

f) Formação e investigação no campo da saúde;

g) Celebração de convénios de âmbito regional com entidades não integradas no SNS, de acordo com as normas elaboradas pelos órgãos centrais.

2 — Poderão constituir-se órgãos de âmbito mais alargado que o dos previstos no número anterior, designadamente para os seguintes efeitos:

a) Utilização de serviços comuns;

b) Compatibilização de planos e de programas;

c) Coordenação e supervisão técnica.

ARTIGO 22.º

Aos órgãos locais cabem, especialmente, as seguintes atribuições:

a) Administração e gestão de serviços, nos casos em que tal se justifique;

b) Coordenação das unidades prestadoras de cuidados primários;

c) Registo e análise de dados estatísticos.

ARTIGO 23.º

1 — É assegurado aos utentes e aos profissionais da saúde o direito de participação no planeamento e na gestão dos serviços.

2 — O direito consagrado no número anterior exerce-se, a nível central, pela participação no Conselho Nacional de Saúde, previsto no artigo 25.º deste diploma, e, a nível regional e local, pela participação nos conselhos regionais de saúde e nas comissões concelhias de apoio, previstos, respectivamente, nos artigos 39.º e 40.º deste diploma, para além da participação em órgãos de serviços, em termos a regulamentar.

3 — A representação dos utentes nos conselhos regionais de saúde e nas comissões concelhias de apoio, bem como a representação dos profissionais de saúde, será assegurada por membros designados pelas autarquias e pelas organizações sindicais interessadas, em termos a regulamentar.

CAPÍTULO II

Dos órgãos centrais

Secção I

ARTIGO 24.º

São órgãos centrais do SNS:

I) De natureza consultiva:
O Conselho Nacional de Saúde.

II) De natureza instrumental:

a) O Departamento de Ensino e Investigação;

b) O Departamento de Assuntos Farmacêuticos;

c) O Departamento de Estudos e Planeamento;

d) O Departamento de Gestão Financeira;

e) A Inspecção dos Serviços de Saúde.

III) De natureza executiva:

A Administração Central de Saúde.

Secção II

ARTIGO 25.º

1 — O Conselho Nacional de Saúde é um órgão consultivo da Secretaria de Estado da Saúde e visa a unidade de planeamento da política de saúde.

2 — O Conselho Nacional de Saúde tem um presidente, designado pela Assembleia da República pelo período da legislatura, e os seguintes vogais;

a) O presidente da Administração Central de Saúde;

b) O presidente do Conselho de Segurança Social;

c) Um representante do MEC;

d) Um representante do Ministério das Finanças e do Plano;

e) Um representante de cada região autónoma;

f) Um representante de cada região de saúde;

g) Um representante da Ordem dos Médicos;

h) Um representante dos sindicatos dos enfermeiros;

i) Dois representantes dos restantes profissionais de saúde a designar pelos respectivos sindicatos;

j) Cinco representantes dos utentes do SNS.

3 — Os representantes dos utentes são designados pela Assembleia da República no início e pelo período de cada legislatura.

4 — Os representantes das regiões autónomas são designados pelas respectivas assembleias regionais.

ARTIGO 26.º

1 — Ao Conselho Nacional de Saúde compete, especialmente, pronunciar-se sobre a definição e a orientação superior da política de saúde, dar parecer sobre as questões que pelo Ministro dos Assuntos Sociais ou pelo Secretário de Estado da Saúde lhe sejam cometidas e intervir nas actividades de responsabilidade interministerial relacionadas com o sector da saúde.

2 — Para efeito do disposto na parte final do número anterior, são constituídas, no âmbito do Conselho Nacional de Saúde, comissões interministeriais especializadas, presididas por um representante da Secretaria de Estado da Saúde, e em que participam representantes de outros departamentos ministeriais para intervirem, nomeadamente, nos seguintes domínios:

a) Política demográfica;

b) Alimentação e nutrição;

c) Política de *habitat*, poluição e saneamento de meio;

d) Formação profissional;

e) Saúde ocupacional;

f) Política do medicamento.

3 — Às comissões referidas no número anterior compete propor as medidas necessárias à execução coordenada da política de saúde.

4 — A composição das comissões será fixada em diploma regulamentar.

5 — No Conselho Nacional de Saúde poderão participar técnicos ou entidades de serviços públicos ou privados cuja colaboração seja julgada necessária.

Secção III

ARTIGO 27.º

Ao Departamento de Ensino e Investigação compete:

a) Promover e coordenar as actividades de ensino e investigação no campo da saúde, da responsabilidade do Ministério dos Assuntos Sociais, e propor as medidas destinadas à articulação e uniformização de objectivos de idênticas actividades dependentes de outros Ministérios;

b) Promover, assegurar e desenvolver a documentação e informação científica e técnica.

ARTIGO 28.º

Ao Departamento de Assuntos Farmacêuticos compete:

a) Intervir nas áreas do licenciamento, produção, importação, comercialização, comprovação, informação e consumo de medicamentos, matérias-primas para uso farmacêutico e produtos parafarmacêuticos;

b) Conceder o licenciamento dos estabelecimentos relacionados com a produção e comercialização de medicamentos.

ARTIGO 29.º

Ao Departamento de Estudos e Planeamento compete:

a) Elaborar, acompanhar e avaliar os planos sectoriais de desenvolvimento, incluindo a determinação das necessidades em recursos humanos;

b) Proceder à avaliação global da situação, mediante um sistema de informação de saúde;

c) Estudar e propor as medidas convenientes no campo da economia da saúde;

d) Assegurar, em geral e no âmbito do sector, as funções previstas no artigo 12.º da Lei n.º 31/77, de 23 de Maio.

ARTIGO 30.º

Ao Departamento de Gestão Financeira compete:

a) Elaborar o orçamento e a conta do SNS;
b) Acompanhar e avaliar sistematicamente a execução orçamental;
c) Definir e unificar os planos de contas do SNS e controlar a respectiva gestão económico-financeira.

ARTIGO 31.º

À Inspecção dos Serviços de Saúde compete:

a) Inspeccionar as actividades dos órgãos e serviços integrados no SNS;
b) Inspeccionar o funcionamento das instituições não oficiais e formas de actividade privada no sector da saúde;
c) Propor medidas correctivas adequadas;
d) Realizar inquéritos, sindicâncias e processos disciplinares que lhe sejam determinados.

Secção IV

ARTIGO 32.º

À Administração Central de Saúde compete dirigir o SNS segundo a política superiormente definida, coordenar os diferentes sectores de actividade, elaborar normas de funcionamento de estabelecimentos e serviços e de celebração de convénios, outorgar em convénios de âmbito nacional e, em geral, tomar as decisões que não sejam da competência específica do Ministro dos Assuntos Sociais, do Secretário de Estado da Saúde ou de quaisquer outros órgãos.

ARTIGO 33.º

1 — A Administração Central de Saúde compreende os seguintes departamentos, dirigidos por directores:

a) O Departamento de Cuidados Primários;
b) O Departamento de Cuidados Diferenciados;
c) O Departamento de Recursos Humanos.

2 — O Departamento de Cuidados Primários actua nas seguintes áreas:

a) Cuidados gerais de saúde enunciados nos n.ºs 2, 4 e 5 do artigo 16.º deste diploma;
b) *Controlo* das doenças transmissíveis e das doenças crónico-degenerativas;
d) Higiene dos alimentos e da nutrição;
e) Higiene do meio ambiente;
f) Educação para a saúde.

3 — O Departamento de Cuidados Diferenciados actua na área dos cuidados hospitalares, curativos e de reabilitação, enunciados nos n.ºs 3, 4 e 5 do artigo 16.º deste diploma.

4 — O Departamento de Recursos Humanos actua nas seguintes áreas:

a) Recrutamento, selecção e formação do pessoal;
b) Gestão das carreiras profissionais;
c) Exercício profissional.

ARTIGO 34.º

Os departamentos compreendidos na Administração Central de Saúde prosseguem uma gestão participada por objectivos e exercem uma actividade técnico-normativa assente em estudo e avaliação permanentes.

ARTIGO 35.º

A Administração Central de Saúde é dirigida por um conselho directivo composto pelos directores-gerais dos seus departamentos, que elegem anualmente entre si o presidente.

ARTIGO 36.º

1 — Junto da Administração Central de Saúde funcionam os seguintes gabinetes de apoio, dirigidos por directores, equiparados a directores-gerais:

a) Gabinete de Instalações e Equipamento;
b) Gabinete de Informática;
c) Gabinete Jurídico;
d) Gabinete de Produtos Biológicos.

2 — O Gabinete de Instalações e Equipamento tem as seguintes atribuições:

a) Programação dos estabelecimentos de saúde e fiscalização da respectiva execução;

b) Normalização de instalações e equipamentos de saúde;

c) Segurança das instalações e manutenção dos equipamentos;

d) Estudos de mercado e normalização de equipamentos.

3 — O Gabinete de Informática tem as seguintes atribuições:

a) Organização e racionalização administrativa;

b) Coordenação da documentação e informação.

4 — O Gabinete Jurídico tem as seguintes atribuições:

a) Elaboração de pareceres jurídicos;

b) Preparação de legislação.

5 — O Gabinete de Produtos Biológicos tem as seguintes atribuições:

a) Orientação das actividades relacionadas com o sangue, suas fracções e produtos homólogos, vacinas e soros;

b) Orientação das actividades relacionadas com tecidos e órgãos.

6 — A Administração Central de Saúde é ainda apoiada por uma repartição administrativa.

CAPÍTULO III

Dos órgãos regionais e locais

ARTIGO 37.º

1 — A área de competência dos órgãos regionais será fixada de acordo com a regionalização do País que vier a ser aprovada.

2 — A área de competência dos órgãos locais será a do concelho.

ARTIGO 38.º

1 — São órgãos regionais do SNS as administrações regionais de saúde, directamente dependentes da Administração Central de Saúde, e gozando de autonomia administrativa.

2 — Às administrações regionais de saúde cabem as funções especificadas no artigo 21.º deste diploma.

ARTIGO 39.º

1 — As administrações regionais de saúde integram os estabelecimentos e serviços de saúde oficiais dependentes do Ministério dos Assuntos Sociais existentes nas respectivas áreas territoriais e coordenam-se com os estabelecimentos e serviços de âmbito supra-regional.

2 — Os estabelecimentos e serviços dependentes de outros departamentos ministeriais, de empresas públicas ou de empresas nacionalizadas, com excepção dos dependentes de departamentos militares, integrar-se-ão nas administrações regionais de saúde à medida que a estrutura do SNS entre em funcionamento nas respectivas regiões.

ARTIGO 40.º

As administrações regionais de saúde são dirigidas por um conselho directivo e compreendem um sector de cuidados primários, um sector de cuidados diferenciados e sectores de apoio técnico e administrativo e dispõem, como órgãos consultivos, de um conselho regional de saúde e de uma comissão técnica.

ARTIGO 41.º

São órgãos locais do SNS as direcções dos centros de saúde concelhios, gozando da competência que lhes for delegada pela respectiva administração regional de saúde e dispondo, como órgãos consultivos, de comissões concelhias de apoio.

CAPÍTULO IV

Dos serviços prestadores dos cuidados de saúde

ARTIGO 42.º

1 — São serviços prestadores de cuidados primários os centros comunitários de saúde.

2 — São serviços prestadores de cuidados diferenciados os hospitais gerais, os hospitais especializados e outras instituições especializadas.

3 — Os serviços prestadores de cuidados dependem das administrações regionais de saúde, sem prejuízo de autonomia que lhes for fixada por lei.

ARTIGO 43.º

1 — Os serviços prestadores de cuidados primários e os serviços prestadores de cuidados diferenciados estruturam-se e complementam-se de forma articulada quanto ao seu funcionamento.

2 — Nas áreas de especialidades previstas na alínea *b*) do n.º 2 do artigo 16.º as mesmas equipas asseguram a prestação de cuidados nos serviços referidos no número anterior.

3 — Será sempre assegurada a continuidade e a articulação dos cuidados primários e dos cuidados diferenciados.

4 — Para efeitos dos números anteriores, a coordenação do funcionamento articulado dos cuidados de saúde cabe ao competente órgão regional.

TÍTULO V

Do estatuto do pessoal

ARTIGO 44.º

O pessoal do SNS desempenha uma relevante função social ao serviço do homem e da comunidade. Tem a qualidade de funcionário público ou de agente, sem prejuízo de poder beneficiar de estatuto especial.

ARTIGO 45.º

1 — Ao pessoal do SNS que tenha a qualidade de funcionário é assegurado o regime de carreira.

2 — O pessoal que tenha a qualidade de agente não pode beneficiar de tratamento mais favorável do que o estabelecido para o pessoal referido no número anterior.

ARTIGO 46.º

1 — O regime de serviço do pessoal será estabelecido de acordo com as necessidades do funcionamento dos serviços e dos utentes e com a responsabilidade profissional dos quadros.

2 — O regime de serviço pode ser de tempo completo ou de tempo completo prolongado.

3 — Em qualquer das modalidades previstas no número anterior o regime de serviço será, em princípio, em dedicação exclusiva, com impossibilidade do exercício de quaisquer outras funções públicas ou privadas. O respectivo estatuto regulará as condições de exercício da actividade privada fora do horário de serviço e fixará uma remuneração suplementar para a modalidade de dedicação exclusiva.

4 — Em casos especiais a definir pode ainda autorizar-se o regime de tempo parcial ou o regime de contratação.

5 — Os serviços de funcionamento permanente ou de urgência obedecem a organização e esquema especiais de regime de serviço.

6 — São proibidas as acumulações de lugares no SNS, salvo se se verificar inerência de funções, carência de pessoal devidamente habilitado para o exercício de funções ou complementaridade de actividades.

ARTIGO 47.º

1 — A avaliação da capacidade para o ingresso e acesso às várias categorias na carreira compreende as seguintes modalidades:

a) Avaliação mediante concurso;

b) Avaliação permanente do exercício e treino em serviço;

c) Avaliação após curso ou estágio de pós-graduação.

2 — As modalidades enunciadas no número anterior podem ser consideradas isoladas ou conjuntamente, de acordo com as características das várias profissões.

ARTIGO 48.º

1 — O grau da carreira é independente do exercício efectivo de funções e do regime de serviço.

2 — O exercício efectivo de funções pressupõe o correspondente grau da carreira.

ARTIGO 49.º

As remunerações do pessoal do SNS são estabelecidas em função do grau na carreira e do regime de prestação de serviço.

TÍTULO VI

Do financiamento

ARTIGO 50.º

Incumbe ao Estado mobilizar os recursos financeiros indispensáveis ao SNS, de modo

a assegurar a sua progressiva implantação e realização.

ARTIGO 51.º

O Governo proporá anualmente à Assembleia da República a afectação ao SNS de uma dotação orçamental que tome em conta a evolução do produto nacional bruto.

TÍTULO VII

Da articulação com o sector privado

ARTIGO 52.º

O SNS articula-se com a existência e funcionamento de instituições não oficiais e formas de actividade privada no âmbito do sector da saúde, sujeitas à disciplina e *controlo* do Estado, nos termos da Constituição.

ARTIGO 53.º

1 — Podem ser estabelecidos convénios entre o SNS e instituições não oficiais ou entidades privadas, designadamente no campo da hospitalização e dos meios de diagnóstico, nos casos em que a rede de serviços oficial não assegure os cuidados de saúde, mediante normas a estabelecer pela Administração Central de Saúde.

2 — Em casos de necessidade pública, pode o Governo, pelo Ministro dos Assuntos Sociais, proceder à efectação ao SNS do uso de instalações hospitalares ou para-hospitalares devolutas ou manifestamente subaproveitadas e respectivos equipamentos, em termos a regulamentar, ou proceder à expropriação dessas instalações e equipamentos, mediante indemnização.

TÍTULO VIII

Disposições transitórias e finais

ARTIGO 54.º

1 — O exercício do direito e o acesso às prestações, a estrutura interna, a competência, o modo e o regime de funcionamento dos órgãos e serviços, bem como a regulamentação do estatuto do pessoal, constarão de diplomas especiais.

2 — Os diplomas referidos no número anterior estabelecerão ainda as formas e momento da integração dos órgãos e serviços existentes à data da sua publicação, nomeadamente direcções-gerais e serviços médico-sociais, na estrutura agora instituída.

3 — As formas e o prazo de concretização da proibição estabelecida no n.º 6 do artigo 45.º deste diploma serão também objecto de regulamentação especial.

ARTIGO 55.º

A actuação do SNS na área da saúde ocupacional prevista na alínea *c*) do n.º 2 do artigo 33.º deste diploma será objecto de regulamentação especial, que fixará também a responsabilidade das empresas nos encargos decorrentes das actividades de medicina do trabalho nas próprias empresas.

ARTIGO 56.º

O SNS articular-se-á com o Serviço Nacional de Ambulâncias e com o Serviço Nacional de Bombeiros nos termos que vierem a ser definidos em portaria conjunta dos Ministros competentes.

ARTIGO 57.º

1 — O SNS e os órgãos competentes da segurança social estabelecerão entre si as formas de coordenação de actividades em todos os sectores em que haja interligação de saúde com segurança social.

2 — De acordo com o número anterior, a celebração de convenções internacionais de segurança social que envolvam compromissos no campo da saúde dependerá de parecer prévio da Administração Central de Saúde.

ARTIGO 58.º

1 — O SNS entra gradualmente em funcionamento nos termos e nos distritos que forem fixados por resolução do Conselho de Ministros, sob proposta do Ministro dos Assuntos Sociais, dando-se prioridade às zonas mais carenciadas.

2 — Nas restantes zonas deverão promover-se desde já, sob a orientação da Administração Central de Saúde, as acções de planeamento e as medidas indispensáveis à melhoria das estruturas existentes e à sua integração no SNS.

ARTIGO 59.º

Os beneficiários de esquemas de protecção na doença privativos de sector de actividades ou de estratos profissionais determinados integrar-se-ão, na parte referente a cuidados de saúde, no esquema de prestações do SNS, à medida que a sua estrutura entre em funcionamento nos respectivos distritos.

ARTIGO 60.º

Enquanto não se implantar em todo o País o Serviço Nacional de Saúde, são considerados utentes todos os indivíduos que residam nas sucessivas áreas de implantação, sem prejuízo de, em casos de urgência, se permitir o acesso de residentes noutras áreas.

ARTIGO 61.º

O regime de carreira previsto no n.º 1 do artigo 44.º será regulado por decreto-lei, sem prejuízo do que vier a ser estabelecido em estatuto da função pública.

ARTIGO 62.º

SNS para os Açores e Madeira será objecto de diploma especial informado pelos princípios constantes das presentes normas e pelos que decorrem da autonomia dessas regiões.

ARTIGO 63.º

O SNS será extensivo ao território de Macau, tendo em conta as condições específicas estabelecidas no seu estatuto próprio.

ARTIGO 64.º

1 — Até à publicação do decreto-lei previsto no n.º 1 do artigo 37.º, e para a determinação da área territorial abrangida pelos órgãos regionais, o distrito será considerado para todos os efeitos como unidade regional.

2 — Os distritos poderão ser agrupados com vista à utilização comum de serviços e à hierarquização dos serviços prestadores.

3 — Enquanto não forem definidas as regiões de saúde, a representação prevista na alínea *f*) do n.º 2 do artigo 25.º será assegurada pelas administrações distritais de saúde, que, de entre si, designarão seis elementos, tendo em conta uma equitativa representação geográfica.

4 — Pode constituir-se mais do que uma administração distrital de saúde nos distritos que abranjam grandes centros urbanos, mediante portaria do Secretário de Estado da Saúde, sob proposta da Administração Central de Saúde.

ARTIGO 65.º

1 — O Governo elaborará, no prazo de seis meses a contar da publicação da presente lei, os decretos-leis necessários à sua execução.

2 — No mesmo prazo será elaborado o *Formulário Nacional de Medicamentos*, tendo em vista a racionalização do consumo e a valorização do sector nacional, público e privado.

3 — A implantação do SNS deverá iniciar-se no prazo de três meses após a entrada em vigor daqueles diplomas.

O documento intitulado «Bases do Serviço Nacional de Saúde» (Imprensa Nacional, 1978), que constituiu o anteprojecto do SNS apresentado para discussão pública, diferia pouco do texto que veio a ser aprovado sob a forma de lei, embora este apresente duas alterações, ambas de natureza política:

— no artigo 25.º estabelece que o presidente do Conselho Nacional de Saúde será designado pela Assembleia da República, o que introduz, em relação às «Bases», a intromissão da política na direcção de um órgão superior do SNS;

— no artigo 53.º restringe os convénios com as instituições não oficiais e entidades privadas e autoriza o Governo a proceder à expropriação de instalações e equipamentos (devolutos ou manifestamente subaproveitados), mediante indemnização.

A lei não publica o preâmbulo do documento das «Bases», em que são enumerados os princípios em que deve assentar a organização e o funcionamento dos modernos serviços de saúde, tal como estabelecera já a legislação de 1971, e que são os seguintes, em número de 13.

1. A saúde dos indivíduos e das populações deve ser considerada como resultado da interacção de múltiplos factores do eco-sistema humano e não apenas como consequência da actividade dos serviços de saúde, por mais desenvolvida que se apresente a sua organização.

O objectivo de atingir a situação de completo bem-estar físico, mental e social, para além da ausência de doença ou de deformidade, a que corresponde a definição internacional de saúde, completa-se pelo objectivo paralelo de conseguir um estado de equilíbrio favorável nas relações entre os indivíduos e o meio comunitário em que vivem, traduzindo o novo conceito de saúde da comunidade.

Ambos, porém, só podem ser prosseguidos regularmente pela coordenação de um conjunto de meios de intervenção específicos, que os conhecimentos adquiridos e o progresso técnico e cultural do mundo de hoje permitem organizar e aperfeiçoar.

2. A melhoria da saúde de cada indivíduo e dos grupos humanos está, assim, dependente da influência de factores sectoriais inter-relacionados, uns mais fáceis de orientar que outros, mas todos igualmente importantes, e que compreendem:

A estabilidade da população, decorrente do adequado crescimento demográfico, da estrutura fisiológica por idades e sexos e dos movimentos migratórios, impedindo que mudanças bruscas conduzam ao excesso de população, ao envelhecimento ou a outros riscos perturbadores, como sejam os desequilíbrios regionais;

A disponibilidade e o consumo normal dos alimentos necessários ao bom estado nutricional de toda a população;

A disponibilidade e a fácil acessibilidade a alojamento higiénico implantado num *habitat* urbanisticamente são;

A obtenção de níveis elevados de vigilância e *controlo* da poluição do meio ambiente e das acções correctivas de saneamento;

Um sistema económico progressista e estável, assegurando um aumento equilibrado do nível de vida de toda a população e benefícios paralelos de segurança social;

Uma correcta estrutura geral administrativa;

Um sistema generalizado de educação e informação, que desenvolva as potencialidades existentes;

Um sistema de serviços de saúde aperfeiçoado, de capacidade adaptativa e eficiente, cobrindo toda a população;

Um sistema dinâmico e evoluído de informação estatística, servindo de guia à política de saúde.

3. A política sectorial de saúde terá, pois, de se inserir no delineamento da política mais geral, global e unitária, da população e do desenvolvimento económico e sócio-cultural, ajustando as suas medidas específicas às dos restantes sectores a que está ligada e de que em grande parte depende, por forma que o seu desenvolvimento se processe paralelamente.

Definida assim a política de saúde, as correspondentes actividades ajustar-se-ão às prioridades estabelecidas pelos técnicos para assegurarem a cobertura médica e de vigilância da saúde de toda a população, tendo em conta as necessidades dos indivíduos integrados nas suas famílias e nas respectivas comunidades e a capacidade material que for sendo adquirida para as satisfazer.

A obtenção de níveis progressivamente mais elevados de saúde é hoje objectivo ao alcance de todas as populações, constituindo ao mesmo tempo factor de bem-estar e impulso de desenvolvimento económico-social.

4. O artigo 64.º da Constituição da República reconhece aos Portugueses o direito à protecção da saúde, como garantia dada às pessoas de disporem de meios de promoção e de preservação da saúde e, consequentemente, de se libertarem da doença, por prevenção, tratamento ou reabilitação adequados.

Aceite o princípio do direito à protecção da saúde, compete ao Estado definir a política de saúde nacional e assegurar-lhe progressivamente as características de universalidade, generalidade, gratuitidade e igualdade, garantindo a participação das pessoas e serviços encarregados da sua execução no planeamento e actividades.

5. A forma mais eficaz, económica e segura de garantir e aperfeiçoar, ao longo do tempo, a prestação de cuidados de saúde de bom nível a toda a população, na base de uma política nacional de saúde, é o estabelecimento de um sistema organizado de saúde, com meios humanos, técnicos e financeiros coordenados por escalões de actividades.

E, naturalmente, o tipo de sistema de saúde desejável deverá ser dotado de estrutura adequada às necessidades da população e

adaptável às variações que estas vão sofrendo no tempo, ser económico e contar com apoio suficiente do Estado. Isto para garantir, em termos de administração (organização e gestão), igual nível de cobertura para todos os serviços necessários em extensão e qualidade e as actividades de estudo, planeamento e avaliação de resultados.

Mas à população deve ser garantido, igualmente, o acesso ao dispositivo complementar da medicina privada, mantido livre ou em regime de convenção e supervisado nos aspectos funcionais, técnicos e deontológicos que impliquem coordenação de actividades — como se verifica nos países com larga experiência do funcionamento de sistemas de saúde.

6. O sistema de saúde a organizar no nosso país, em cumprimento do preceito constitucional, e tendo em conta as premissas anteriores, é um Serviço Nacional de Saúde de carácter universal, ao qual tenham acesso, em igualdade de circunstâncias, todos os cidadãos, beneficiando dos cuidados de medicina preventiva, curativa e de reabilitação, ou outros, orientados para a protecção da saúde.

Ao mesmo tempo, cada cidadão deve assumir a responsabilidade de defender e promover a sua própria saúde e a dos seus, por acções pessoais directas ou indirectas.

Na organização e gestão das actividades de saúde é essencial empenhar a população, desde os indivíduos às famílias, comunidades e grupos sociais, no interesse pelos serviços de saúde, que a todos pertencem, e na promoção da melhoria do seu funcionamento, a partir de orientações que só as entidades competentes estão em condições de estabelecer.

Sem esta participação, decorrente da consciência generalizada e exacta do valor que a saúde representa e das formas de intervenção dos serviços que podem ser utilizados, qualquer esquema que se organize ficará, desde logo, funcionalmente limitado na extensão dos benefícios que potencialmente deveria assegurar.

7. O estabelecimento de um Serviço Nacional de Saúde implica:

A escolha das opções políticas, técnicas ou de método, que constituem a definição e a orientação da própria política de saúde no contexto da política geral da Nação;

A organização de estruturas funcionais, consistindo em órgãos ou serviços de intervenção enquadrados num esquema de actividades previamente delineadas;

A reunião dos meios executivos, englobando os recursos humanos, técnicos e financeiros que hão-de assegurar a efectivação dos planos de actividades, de acordo com os programas estabelecidos.

8. Na estruturação do Serviço Nacional de Saúde são essenciais:

Os órgãos de definição, orientação e decisão, de nível central;

Os órgãos de estudo (investigação e ensino, análise integrativa de dados, avaliação e diagnóstico da situação geral da saúde e dos padrões de doença nas comunidades), de planeamento e administração do sistema como um todo harmónico e coerente, de nível central e em estreita ligação com o escalão regional;

Os órgãos coordenadores de planeamento integrado, de avaliação de resultados e de apoio técnico diferenciado, de nível regional;

Os órgãos e serviços de execução das prestações de cuidados primários de saúde e de cuidados diferenciados, de âmbito distrital e concelhio;

Os órgãos com actividades de saúde pública (medicina comunitária), constituindo valências dos centros de saúde localizados em cada área administrativa.

9. Por demasiado anquilosadas, desarticuladas, dispersas e até sobrepostas, as actuais estruturas muito dificilmente poderiam dar adequada resposta aos princípios atrás mencionados.

Não parece possível a sua transformação progressiva num esquema optimizado sem prévia definição de uma estrutura básica que constitua o verdadeiro esqueleto daquilo que se pretende no futuro.

Assim é preciso que, desde já, se defina tal estrutura básica, na qual, progressivamente, se hão-de integrar de maneira harmónica, ágil e racionalmente articulada as estruturas existentes, devidamente reformuladas.

Não se pensa, obviamente, em encerrar quaisquer serviços existentes; pensa-se, sim, em reformulá-los e implantá-los na estrutura básica agora concebida, de maneira a torná-los mais eficazes.

10. O desenvolvimento da ciência e o progresso das técnicas exigem, imperativamente, que as actividades de saúde sejam efectuadas por profissionais com habilitações apropriadas à diferenciação das tarefas a executar,

ao mesmo tempo que lhes deve ficar aberta a possibilidade de actualização permanente ou de formação continuada.

De há muito que, entre nós, o princípio da estruturação profissional no domínio da saúde foi legalmente definido segundo o sistema das carreiras profissionais, tendo sido estabelecidas as normas a que deve obedecer.

Um esquema de carreiras profissionais visa, essencialmente, as finalidades de formação ou preparação adequada, de segurança e de justiça profissional, servindo de base para a hierarquização de funções.

A hierarquia é indispensável para a organização técnica de qualquer tipo de trabalho, particularmente para o trabalho diferenciado, exigido cada vez mais pelas modernas actividades de saúde, e assenta, simultaneamente, em razões de utilidade funcional e de justiça profissional, que proporcionem o estímulo e a compensação dos esforços a desenvolver.

A instituição de carreiras profissionais devidamente estruturadas e hierarquizadas, de harmonia com as normas gerais da reforma administrativa, facilitará a coordenação das diversas actividades e a equidade das remunerações, impondo a observância de normas certas e objectivas de recrutamento e promoção.

11. Em princípio, é hoje ponto assente que o trabalho profissional em sistema de carreiras deve ser executado em tempo completo, ou, para algumas categorias funcionais, em regime de tempo exclusivo. De qualquer forma, as acumulações que não sejam consideradas inerência ou complementaridade de funções devem ser proibidas.

O caso especial do trabalho médico, em que a responsabilidade, dedicação e disponibilidade assumem características muito particulares dentro da função pública, deverá ser claramente definido nos regulamentos das carreiras e do funcionamento de cada órgão do Serviço Nacional de Saúde.

De igual modo, o trabalho dos outros profissionais do sector da saúde deve ser encarado como o exige o actual conceito da medicina — actividade essencialmente de equipa.

12. A Constituição da República, ao preceituar no artigo 64.º a instituição de um Serviço Nacional de Saúde, pressupõe, implicitamente, a mobilização dos recursos financeiros necessários para o seu funcionamento.

Nesta perspectiva, há que estudar e promover uma concreta definição de critérios de progressiva afectação de receitas do Orçamento Geral do Estado, tendo em conta a evolução do produto nacional bruto, às despesas a realizar, ponderados os objectivos mais amplos da política económica e social.

Esta preocupação, de resto, vai ao encontro de recomendações muito concretas das organizações internacionais, nomeadamente a Organização Mundial de Saúde e o Conselho da Europa, as quais apontam para a correlacionação das despesas do sector público da saúde com o crescimento económico aferido pelo produto nacional bruto.

Em consequência, há que ponderar qual a origem e o volume dos recursos financeiros a afectar anualmente ao Serviço Nacional de Saúde.

Desta forma, se responsabiliza o próprio Estado, impondo-lhe a mobilização dos recursos necessários; os profissionais de saúde, de quem se espera competência e uso adequado de meios; os utentes, na disciplina da utilização dos serviços; e, finalmente, as forças produtivas como criadoras da riqueza indispensável ao progresso do Serviço Nacional de Saúde.

13. Como resulta do Programa do Governo, o Serviço Nacional de Saúde será instalado progressivamente, de modo a cobrir todo o território nacional. De facto, os recursos humanos, técnicos e financeiros disponíveis e a conveniência do seu lançamento numa base experimental de progressiva adaptação às realidades nacionais aconselham o início da sua implantação em apenas alguns distritos, considerados como zonas-piloto.

Isto não impede que nos outros distritos se tomem, desde já, as medidas indispensáveis à melhoria das estruturas existentes e à sua adequação ao futuro funcionamento do Serviço Nacional de Saúde. A sua extensão gradual far-se-á à medida que forem criadas as condições necessárias.

Assim, no corrente ano, o Serviço Nacional de Saúde entrará em funcionamento em quatro distritos-piloto — Beja, Bragança, Guarda e Vila Real — e, numa segunda fase, será alargado a outros distritos, preferencialmente dos mais carenciados. A conjuntura existente aconselha a actuar com prudência e realismo mas também com a determinação resultante de se tratar de um grande projecto nacional, de uma das mais caras esperanças do povo português e de uma das maiores conquistas da Revolução de Abril.

2 — Cuidados Primários de Saúde

Nos anos recentes, depois de bastante esbatida a preocupação até há pouco dominante com a organização e o funcionamento dos Serviços de Saúde Pública, aparece bruscamente a nível das organizações internacionais de saúde um novo objectivo urgente, que no fundo é velho como a medicina grega — o da necessidade que têm as populações de dispor de cuidados primários de saúde (CPS), e o consequente reconhecimento por parte dos responsáveis da obrigação de assegurarem a promoção e a protecção da saúde do povo, mediante a «prestação da assistência de saúde essencial».

No caso português, tudo tinha sido previsto e estabelecido em termos de organização e execução pela legislação de 1971, a qual estabeleceu (Decreto-Lei n.º 413/71 de 27 de Setembro), especificadamente:

— no artigo 49.º, n.º 3, que «Os centros de saúde, como responsáveis pela acção directa por que se realiza a política de saúde, trabalham em íntimo contacto com as populações, de modo a assegurar a respectiva promoção de saúde e prevenção da doença e a oportuna aplicação das medidas de tratamento dos doentes e de reabilitação dos diminuídos»;

— e no artigo 55.º, n.º 1, que «Os centros de saúde são responsáveis pela integração e coordenação das actividades de saúde e assistência, bem como pela prestação de cuidados médicos de base, de natureza não especializada, com o objectivo de assegurar a cobertura médico-sanitária da população da área que lhes corresponda».

Os cuidados primários de saúde, ou cuidados médicos de base, como também são conhecidos, constituem parte das atribuições fundamentais dos centros de saúde, em conjunto com as actividades de higiene do meio ambiente, do trabalho e da medicina do trabalho, da saúde materno-infantil, pré-escolar e escolar, da profilaxia das doenças evitáveis, da saúde mental e outras tarefas de saúde pública essenciais.

Entretanto, foi divulgada, entre nós, em tradução do Gabinete de Estudos e Planeamento da Saúde, a «Declaração de Alma Ata» que resume as conclusões da Conferência Internacional sobre os Cuidados Primários de Saúde, sob a forma de princípios e recomendações. Dado o seu significado, é reproduzida a seguir, com o comentário de que todos os problemas relacionados com a protecção e a promoção da saúde da população do mundo aparecem agora com a solução à vista da «panaceia» dos CPS, e que no texto não aparece referência à saúde pública, o que pode significar a ideia, da parte dos participantes na Conferência, de que os CPS dispensam as actividades diferenciadas de saúde pública.

DECLARAÇÃO DE ALMA-ATA

A Conferência Internacional sobre os Cuidados Primários de Saúde, reunida em Alma-Ata, no dia doze de Setembro de mil novecentos e setenta e oito, considerando a necessidade de uma acção urgente da parte de todos os governos, de todo o pessoal do sector da saúde e desenvolvimento, assim como da comunidade mundial, para proteger e promover a saúde da população do mundo, faz a seguinte declaração:

I

A Conferência reitera firmemente que a saúde, estado de completo bem-estar físico, mental e social, e não apenas a ausência de afecções ou doenças, é um direito humano fundamental e que a fruição do grau mais alto possível de saúde é um objectivo social importantíssimo em todo o mundo, cuja realização necessita da intervenção de muitos outros sectores sociais e económicos, além do da saúde.

II

A grave desigualdade existente no que se refere ao estado de saúde da população, especialmente entre os países em desenvolvimento e os desenvolvidos, assim como no seio de cada país, é política, social e economicamente inaceitável e, por conseguinte, motivo de preocupação comum para todos os países.

III

O desenvolvimento económico e social, baseado numa Nova Ordem Económica Internacional, é de importância fundamental para con-

seguir o grau máximo de saúde para todos e para reduzir a diferença existente entre o estado de saúde nos países em desenvolvimento e nos desenvolvidos. A promoção e a protecção da saúde do povo é indispensável para um desenvolvimento económico e social constante e contribui para melhorar a qualidade da vida e para alcançar a paz mundial.

IV

O povo tem o direito e o dever de participar individual e colectivamente no planeamento e na aplicação dos seus cuidados de saúde.

V

Os governos têm a obrigação de cuidar da saúde dos seus povos, obrigação que só se pode cumprir mediante a adopção de medidas sanitárias e sociais adequadas. Um dos principais objectivos sociais dos governos, das organizações internacionais e de toda a comunidade mundial nos próximos decénios deve ser o de que todos os povos do mundo atinjam no ano 2000 um nível de saúde que lhes permita levar uma vida social e economicamente produtiva. Os cuidados primários de saúde constituem a chave para atingir esta meta como parte do desenvolvimento em conformidade com o espírito da justiça social.

VI

Os cuidados primários de saúde consistem na prestação da assistência de saúde essencial, baseada em métodos e técnicas práticas, apropriadas sob o ponto de vista científico e aceitáveis socialmente, posta ao alcance de todos os indivíduos e famílias das comunidades, com a sua inteira participação, e que possa ser financeiramente mantida pelo país e pela comunidade, em todas as fases do seu desenvolvimento, num espírito de auto-responsabilidade e auto-determinação. Os cuidados primários, ao mesmo tempo que desempenham a função principal e são a base do sistema nacional de saúde, constituem parte integrante do sistema de desenvolvimento económico e social da comunidade. Proporcionam o primeiro nível de contacto do indivíduo, da família e da comunidade com o sistema nacional de saúde, permitindo a aproximação da assistência de saúde o mais possível dos locais onde a população vive e trabalha, e constituem o primeiro elemento de um processo permanente de assistência de saúde.

VII

Os cuidados primários de saúde:

1. são, ao mesmo tempo, um reflexo e uma emanação das condições económicas e das características sócio-culturais do país e das suas comunidades, e baseiam-se na aplicação dos resultados apropriados das investigações sociais, biomédicas e sobre serviços de saúde e na experiência acumulada em matéria de saúde pública;

2. orientam-se para os principais problemas de saúde da comunidade e prestam os correspondentes serviços preventivos, curativos, de reabilitação e de fomento da saúde;

3. englobam, pelo menos, as seguintes actividades: a educação sobre os principais problemas de saúde e sobre os métodos de prevenção e de luta respectivos; a promoção de uma nutrição apropriada, um abastecimento suficiente de água potável e saneamento básico do meio ambiente; assistência materno-infantil, incluindo o planeamento familiar; a imunização contra as principais doenças infecciosas; a prevenção e a luta contra as doenças endémicas locais; o diagnóstico e tratamento apropriado das doenças e traumatismos comuns; e o fornecimento de medicamentos essenciais;

4. implicam, além do sector de saúde, a participação de todos os sectores e aspectos conexos do desenvolvimento nacional e comunitário, em particular a agricultura, a zootecnia, a alimentação, a indústria, a educação, a habitação, as obras públicas e as comunicações e requerem os esforços coordenados de todos estes sectores;

5. exigem e fomentam (ao máximo) a auto-responsabilidade e a participação da comunidade e do indivíduo no planeamento, organização, funcionamento e controlo dos cuidados primários de saúde, tirando o maior partido possível dos recursos locais e nacionais e de outros recursos disponíveis; e com esse fim, desenvolvem, mediante educação idónea, a capacidade participativa das comunidades;

6. devem basear-se em sistemas de referência integrados, funcionais e de apoio mútuo, que conduzam ao melhoramento progressivo do sistema de cuidados de saúde completos para todos, dando prioridade aos mais necessitados;

7. baseiam-se, tanto a nível local como no de referência e consulta de casos, em

pessoal de saúde, incluindo, conforme as circunstâncias, médicos, enfermeiras, parteiras, auxiliares e trabalhadores da comunidade, assim como, na medida em que sejam necessárias, pessoas que praticam a medicina tradicional, devidamente adestradas no sector social e técnico, para trabalhar como uma equipa de saúde e atender às necessidades de saúde conhecidas da comunidade.

VIII

Todos os governos devem formular políticas, estratégias e planos de acção nacionais, com o objectivo de iniciar e manter os cuidados primários de saúde como parte de um sistema nacional completo de saúde e em coordenação com outros sectores. Para isso será preciso dispor de vontade política para mobilizar os recursos do país e utilizar racionalmente os recursos externos disponíveis.

IX

Todos os países devem cooperar, com espírito de solidariedade, a fim de garantir os cuidados primários de saúde para todo o povo, uma vez que a procura da saúde pelo povo de um país interessa e beneficia directamente todos os demais países. Neste contexto, a informação conjunta OMS/FISE sobre os cuidados primários de saúde constitui uma base sólida para impulsionar ainda mais o desenvolvimento e a aplicação dos cuidados primários de saúde em todo o mundo.

X

É possível alcançar o objectivo da saúde para todos no ano 2000 mediante uma melhor e mais completa utilização dos recursos mundiais, dos quais uma parte considerável se destina, na actualidade, a armamento e conflitos militares. A promoção do desarmamento e o desanuviamento poderiam libertar recursos adicionais melhor empregues para fins pacíficos e em particular para acelerar o desenvolvimento social e económico, de que os cuidados primários de saúde são parte essencial.

*
* *

A Conferência Internacional sobre Cuidados Primários de Saúde exorta ao desenvolvimento urgente e eficaz da acção internacional e nacional a fim de impulsionar e pôr em prática os cuidados primários de saúde no mundo inteiro e particularmente nos países em desenvolvimento, dentro de um espírito de cooperação técnica e em conformidade com a Nova Ordem Económica Internacional. A Conferência insiste perante os governos, a OMS, a FISE e outras organizações internacionais, assim como os organismos multilaterais e bilaterais, as organizações não governamentais, os organismos de financiamento, todo o pessoal de saúde e a colectividade mundial no seu conjunto, para que apoiem a participação nacional e internacional nos cuidados primários de saúde e lhes dediquem maior apoio técnico e financeiro, sobretudo nos países em desenvolvimento. A Conferência exorta todas as entidades já mencionadas a que colaborem no estabelecimento, desenvolvimento e manutenção dos cuidados primários de saúde conforme o espírito e o conteúdo da presente Declaração.

RECOMENDAÇÕES

RECOMENDAÇÃO 1

Relação entre a saúde e o desenvolvimento

A Conferência,

persuadida de que a saúde depende do desenvolvimento social e económico e ao mesmo tempo os favorece,

RECOMENDA que os governos incluam e fortaleçam os cuidados primários de saúde nos seus planos de desenvolvimento, dando especial importância aos programas de desenvolvimento rural e urbano e à coordenação das actividades relativas à saúde realizadas pelos diferentes sectores.

RECOMENDAÇÃO 2

Participação da comunidade nos cuidados primários de saúde

A Conferência,

persuadida de que a responsabilidade e a consciência social e nacional e comunitária são factores fundamentais do progresso humano, e reconhecendo que a população tem o direito e o dever de participar no processo de conservar e melhorar a sua saúde,

RECOMENDA que os governos estimulem e assegurem a plena participação da comuni-

dade, mediante a difusão eficaz da informação pertinente, o incremento da alfabetização e o estabelecimento do nível institucional necessário que permita aos indivíduos, às famílias e às comunidades tornarem-se responsáveis pela saúde e bem-estar.

RECOMENDAÇÃO 3

Função das administrações nacionais nos cuidados primários de saúde

A Conferência,

considerada a importância de contar com apoios administrativos e financeiros adequados de toda a ordem para conseguir o desenvolvimento nacional coordenado, inclusive o dos cuidados primários de saúde, e para pôr em prática as orientações nacionais,

RECOMENDA que os governos intensifiquem o apoio dos seus serviços administrativos gerais aos cuidados primários de saúde e às actividades com eles relacionadas, mediante a coordenação entre os diferentes ministérios e a delegação das competências e poderes pertinentes em favor dos níveis intermédios e comunitários, atribuindo pessoal e recursos suficientes a esses níveis para apoiar os cuidados primários de saúde e as actividades afins noutros sectores.

RECOMENDAÇÃO 4

Coordenação do sector de saúde com sectores afins

A Conferência,

persuadida de que para melhorar de maneira apreciável a saúde de toda a população se impõe a coordenação planeada e eficiente dos serviços de saúde nacionais e das actividades afins de outros sectores,

RECOMENDA que, nas orientações e nos planos de saúde, se tenha sempre em conta as contribuições de outros sectores relacionados com a saúde; e que se adoptem medidas concretas e viáveis em todos os níveis, especialmente nos níveis intermédio e comunitário, para coordenar os serviços de saúde com todas as restantes actividades que contribuem para a promoção da saúde e dos cuidados primários de saúde; e que nas medidas de coordenação se tenha em conta a importância dos aspectos gerais administrativos e financeiros.

RECOMENDAÇÃO 5

Âmbito dos cuidados primários de saúde

A Conferência,

salientando que os cuidados primários de saúde devem concentrar-se nos principais problemas de saúde da comunidade, mas reconhecendo que esses problemas e as formas de os resolver variarão segundo os países e as comunidades,

RECOMENDA que os cuidados primários de saúde abranjam, pelo menos, as seguintes actividades: a promoção de uma nutrição apropriada, um abastecimento suficiente de água potável e saneamento básico do meio ambiente; a assistência materno-infantil, incluindo o planeamento da família; a imunização contra as principais doenças contagiosas; a prevenção e a luta contra as doenças endémicas locais; a educação sobre os principais problemas de saúde e sobre os métodos de prevenção e de luta correspondentes; o tratamento apropriado das doenças e traumatismos comuns; e o fornecimento de medicamentos essenciais.

RECOMENDAÇÃO 6

Cuidados primários de saúde completos no plano local

A Conferência,

confirmando que os cuidados primários de saúde abrangem todas as actividades que contribuem para a saúde no ponto de contacto entre a comunidade e o sistema de saúde,

RECOMENDA, para que os cuidados primários de saúde sejam completos, a indispensabilidade de que todas as actividades dirigidas para o desenvolvimento estejam relacionadas e equilibradas entre si de modo a concentrarem-se nos problemas de maior prioridade, conforme os sintam a comunidade e o sistema de saúde; que se ponham em prática intervenções aceitáveis no aspecto cultural, tecnicamente apropriadas, exequíveis e adequadamente seleccionadas, em combinações que satisfaçam as necessidades locais, o que exige a integração dos programas monovalentes nas actividades dos cuidados primários de saúde tão rápida e harmoniosamente quanto seja possível.

RECOMENDAÇÃO 7

Apoio aos cuidados primários de saúde pelo sistema nacional de saúde

A Conferência,

considerando que os cuidados primários de saúde constituem a base de um sistema de saúde nacional compreensivo e que este deve estar organizado de tal forma que apoie os cuidados primários de saúde e os torne eficazes,

RECOMENDA que os governos fomentem os cuidados primários de saúde e outras actividades de desenvolvimento afins, de maneira a aumentar a capacidade da população para resolver os seus próprios problemas; para isso, requere-se uma estreita colaboração entre o pessoal dos cuidados primários de saúde e a comunidade; que cada equipa seja responsável por uma zona determinada; do mesmo modo é especialmente necessário reorientar o sistema existente para conseguir que todos os escalões do sistema de saúde apoiem os cuidados primários de saúde, facilitando o envio de doentes e a consulta sobre problemas de saúde, proporcionando ajuda, supervisão e orientação, além de apoio logístico e aprovisionamento, assim como uma melhor utilização dos hospitais e destino adequado dos casos especiais.

RECOMENDAÇÃO 8

Necessidades especiais dos grupos vulneráveis mais expostas a riscos de saúde

A Conferência,

persuadida das necessidades especiais de aqueles que, por razões geográficas, sociais ou financeiras, estão menos capacitados para procurar cuidados de saúde por iniciativa própria, e extremamente preocupada com os grupos mais vulneráveis ou mais expostos a riscos de saúde,

RECOMENDA que, como parte da cobertura total das populações por meio dos cuidados primários de saúde, se conceda alta prioridade às necessidades especiais das mulheres, às crianças, aos trabalhadores em risco especial e aos sectores desfavorecidos da sociedade; que se desenvolvam as actividades necessárias para identificar, sistematicamente, no seio de todas as famílias e lugares de trabalho os indivíduos mais expostos, a fim de lhes prestar cuidados permanentes e eliminar os factores que afectam negativamente a saúde.

RECOMENDAÇÃO 9

Funções e categorias de pessoal de saúde e de actividades afins para os cuidados primários de saúde

A Conferência,

persuadida de que o desenvolvimento dos cuidados primários de saúde depende das actividades e capacidades de todo o pessoal de saúde de um sistema de saúde organizado para apoiar e actuar como complemento das actividades do pessoal de primeira linha,

RECOMENDA aos governos que dêem alta prioridade à utilização plena dos recursos humanos, definindo as funções técnicas, as especialidades de apoio e as actividades adequadas para cada uma das categorias do pessoal de saúde consoante as tarefas que lhe incumbam, a fim de assegurar cuidados primários de saúde eficazes, e integrando equipas formadas por pessoal de saúde da comunidade, outro pessoal das actividades de desenvolvimento, pessoal de categoria intermediária, médicos e, se for apropriado, por curandeiros e parteiras tradicionais.

RECOMENDAÇÃO 10

Habilitação de pessoal de saúde e de actividades afins para os cuidados primários de saúde

A Conferência,

reconhecendo a necessidade de dispor de pessoal habilitado em número suficiente para o apoio e a prestação de cuidados primários de saúde,

RECOMENDA que os governos empreendam actividades de reorientação e habilitação para todas as categorias de pessoal existente e revejam os programas para a preparação de novo pessoal de saúde da comunidade; que através de todas as actividades de formação se certifiquem de que o pessoal de saúde, especialmente os médicos e as enfermeiras, está social e tecnicamente preparado e motivado para servir a comunidade; que em todo o trabalho de formação sejam incluídas actividades práticas; que se exortem os médicos e outras categorias de profissionais da saúde a que, ao iniciar as suas carreiras, trabalhem em zonas mais desprovidas; e que prestem a devida atenção ao ensino permanente, à supervisão de apoio, à preparação dos professores do pessoal de saúde e ao adestramento sanitário de pessoal de outros sectores.

RECOMENDAÇÃO 11

Incentivos para prestar serviço em zonas remotas e desprovidas

A Conferência,

persuadida de que são requeridas dedicação e motivação especiais para prestar cuidados primários de saúde orientados, sobretudo, para resposta às necessidades da população desatendida, e que mesmo quando se verificam essas condições é absolutamente necessário proporcionar recompensas e reconhecimentos culturalmente adequados pelos serviços prestados em condições difíceis e duras,

RECOMENDA que se concedam incentivos a todas as categorias do pessoal de saúde em proporção com o isolamento relativo e a dureza das condições em que vivem e trabalham; que esses incentivos se adaptem às situações locais e adoptem formas tais como melhores condições de vida e de trabalho, assim como possibilidades de maior formação e ensino contínuo.

RECOMENDAÇÃO 12

Tecnologia apropriada para a saúde

A Conferência,

persuadida de que os cuidados primários de saúde exigem a identificação, o desenvolvimento, a adaptação e a aplicação da tecnologia apropriada.

RECOMENDA que os governos, as instituições académicas e de investigação, as organizações não governamentais e, sobretudo, as comunidades, desenvolvam tecnologias e métodos que contribuam para a saúde, tanto no sistema de saúde como nos serviços afins, que sejam satisfatórios sob o ponto de vista científico, adaptados às necessiddaes locais, aceitáveis pela comunidade e mantidos pela própria população, em conformidade com o princípio de auto-responsabilidade, com base em recursos que possam ser proporcionados tanto pela comunidade como pelo país.

RECOMENDAÇÃO 13

Apoio logístico e instalações para os cuidados primários de saúde

A Conferência,

consciente de que o êxito dos cuidados primários de saúde depende de um apoio logístico adequado, e mantido em milhares de comunidades de muitos países, o que põe novos problemas de grande magnitude,

RECOMENDA que os governos adoptem disposições para o estabelecimento de serviços executivos, administrativos e de manutenção eficazes, que abranjam todas as actividades de cuidados primários de saúde na comunidade; que se garanta a disponibilidade constante do aprovisionamento e equipamento adequados e suficientes em todos os escalões do sistema de saúde, em particular para o pessoal de saúde; que se preste especial atenção à aquisição e armazenamento, em condições de segurança, de produtos perecíveis, tais como vacinas; que se fortaleçam devidamente as instalações de apoio, incluindo os hospitais; e que os governos se assegurem de que todas as instalações e os meios de transporte para os cuidados primários de saúde sejam funcionalmente eficazes e adequados ao meio social e económico.

RECOMENDAÇÃO 14

Medicamentos essenciais para os cuidados primários de saúde

A Conferência,

persuadida de que os cuidados primários de saúde exigem um fornecimento contínuo de medicamentos essenciais; de que o fornecimento de medicamentos representa uma percentagem importante das despesas do sector saúde; e de que a progressiva ampliação dos cuidados primários de saúde para conseguir eventualmente uma cobertura nacional, ocasionará um grande aumento do fornecimento de medicamentos,

RECOMENDA que os governos formulem orientações e regulamentos nacionais acerca da importação, produção local, venda e distribuição de medicamentos e produtos biológicos, a fim de garantir a disponibilidade de produtos farmacêuticos essenciais nos diversos níveis dos cuidados primários de saúde, ao menor custo possível; que se adoptem medidas específicas com o fim de evitar a utilização excessiva de medicamentos; que se incorporem remédios tradicionais de eficácia comprovada; e que se estabeleçam sistemas eficientes para a sua administração e fornecimento.

RECOMENDAÇÃO 15

Administração e gestão dos cuidados primários de saúde

A Conferência,

considerando que para poder pôr em prática os princípios dos cuidados primários de

saúde é necessário reforçar a estrutura administrativa e os métodos de gestão,

RECOMENDA que os governos aperfeiçoem a estrutura administrativa e apliquem em todos os níveis métodos apropriados de gestão para planear e pôr em prática os cuidados primários de saúde, atribuir-lhe recursos, controlar e avaliar os programas com auxílio de um sistema de informação simples e pertinente, e partilhar o seu controlo com a comunidade, e que facilitem ao pessoal de saúde de diferentes categorias o adestramento apropriado em matéria de gestão.

RECOMENDAÇÃO 16

Investigação e estudos operativos em matéria de serviços de saúde

A Conferência,

ressaltando que é bastante o que se sabe sobre os cuidados primários de saúde para que os governos possam iniciar ou ampliar a sua prática, mas persuadida também de que é preciso resolver muitos problemas vastos e complexos, e de que no processo da sua ampliação surgem continuamente novos problemas,

RECOMENDA que em todos os programas nacionais se reserve uma parte dos recursos para realizar investigação permanente sobre os serviços de saúde e zonas de aplicação que funcionem em paralelo com o processo geral de prestação de cuidados; se fomente a avaliação e a informação sobre os resultados obtidos para identificar oportunamente os problemas; se atribua às instituições educativas e de investigação a possibilidade de colaborar estreitamente com o sistema de saúde; se fomente a participação do pessoal local e dos membros da comunidade; e se realize um esforço permanente para formar pessoal de investigação a fim de dar impulso à autoresponsabilidade nacional neste campo.

RECOMENDAÇÃO 17

Recursos destinados aos cuidados primários de saúde

A Conferência,

persuadida de que a prestação dos cuidados primários de saúde requere a mobilização eficiente de recursos relacionados com a saúde,

RECOMENDA que os governos, expressando a sua decisão política de promover o conceito dos cuidados primários de saúde com o aumento progressivo dos recursos financeiros atribuídos à saúde, dêem elevada prioridade à criação de cuidados primários de saúde nas comunidades menos favorecidas; e que os governos fomentem e apoiem maneiras diversas de financiar os cuidados primários de saúde, inclusive, conforme as circunstâncias, por intermédio do sistema de segurança social, das cooperativas e de todos os recursos disponíveis a nível local, com a activa intervenção e participação das comunidades; e que os governos adoptem medidas orientadas no sentido de se obter a maior eficácia e rendimento possíveis das actividades relacionadas com a saúde, em todos os sectores.

RECOMENDAÇÃO 18

Participação nacional nos cuidados primários de saúde

A Conferência,

afirmando que os cuidados primários de saúde exigem uma decidida e constante participação política em todos os escalões do governo, baseada na compreensão e no apoio plenos da população,

RECOMENDA que os governos expressem a sua vontade política de alcançar a saúde para todos, comprometendo-se a participar de uma maneira permanente na aplicação dos cuidados primários de saúde como parte integrante do sistema nacional de saúde no âmbito do processo de desenvolvimento sócio-económico geral, com a participação de todos os sectores interessados, que adoptem as medidas legislativas apropriadas, quando for necessário, e que estimulem, mobilizem e mantenham o interesse e a participação do público no desenvolvimento dos cuidados primários de saúde.

RECOMENDAÇÃO 19

Estratégias nacionais para os cuidados primários de saúde

A Conferência,

fazendo ressaltar a necessidade de contar com estratégias nacionais para pôr em prática a orientação política de cuidados primários de saúde,

RECOMENDA que os governos elaborem sem demora estratégias nacionais, com objectivos bem definidos, e desenvolvam e apliquem planos de acção para conseguir que os

cuidados primários de saúde sejam acessíveis à totalidade da população, atribuindo a máxima prioridade aos grupos e zonas mais carenciadas, e que reavaliem essas políticas, estratégias e planos de cuidados primários de saúde com o fim de garantir a sua adaptação às diferentes fases do desenvolvimento.

RECOMENDAÇÃO 20

Cooperação técnica em matéria de cuidados primários de saúde

A Conferência,

persuadida de que todos os países podem aprender uns com os outros em questões de saúde e desenvolvimento,

RECOMENDA que os países compartilhem e troquem entre si informações, experiências e conhecimentos técnicos relativos ao desenvolvimento dos cuidados primários de saúde como parte da cooperação técnica entre os diversos países, em particular entre os países em desenvolvimento.

RECOMENDAÇÃO 21

Apoio internacional aos cuidados primários de saúde

A Conferência,

persuadida de que, para fomentar e manter os cuidados primários de saúde e superar os obstáculos que se opõem à sua introdução, são necessários uma solidariedade e um apoio internacionais enérgicos e coordenados, e inteirada com satisfação das ofertas de colaboração das organizações do sistema das Nações Unidos, assim como de outras fontes de cooperação.

RECOMENDA que as organizações internacionais, os organismos multilaterais e bilaterais, as organizações não-governamentais, as entidades de financiamento e outras partes interessadas na saúde internacional, actuando de maneira coordenada, estimulem e ajudem os países a fazerem sua uma política de cuidados primários de saúde e canalizem para esta uma maior assistência técnica e financeira, deixando que os próprios países coordenem esses recursos com um espírito de auto-responsabilidade e auto-determinação e aproveitando ao máximo os recursos locais disponíveis.

RECOMENDAÇÃO 22

Função da OMS e da FISE no apoio aos cuidados primários de saúde

A Conferência,

persuadida da necessidade de um plano mundial de acção em prol dos cuidados primários de saúde, como esforço cooperativo de todos os países,

RECOMENDA que a OMS e a FISE, inspirando-se na Declaração de Alma Ata e nas recomendações desta Conferência, continuem a fomentar e a apoiar as estratégias e os planos nacionais de cuidados primários de saúde como parte do desenvolvimento geral;

RECOMENDA que a OMS e a FISE, com base nas estratégias e nos planos nacionais, formulem, com a maior brevidade possível, planos de acção combinada de alcance regional e mundial, que fomentem e facilitem o apoio mútuo dos países, em particular mediante a utilização das suas instituições nacionais, a fim de acelerar o desenvolvimento dos cuidados primários de saúde e,

RECOMENDA que a OMS e a FISE fomentem continuamente a mobilização de outros recursos internacionais a favor dos cuidados primários de saúde.

4.ª SECÇÃO

LEGISLAÇÃO

I — Decreto-Lei n.º 496/74, de 27 de Setembro

II — Decreto-Lei n.º 278/76, de 14 de Abril

III — Decreto n.º 319/76, de 3 de Maio

IV — Portaria n.º 432/76, de 20 de Julho

V — Decreto Regulamentar n.º 72/77, de 31 de Outubro

VI — Despacho Normativo n.º 248/77, de 7 de Dezembro de 1977, de Sua Excelência o Ministro dos Assuntos Sociais

VII — Despacho conjunto de 4 de Fevereiro de 1979, de Suas Excelências o Ministro das Finanças e do Plano, e Secretários de Estado da Administração Pública e da Saúde

VIII — Despacho de 22 de Junho de 1979, de Sua Excelência o Secretário de Estado da Saúde

LEGISLAÇÃO

Decreto-Lei n.º 496/74, de 27 de Setembro

Passa para o INSA a orientação, coordenação e fiscalização do ensino de enfermagem

No lançamento das bases para a criação de um serviço nacional de saúde, dentro da orientação assumida pelo Governo Provisório, reveste-se de primordial importância a preparação e estruturação de carreiras de pessoal de saúde, nomeadamente do pessoal de enfermagem, o que implica a revisão do respectivo ensino.

Assim, sem prejuízo de vir a ser encarada a possibilidade de o ensino de enfermagem passar a ser feito no âmbito do Ministério da Educação e Cultura, como acontece em diversos países, e uma vez que se impõem algumas medidas imediatas relativas à sua orientação e coordenação, afigura-se ser vantajoso subordinar as mesmas, por agora, ao Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, visto ser, a nível nacional, o órgão responsável pela investigação e ensino aplicados ao sector da saúde.

Nestes termos:

Usando da faculdade conferida pelo n.º 1, 3.º, do artigo 16.º da Lei Constitucional n.º 3/74, de 14 de Maio, o Governo Provisório decreta e eu promulgo, para valer como lei, o seguinte:

Artigo 1.º — 1. Passa a ser da competência do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge a orientação, coordenação e fiscalização do ensino de enfermagem, que até agora cabiam à Direcção-Geral dos Hospitais, e, quanto à enfermagem de saúde pública, à Direcção-Geral de Saúde.

2. Em todas as disposições legais que referem a intervenção da Direcção-Geral respectiva em atribuições do sector do ensino de enfermagem, considera-se como feita a referência àquele Instituto.

Art. 2.º — 1. Enquanto não for revisto o quadro do Instituto, de acordo com as exigências resultantes deste diploma, podem ser destacados, para nele prestarem serviço, os funcionários que se julguem necessários para assegurar o exercício das suas novas atribuições.

2. Os funcionários destacados para o Instituto ao abrigo do número anterior continuam a ser abonados pelo serviço a que pertencem.

Visto e aprovado em Conselho de Ministros. — *Vasco dos Santos Gonçalves — Maria de Lourdes Pintasilgo.*

Promulgado em 23 de Setembro de 1974.

Publique-se.

O Presidente da República, *António de Spínola.*

Decreto-Lei n.º 278/76, de 14 de Abril

Separa a Escola Nacional de Saúde Pública do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge

Por força do disposto no n.º 3 do artigo 1.º do Decreto-Lei n.º 372/72, de 2 de Outubro, a Escola Nacional de Saúde Pública goza de personalidade jurídica e tem autonomia técnica e administrativa. Nos termos do n.º 2 do artigo 3.º do mesmo diploma, a Escola constitui o sector de ensino do Instituto Nacional de Saúde.

Esta situação revelou-se pouco viável, pois dificilmente se compreende que uma instituição dotada de autonomia técnica e administrativa possa funcionar e desenvolver-se como simples sector de outra igualmente autónoma, técnica e administrativamente.

A separação, de facto, dos órgãos de direcção e administração das duas instituições, estabelecida após a Revolução de 25 de Abril de 1974, torna mais aguda e evidente esta dificuldade.

A experiência já colhida indica claramente que, sem prejuízo da cooperação que devem prestar-se mutuamente, se torna indispensável legalizar imediatamente a situação de facto já existente.

Nestes termos:

Usando da faculdade conferida pelo artigo 3.º, n.º 1, alínea 3), da Lei Constitucional n.º 6/75, de 26 de Março, o Governo decreta e eu promulgo, para valer como lei, o seguinte:

Artigo 1.º — 1. A Escola Nacional de Saúde Pública, referida no Decreto-Lei n.º 372/72, de 2 de Outubro, deixa de constituir o sector de ensino do Instituto Nacional de Saúde.

2. Por despacho do Ministro dos Assuntos Sociais serão estabelecidos os termos de cooperação entre o Instituto e a Escola.

3. As instalações actualmente ocupadas pela Escola Nacional de Saúde Pública no edifício do Instituto Nacional de Saúde e respectivos equipamentos continuam afectos aos Serviços da Escola, que também podem usar, enquanto for necessário, as instalações de utilização comum.

Art. 2.º — 1. A Escola entra em regime de instalação, passando a ser-lhe aplicável o disposto nos artigos 79.º a 85.º do Decreto-Lei n.º 413/71, de 27 de Setembro.

2. Um dos vogais da comissão instaladora da Escola será um representante do Ministério da Educação e Investigação Científica, designado pelo respectivo Ministro.

3. O pessoal administrativo que trabalha especificamente para a Escola transitirá para esta, sem perda de qualquer direito, por simples despacho do Ministro dos Assuntos Sociais, publicado no *Diário do Governo*, com dispensa de todas as formalidades, excepto a anotação do Tribunal de Contas, qualquer que tenha sido a forma de provimento e a entidade de que dependa.

Art. 3.º — 1. Continuam a vigorar as disposições do Decreto-Lei n.º 372/72 que se referem à Escola, com excepção do artigo 9.º, que é revogado, e das que contrariem o que fica estabelecido neste diploma.

2. No prazo de seis meses, após a tomada de posse da comissão instaladora, será apresentado por esta ao Governo o projecto de reestruturação da Escola.

3. Até à reestruturação, o Ministro dos Assuntos Sociais autorizará, por despacho, as modificações julgadas convenientes na organização interna da Escola e nos seus esquemas de actividade.

4. O Ministro das Finanças introduzirá no Orçamento do Ministério dos Assuntos Sociais as alterações necessárias à execução deste diploma.

José Baptista Pinheiro de Azevedo — Francisco Salgado Zenha — Vítor Manuel Rodrigues Alves — Rui Manuel Parente Chancecerelle de Machete.

Promulgado em 3 de Abril de 1976.

Publique-se.

O Presidente da República, *Francisco da Costa Gomes.*

Decreto n.º 319/76, de 3 de Maio

Altera a constituição da Comissão Técnica dos Novos Medicamentos

Encontra-se actualmente em revisão a legislação respeitante a produtos farmacêuticos, matéria que se considera indispensável remodelar profundamente, com vista ao lançamento das bases de um serviço nacional de saúde. Entretanto, reconhece-se que deve desde já alterar-se a constituição da Comissão Técnica dos Novos Medicamentos, de modo a aumentar a sua eficiência.

Nestes termos:

Usando da faculdade conferida pelo artigo 3.º, n.º 1, alínea 3), da Lei Constitucional n.º 6/75, de 26 de Março, o Governo decreta e eu promulgo o seguinte:

Artigo 1.º — 1. A Comissão Técnica dos Novos Medicamentos, criada pelo Decreto n.º 41 448, de 18 de Dezembro de 1957, com as alterações introduzidas pelo Decreto n.º 45 534, de 17 de Janeiro de 1964, adiante designada abreviadamente por Comissão, funciona junto do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, nos termos do artigo 25.º do Decreto-Lei n.º 413/71, de 27 de Setembro, e artigo 5.º do Decreto n.º 35/72, de 31 de Janeiro, e passa a ter a seguinte composição:

a) Quatro vogais médicos;
b) Quatro vogais químico-farmacêuticos.

2. Os vogais a que se refere o número anterior serão elementos de reconhecida competência técnica no campo da terapêutica medicamentosa, nomeados por despacho do Secretário de Estado da Saúde.

3. O presidente da Comissão será eleito de entre os seus vogais e terá voto de qualidade.

Art. 2.º — 1. A Comissão disporá ainda de:

a) Um conjunto de assessores técnicos, nomeados por despacho do Secretário de Estado da Saúde, sob proposta do presidente do Comissão, a quem competirá dar pareceres especializados sobre medicamentos de determinados sectores da terapêutica, sempre que a Comissão o considere necessário;
b) Um secretário, que assistirá às sessões, sem direito de voto;
c) Uma secretaria própria, com pessoal destacado do quadro administrativo do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, chefiada por um funcionário de categoria não inferior a primeiro-oficial.

2. Será designado um químico-farmacêutico do quadro técnico do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, ao qual caberá coordenar as relações da Comissão com o departamento de comprovação de medicamentos, vacinas, soros e outros produtos biológicos daquele Instituto e da mesma Comissão com o exterior.

3. Sempre que a Comissão houver que emitir parecer sobre medicamentos para uso em medicina veterinária, incluirá também como vogal um médico veterinário, a designar pelo Secretário de Estado do Fomento Agrário e nomeado por despacho do Secretário de Estado da Saúde.

José Baptista Pinheiro de Azevedo — Vasco Fernando Leote de Almeida e Costa — Francisco Salgado Zenha — Rui Manuel Parente Chancerelle de Machete.

Promulgado em 15 de Abril de 1976.

Publique-se.

O Presidente da República, *Francisco da Costa Gomes.*

Portaria n.º 432/76, de 20 de Julho

Aprova o Regulamento do Centro de Estudos de Nutrição

O estudo dos problemas da alimentação racional da nossa população, nas suas relações com a prevenção das doenças da nutrição e da promoção da saúde, é uma tarefa altamente prioritária que urge desenvolver, no âmbito da saúde pública, de acordo com os conhecimentos e a experiência prática adquiridos no campo da nutrição e da política alimentar.

Neste sentido, torna-se necessário organizar um serviço de índole nacional, com capacidade para realizar os trabalhos de estudo, investigação e avaliação estatística relativos às condições alimentares e ao estado de nutrição do povo português, nos aspectos bioquímicos, fisiológicos e sócio-económicos, considerados indispensáveis para a correcção das deficiências existentes e a promoção concreta de melhores níveis de saúde dos diversos sectores etários e sociais da população.

Tendo em conta que está criado no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, desde 1972, um Centro de Estudos de Nutrição, que apenas será preciso regulamentar e pôr em funcionamento, dando-lhe as atribuições que agora se reconhecem indispensáveis e dotando-o dos meios de trabalho convenientes, tomam-se, desde já, em conformidade, as providências constantes da presente portaria, sem prejuízo de ulteriores ajustamentos que venham a ser considerados úteis.

Nestes termos:

Manda o Governo da República Portuguesa, pelo Secretário de Estado da Saúde, aprovar o seguinte regulamento, ao abrigo do artigo 67.º do Decreto n.º 35/72, de 31 de Janeiro:

Regulamento do Centro de Estudos de Nutrição

Artigo 1.º — O Centro de Estudos de Nutrição, criado no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge pelo artigo 21.º, alínea *c*), do Decreto n.º 35/72, de 31 de Janeiro, passa a reger-se pelas disposições do presente Regulamento.

Art. 2.º — 1. Ao Centro de Estudos de Nutrição cabe exercer as funções de estudo, investigação, ensino e apoio técnico-científico, no domínio da alimentação e nutrição, atribuídas por lei ao Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

2. O Centro de Estudos de Nutrição tem a sede em Lisboa e, para prossecução dos seus objectivos, pode constituir núcleos permanentes ou eventuais, a funcionar na Delegação do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge no Porto e nos centros de saúde distritais.

Art. 3.º — 1. Na prossecução das suas atribuições, incumbe especialmente ao Centro de Estudos de Nutrição, como centro de investigação e apoio técnico-científico:

a) Estudar o valor alimentar dos alimentos da população portuguesa e promover a actualização da Tabela da Composição dos Alimentos Portugueses;
b) Determinar a qualidade, toxicidade, poluição e acção concerígena dos alimentos;
c) Estudar o metabolismo e os factores genéricos metabólicos e as suas relações com a patologia nutricional e degenerativa da população e a gerontologia;
d) Realizar inquéritos nutricionais, epidemiológicos e sociológicos tendentes ao conhecimento da alimentação da população portuguesa em geral e de grupos da população e dos factores sócio-económicos correspondentes;
e) Avaliar as necessidades alimentares e as disponibilidades de alimentos;
f) Colaborar na definição e execução da política de alimentação e nutrição do País, compreendendo a educação e a informação regular e correcta da população e a adaptação da agricultura, pescas, indústria alimentar e circuitos comerciais, de forma a assegurar, pela produção, transportes e meios de conservação adequados, a existência e disponibilidade de alimentos necessários nos locais de consumo;
g) Elaborar planos de investigação de nutrição no sector da saúde pública, em colaboração com outros serviços da Secretaria de Estado da Saúde, designadamente a Direcção-Geral de

Saúde, e serviços interessados de outros Ministérios;

h) Manter e fomentar o intercâmbio com os centros científicos congéneres, nacionais e estrangeiros, em articulação com o Gabinete de Estudos e Planeamento.

2. Como centro de ensino, incumbe ao Centro de Estudos de Nutrição:

a) Ministrar os cursos que lhe sejam cometidos;

b) Prestar apoio, no sector do ensino de nutrição, à Escola Nacional de Saúde Pública e outras instituições;

c) Manter e fomentar o intercâmbio com outros centros de ensino de nutrição, nacionais ou estrangeiros, em articulação com o Gabinete de Estudos e Planeamento.

3. Como centro de documentação e informação, incumbe ao Centro de Estudos de Nutrição:

a) Estabelecer um sistema de documentação e comunicação destinado a informar regularmente os serviços de saúde, os demais serviços interessados e a população sobre alimentação e nutrição;

b) Publicar trabalhos científicos e de divulgação e promover conferências, colóquios e reuniões de carácter científico, técnico e cultural ou colaborar na sua realização;

c) Criar e desenvolver, em colaboração com o Instituto Nacional de Estatística e outros organismos interessados, um sistema de colheita, tratamento e divulgação de dados estatísticos relativos ao sector de alimentação e nutrição.

Art. 4.º — São órgãos do Centro de Estudos de Nutrição:

a) O conselho directivo, constituído por um director, um subdirector e um secretário;

b) O conselho técnico-científico, constituído pelos elementos que formam o conselho directivo e pelos responsáveis dos departamentos laboratoriais e dos serviços;

c) O conselho consultivo, constituído pelos elementos que formam o conselho directivo e por representantes do Gabinete de Estudos e Planeamento, Direcção-Geral de Saúde, Escola Nacional de Saúde Pública e de outros Ministérios ou departamentos interessados.

Art. 5.º — Compete ao conselho directivo:

a) Representar o Centro:

b) Propor à aprovação superior os planos de acção elaborados pelo conselho consultivo em matéria de alimentação e nutrição, de harmonia com a política definida pelo Secretário de Estado da Saúde, e executá-los quando aprovados;

c) Superintender nos serviços, coordenar as suas actividades e promover a elaboração de planos e programas de trabalho;

d) Assegurar o recrutamento do pessoal e tomar as iniciativas necessárias à prossecução das actividades do Centro, submetendo a despacho os assuntos que careçam de decisão superior;

e) Autorizar despesas, dentro da competência que lhe for atribuída;

f) Exercer as funções necessárias à prossecução dos objectivos do Centro que não caibam especificamente a nenhum outro órgão.

Art. 6.º — Compete ao conselho técnico-científico:

a) Elaborar os planos e programas de trabalho e distribuí-los para execução;

b) Avaliar o rendimento dos serviços e propor as medidas adequadas à eficiente realização das tarefas em curso ou previstas;

c) Dar parecer sobre os problemas de investigação e ensino e de pessoal técnico de interesse para o Centro;

d) Propor a distribuição das verbas atribuídas ao Centro pelos diferentes serviços.

Art. 7.º — Compete ao conselho consultivo:

a) Elaborar os planos de acção do Centro, de harmonia com a política definida pelo Secretário de Estado da Saúde;

b) Estabelecer as prioridades dos programas de investigação e de colheita dos elementos que permitam elaborar uma política nacional de alimentação e nutrição;

c) Elaborar o programa geral de informação da população, ao nível nacional e regional.

Art. 8.º — 1. O Centro de Estudos de Nutrição compreende serviços técnico-científicos e serviços administrativos.

2. Os serviços técnico-científicos são os seguintes:

a) Departamentos de Química e Microbiologia dos Alimentos, compreendendo os laboratórios de composição dos alimentos, de higiene e toxicidade dos alimentos e de microbiologia geral e industrial;

b) Departamento de Bioquímica e Fisiopatologia, compreendendo os laboratórios de bioquímica e metabolismo e de fisiopatologia experimental;
c) Departamento de Inquéritos e Estudos da População, compreendendo as secções de inquéritos nutricionais, epidemiológicos e sociais, de regimes normais e dietéticos e de cálculo das necessidades e disponibilidades alimentares;
d) Serviço de Documentação e Informação, compreendendo as secções de biblioteca, de documentação e informática e de publicações, desenho e fotografia.

3. Os serviços administrativos compreendem os seguintes sectores:

a) Pessoal;
b) Contabilidade;
c) Expediente;
d) Arquivo.

Art. 9.º — Podem ser constituídas em hospitais ou em ligação com os centros de saúde, unidades clínicas de apoio à investigacão do Centro de Estudos de Nutrição, que funcionarão nos termos que forem acordados entre as entidades interessadas, sujeitos a homologação ministerial.

Art. 10.º — 1. O Centro de Estudos de Nutrição ocupará nas instalações do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge em Lisboa e na sua delegação no Porto as áreas que forem fixadas em despacho do Secretário de Estado da Saúde.

2. Serão fixados em despacho do Secretário de Estado da Saúde os termos em que se estabelecerá a ligação funcional dos actuais Departamentos de Bioquímica e Biofísica e de Nutrição e Higiene dos Alimentos do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge com o Centro de Estudos de Nutrição.

3. Também em despacho do Secretário de Estado da Saúde serão definidos os termos em que se processará a colaboração da Escola Nacional de Saúde Pública com o Centro de Estudos de Nutrição.

Art. 11.º — O lugar de director do Centro de Estudos de Nutrição é exercido, por inerência de funções, pelo professor da cadeira de Nutrição e Higiene de Alimentação da Escola Nacional de Saúde Pública.

Art. 12.º — 1. O Centro de Estudos de Nutrição entra no regime de instalação previsto nos artigos 79.º e seguintes do Decreto-Lei n.º 413/71, de 27 de Setembro, contando-se o início do período de instalação a partir da data de posse da primeira comissão instaladora.

2. A comissão instaladora a nomear terá a composição fixada neste diploma para o conselho directivo.

3. Enquanto vigorar o regime de instalação, o Centro funcionará na dependência directa do Secretário de Estado da Saúde.

Art. 13.º — A comissão instaladora deverá fazer presentes ao Secretário de Estado da Saúde, dentro dos trinta dias imediatos à tomada de posse, os projectos de despachos que se mostrem necessários à entrada em funcionamento efectivo durante o regime de instalação.

Ministério dos Assuntos Sociais, 2 de Julho de 1976. — O Secretário de Estado da Saúde, *Albino Aroso Ramos.*

Decreto Regulamentar n.º 72/77, de 31 de Outubro

Altera diversas disposições do Decreto n.º 41 448, de 18 de Dezembro de 1957 (Comissão Técnica dos Novos Medicamentos)

No prosseguimento da reorganização da Comissão Técnica dos Novos Medicamentos e no que se refere ao conjunto de medidas tendentes a remodelar a legislação respeitante a novos medicamentos, no seguimento do Decreto n.º 319/76, de 3 de Maio, entende-se premente a substituição do Decreto n.º 45 534, de 17 de Janeiro de 1964, constante de dois artigos, o primeiro dos quais já foi alterado pelo citado Decreto n.º 319/76.

Assim sendo:

O Governo decreta, nos termos da alínea c) do artigo 202.º da Constituição, o seguinte:

Artigo 1.º — É modificada a redacção dos parágrafos do artigo 28.º do Decreto n.º 41 448, de 18 de Dezembro de 1957, aditados pelo artigo 2.º do Decreto n.º 45 534, de 17 de Janeiro de 1964, pela forma seguinte:

§ 1.º Por cada processo submetido à apreciação da Comissão Técnica dos Novos Medicamentos, nos termos deste diploma, cobrar-se-ão, além dos quantitativos fixados no corpo deste artigo, mais as taxas seguintes:

a) Por pedido de autorização inicial ou de medicamento, ainda não estudado ao abrigo do Decreto n.º 41 448, 5000$;
b) Por pedido de interposição de recurso, 5000$;
c) Por pedido de urgência na apreciacão do processo, mais 2000$;
d) Por pedido de modificação qualitativa da composição de um medicamento ou por pedido de autorizacão de novas formas farmacêuticas, 2000$;
e) Por pedido de modificação quantitativa da composição de um medicamento, por pedido de alteracão do texto dos rótulos ou da literatura interna, 1000$;
f) Por pedido de renovação de autorização de um medicamento, decorrido o prazo de dez anos sobre a anterior, 1000$.

§ 2.º As taxas referidas no parágrafo anterior constituem receita para pagamento de serviços do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge e a respectiva distribuição será fixada por despacho do Secretário de Estado da Saúde.

§ 3.º As verbas cobradas nos termos do § 1.º serão depositadas no Banco de Portugal ou suas agências, como caixa geral do Tesouro, mediante guias processadas pela Direcção-Geral de Saúde e lançadas no capítulo «Contas de ordem» do orçamento das receitas do Estado e na rubrica «Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge».

§ 4.º Um exemplar das referidas guias, depois de averbado com a data do pagamento, será enviado à 14.ª Delegação da Direcção-Geral da Contabilidade Pública pelo serviço processador, e outro, nas mesmas condições, acompanhará o respectivo processo enviado à Comissão.

§ 5.º A autorização de pagamento das despesas dos serviços a que se reportam as taxas indicadas fica sujeita à regra do duplo cabimento, podendo, em qualquer altura do ano, atingir importância igual à das receitas arrecadadas e escrituradas nos termos indicados.

Art. 2.º — Os membros da Comissão Técnica, os assessores técnicos, o secretário e o elemento coordenador com o Departamento de Comprovação de Medicamentos do Instituto e o exterior terão direito a uma remuneração fixada por despacho dos Secretários de Estado da Saúde e da Administração Pública e, por cada reunião a que assistam, a uma senha de presença, bem como ao pagamento de ajudas de custo e transportes que lhes couberem pelo desempenho das suas funções.

Art. 3.º — Fica revogado o Decreto n.º 45 534, de 17 de Janeiro de 1964.

Mário Soares — Henrique Teixeira Queirós de Barros — Joaquim Jorge de Pinho Campinos — Henrique Medina Carreira — Armando Bacelar.

Promulgado em 15 de Outubro de 1977.

Publique-se.

O Presidente da República, *António Ramalho Eanes.*

Despacho Normativo n.º 248/77, de 7 de Dezembro de 1977

Diário da República n.º 295 — I Série — de 23/Dezembro/77

Actualiza as taxas a cobrar pelos pedidos de licenciamento de novos medicamentos e de outros trâmites processuais

O Decreto Regulamentar n.º 72/77, de 21 de Outubro, que altera o Decreto n.º 41 448, de 18 de Dezembro de 1957, e revoga o Decreto n.º 45 534, de 17 de Janeiro de 1964, actualiza as taxas a cobrar pelos pedidos de licenciamento de novos medicamentos e de outros trâmites processuais que com estes se relacionam.

As receitas obtidas destinam-se a pagamento de serviços dos intervenientes na apreciação técnica dos processos que acompanham os pedidos referidos e ao Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge pelas análises laboratoriais que lhe são inerentes.

Assim:

Nos termos do artigo 28.º, § 2.º, do Decreto n.º 41 448, de 18 de Dezembro de 1957, com a redacção dada pelo Decreto Regulamentar n.º 72/77, de 31 de Outubro, determino o seguinte:

a) Ao Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge serão atribuídos 50 % do valor das taxas previstas nas alíneas *a*) e *d*) e primeira parte da alínea *e*) do § 1.º do artigo 28.º do Decreto n.º 41 448, de 18 de Dezembro de 1957, na sua actual redacção;

b) A receita anual remanescente, deduzidas as remunerações a atribuir aos intervenientes na apreciação técnica dos processos, reverterá para um fundo de reserva destinado à melhoria do equipamento do laboratório de comprovação de medicamentos, vacinas, soros e outros produtos biológicos do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge e ao aperfeiçoamento profissional dos seus técnicos.

Ministério dos Assuntos Sociais, 7 de Dezembro de 1977. — O Ministro dos Assuntos Sociais, *Armando Bacelar.*

Despacho conjunto, de 4 de Fevereiro de 1979

Diário da República n.º 147 — II Série de 28 de Junho de 1979

Fixa as gratificações aos membros da Comissão Técnica dos Novos Medicamentos

O Decreto Regulamentar n.º 72/77, de 31 de Outubro, que altera o Decreto n.º 41 448, de 18 de Dezembro de 1957, e revoga o Decreto n.º 45 534, de 17 de Janeiro de 1964, actualiza as taxas a cobrar pelos processos submetidos à apreciação da Comissão Técnica dos Novos Medicamentos.

As receitas obtidas destinam-se a pagamento de serviços do Instituto Nacional de Saúde, dos membros da Comissão Técnica dos Novos Medicamentos, dos assessores técnicos, do secretário da Comissão e do elemento coordenador com o departamento de comprovação de medicamentos.

Nos termos do artigo 28.º, § 2.º, do Decreto n.º 41 448, de 18 de Dezembro de 1957, na redacção que lhe foi dada pelo Decreto Regulamentar n.º 72/77, de 31 de Outubro, e ao abrigo do artigo 2.º deste último diploma e do artigo 6.º, n.º 2, do Decreto-Lei n.º 106/78, de 24 de Maio, determina-se:

a) O secretário da Comissão Técnica dos Novos Medicamentos auferirá a gratificação mensal de 2000$;

b) Os assessores técnicos receberão a gratificação de 1500$ por cada parecer que lhes for solicitado.

c) Os vogais da Comissão Técnica dos Novos Medicamentos e o elemento coordenador com o Departamento de Comprovação de Medicamentos do Instituto Nacional de Saúde serão gratificados individualmente, até ao limite de 72 000$ anuais, pelo remanescente da receita cobrada, deduzidos os pagamentos ao Instituto Nacional de Saúde e os previstos nas alíneas anteriores.

Presidência do Conselho de Ministros e Ministério das Finanças e do Plano e dos Assuntos Sociais, 4 de Fevereiro de 1979. — O Ministro das Finanças e do Plano, *Manuel Jacinto Nunes*. — O Secretário de Estado da Administração Pública, *António Jorge de Figueiredo Lopes*. — O Secretário de Estado da Saúde, *Mário José Gomes Marques*.

Despacho de 22 de Junho de 1979

Diário da República n.º 171 — II Série de 26 de Julho de 1979

Cria o Centro de Estudos de Cardiologia Preventiva

Tendo as doenças cárdio-vasculares assumido entre nós, nas últimas décadas, posição preocupante como doenças sociais, pela sua elevada frequência, mortalidade e invalidez, sente esta Secretaria de Estado a necessidade de desenvolver todos os esforços para o seu controlo.

Todavia, se, por um lado, se têm dado já alguns passos importantes no domínio da medicina curativa das doenças cárdio-vasculares, muito falta ainda estudar, planear e desenvolver no sector da prevenção.

Neste sentido, e tendo em consideração a situação portuguesa, a projecção científica e as conquistas que a cardiologia preventiva tem alcançado nos países mais avançados, as várias recomendações de técnicos nacionais e estrangeiros e os estudos pioneiros realizados em Portugal, esta Secretaria de Estado, indo ao encontro das necessidades acima referidas, cria um Centro de Estudos de Cardiologia Preventiva, ligado ao Instituto Nacional de Saúde.

Dele se espera que estude a epidemiologia das doenças cárdio-vasculares em Portugal, ensaie métodos de luta, colabore na educação sanitária e possa, de um modo geral, servir de centro metodológico no desenvolvimento dos cuidados assistenciais para uma adequada prevenção cárdio-vascular.

Nestes termos:

Artigo 1.º — É criado no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, de acordo com o disposto no n.º 4 do artigo 22.º do Decreto-Lei n.º 413/71 e no artigo 22.º do Decreto n.º 35/72, de 31 de Janeiro, o Centro de Estudos de Cardiologia Preventiva.

Art. 2.º — Compete ao Centro:

a) Promover o estudo das doenças cárdio-vasculares nos seus aspectos preventivos primários, secundários e terciários, ou de reabilitação;

b) Promover a realização de estudos epidemiológicos, em particular no que respeita à distribuição geográfica e à agregação familiar, profissional ou outra;

c) Contribuir para a educação do público e dos profissionais de saúde no âmbito da cardiologia preventiva;

d) Organizar ou apoiar sistemas de rastreio, de registo e de controlo das doenças ou complicações cárdio-vasculares de maior frequência no País em íntima colaboração com as demais instituições de saúde.

Art. 3.º — 1. O Centro será dirigido por uma comissão constituída por um número de membros não superior a três, designados pelo director do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, sendo um deles representante da Direcção-Geral de Saúde.

2. O presidente da comissão directiva do Centro será designado de entre os respectivos membros pelo director do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

Art. 4.º — O Centro funcionará no Serviço de Medicina IV do Hospital de Santa Maria (Núcleo de Cardiologia Preventiva), independentemente de lhe poderem vir a ser atribuídas outras instalações.

Art. 5.º — O Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge concederá ao Centro um subsídio a atribuir de acordo com o disposto no n.º 3.º da alínea *a*) do n.º 1 do artigo 3.º e da alínea *a*) do artigo 22.º do Decreto n.º 35/72, de 31 de Janeiro.

Art. 6.º — O Centro poderá também receber outros subsídios provenientes de entidades oficiais ou particulares, nacionais ou estrangeiras.

Secretaria de Estado da Saúde, 22 de Junho de 1979. — O Secretário de Estado da Saúde, *Mário José Gomes Marques*.

ÍNDICE GERAL

1.ª SECÇÃO Pág.

1 — O papel do Instituto Nacional de Saúde no desenvolvimento dos serviços de saúde portugueses — *F. A. Gonçalves Ferreira* 9

2 — A orientação dos problemas da alimentação-nutrição em Portugal — *F. A. Gonçalves Ferreira* 25

2.ª SECÇÃO

1 — Susceptibility of *Planorbarius metidjensis* from Portugal and Spain to *Schistosoma bovis* from Salamanca (Spain) — *M. L. Sampaio Silva, F. Simon Vicente, I. C. Avelino* e *V. Ramajo Martin* 47

2 — Susceptibility of *Bulinus truncatus* from Portugal and other origins to a strain of *Schistosoma bovis* of Salamanca (Spain) — *F. Simon Vicente, M. L. Sampaio Silva, V. Ramajo Martins* e *I. C. Avelino* 53

3 — A simplified perfusion technique for the recovery of *Schistosoma bovis* from laboratory animals — *M. L. Sampaio Silva* e *J. França Mota* 59

4 — Maintenance in Laboratory of *Schistosoma bovis* strain from Salamanca (Spain) — *M. L. Sampaio Silva, F. Simon Vicente, I. C. Avelino* e *V. Ramajo Martin* 67

5 — Maintenance of *Schistosoma haematobium* strain in laboratory — *M. L. Sampaio Silva, J. Fraga de Azevedo* e *I. C. Avelino* 75

6 — Intérêt de l'utilisation des antigènes homologues dans le serodiagnostic des bilharzioses par la technique d'immunifluorescence indirecte sur coupes à la congélation — *T. Kien Truong, M. Mojon, M. S. Tran* e *M. L. Sampaio Silva* 83

7 — Comparative study of *Schistosoma haematobium, Schistosoma bovis* and *Schistosoma mansoni* antigens — *M. L. Sampaio Silva, A. Capron* e *A. Wilkins* ... 89

8 — Human Fascioliasis in Portugal — *M. L. Sampaio Silva, A. Capron* e *M. Capron* 101

9 — Importância da manutenção em laboratório da estirpe de *Schistosoma bovis* — *M. L. Sampaio Silva* e *I. C. Avelino* 111

10 — Inquérito piloto sobre a prevalência das parasitoses intestinais numa população infantil da Freguesia de Vizela (Guimarães) — *M. L. Sampaio Silva* e *I. C. Avelino* 117

11 — Ensaio piloto com dose única no tratamento da Giardíase — *F. M. Coutinho Costa, M. L. Sampaio Silva, M. M. Peixoto* e *M. A. Bastos* 127

12 — Tratamento da Giardíase em pediatria com uma dose de tinidazol — *M. L. Sampaio Silva, F. Coutinho Costa, M. M. Peixoto, M. A. Bastos, M. J. Queirós* e *J. M. Calheiros* 129

Pág.

13 — Polimielite I — Prevalência de anticorpos em indivíduos dos 2-25 anos — *M. Irene Pires Nunes, J. Soares de Oliveira, F. Galvão de Melo* e *Laura Ayres* 133

14 — O Vírus da Gripa A (H1 N1) em Portugal — *M. Virgínia T. Figueiredo* 141

15 — Vigilância da Gripe em Portugal — *M. Virgínia T. Figueiredo* 145

16 — Os Arbovírus em Saúde Pública — *Armando Filipe* 151

17 — Características higiénicas microbiológicas de produtos de pastelaria (Lisboa) — *Ricardina Dantas* e *M. Rosário L. Novais* 171

18 — Alimentos dietéticos diversificados infantis «baby foods» — *Eugénia C. C. Amaral* 181

19 — Estudo bacteriológico de águas industrializadas à venda no mercado — *A. França e Silva* 199

20 — As grandes populações de dinoflagelados tóxicos na Lagoa de Óbidos — *Estela Sousa Silva* 253

21 — Estudo prospectivo de lipídeos sanguíneos em amostras da população portuguesa — *Alfredo Franco, Maria do Carmo Martinho* e *Maria do Carmo Cavalheiro Martins* 263

3.ª SECÇÃO

— Serviço Nacional de Saúde e cuidados primários de saúde — *F. A. Gonçalves Ferreira* 293

4.ª SECÇÃO

Legislação

I — Decreto-Lei n.º 496/74, de 27 de Setembro 319

II — Decreto-Lei n.º 278/76, de 14 de Abril 319

III — Decreto-Lei n.º 319/76, de 3 de Maio 320

IV — Portaria n.º 432/76, de 20 de Julho 321

V — Decreto Regulamentar n.º 72/77, de 31 de Outubro 323

VI — Despacho Normativo n.º 248/77 ,de 7 de Dezembro de 1977, de Sua Excelência o Ministro dos Assuntos Sociais 324

VII — Despacho conjunto de 4 de Fevereiro de 1979, de Suas Excelências o Ministro das Finanças e do Plano, e Secretários de Estado da Administração Pública e da Saúde 324

VIII — Despacho de 22 de Junho de 1979, de Sua Excelência o Secretário de Estado da Saúde 325

Composição, Impressão e Encadernação
nas Oficinas Gráficas da Rádio Renascença
Rua dos Duques de Bragança, 6
1200 LISBOA