

ARQUIVOS  
DO INSTITUTO  
NACIONAL  
DE SAÚDE



VOL. XVI-XVII | 1991/92



ARQUIVOS  
DO INSTITUTO  
NACIONAL  
DE SAÚDE



VOL. XVI-XVII

1991/92

ARQUIVOS  
DO  
INSTITUTO  
NACIONAL  
DE SAÚDE

**Director**

Professor José Bandeira Costa

**Coordenação**

Maria José Vaz Dias

Ilda Martins

**Redacção, Administração  
e Propriedade**

Instituto Nacional de Saúde

Avenida Padre Cruz

1699 Lisboa Codex

Portugal

**Composição e Impressão**

Soc. Astória, Lda.

Regueirão dos Anjos, 70

1197 Lisboa Codex

---

**Vol. XVI-XVII 1991/92**

O Instituto Nacional de Saúde não se responsabiliza pelas opiniões expressas nos artigos publicados nos ARQUIVOS, que são da exclusiva responsabilidade dos seus Autores. A utilização destes trabalhos obriga à identificação da sua origem e autoria.

Depósito Legal N.º 13502/86

ISSN 0870 - 2845

## Sumário / Contents

<b>1/A saúde e a doença da população portuguesa (Dia do INSA, 1992).</b> Health and disease in the Portuguese population. (Conference NIH Day, 1992). F. A. Gonçalves Ferreira	5
<b>2/Homenagem ao Professor Francisco António Gonçalves Ferreira (Dia do INSA, 1992).</b> Tribute to Professor Francisco António Gonçalves Ferreira (NIH Day, 1992). Aloísio Coelho	19
<b>3/Para um diagnóstico serológico precoce da lepra e da tuberculose (Prémio Ricardo Jorge de Saúde Pública, 1991).</b> Early serological diagnosis of leprosy and tuberculosis (Ricardo Jorge Award in Public Health, 1991). Jorge Torgal Garcia	23
<b>4/Mortalidade por cancro e ambiente: um exercício epidemiológico.</b> Environmental factors and cancer mortality: an epidemiological study. Victor L. Rodrigues; Francisco Alte da Veiga e Salvador Massano Cardoso	89
<b>5/Biomarcadores: seu conceito actual e perspectivas de utilização.</b> Biomarkers: the modern concept and the perspectives of application. J. J. Amaral Mendes	169
<b>6/Síndrome dos edifícios insalubres.</b> «The sick building syndrome». J. J. Amaral Mendes	187
<b>7/A utilização de questionários normalizados no estudo do síndrome dos edifícios insalubres.</b> The use of standard questionnaires in the sick building syndrome study. J. J. Amaral Mendes	207
<b>8/O Núcleo de Estudos Ambientais do Ministério da Saúde: quatro anos de actividade (Estudos 1-4).</b> The Ministry of Health Environmental Studies Working Group: four years of activity (Studies 1-4). J. J. Amaral Mendes	221
<b>9/Diagnóstico pré-natal de enzimopatias lisossomais: dificuldades e progressos.</b> Prenatal diagnosis of lysosomal enzyme defects: difficulties and progress. Manuela Hagenfeldt; Conceição Silva; Filomena Ferreira	281
<b>10/Diagnóstico laboratorial da doença cardíaca de possível etiologia viral.</b> Viral infections detected in patients with cardiac disease. Maria Irene Nunes; Maria Virgínia T. de Figueiredo; Maria Teresa Paixão; Maria Clara Carneiro; Adriana Gamboa; Helena Rebelo de Andrade	285
<b>11/Diagnóstico etiológico das infecções virais do SNC: experiência do Serviço de Virologia do INSA (1983-1990).</b> Viral infections of the central nervous system diagnosed at the National Institute of Health (1983-1990). Virgínia T. de Figueiredo; Maria Irene Nunes; Maria Clara Carneiro; Maria Teresa Paixão; Helena Rebelo de Andrade; Adriana Gamboa.	293
<b>12/Adenosina desaminase (ADA) no diagnóstico da pleuresia tuberculosa: método comparado com estudos bacteriológicos</b> Adenosine deaminase activity (ADA) in the diagnosis of pleural tuberculosis: a comparative study with culture methods. Edna Pereira Martins; Maria Conceição Magalhães; Laura Maria Botelho; Maria Fernanda Pereira	299
<b>13/Epidemiologia de <i>Candida albicans</i> por electroforese em campo pulsado.</b> Pulsed field electrophoresis of <i>Candida albicans</i> : an epidemiological study. J. C. Brandão; M. L. Rosado; M. L. Osório-Almeida	305



# A saúde e a doença da população portuguesa \*

F. A. Gonçalves Ferreira\*

Na comunicação do DIA DO INSA DE 1992, de acordo com a finalidade da criação desta efeméride em 1982, procurou-se analisar a situação presente da saúde e da doença em Portugal, na sequência das comunicações feitas nos anos anteriores e particularmente da que no ano de 1984 teve o título de «A Saúde em Portugal na Segunda Era da Saúde Pública».

O esquema geral da exposição compreendeu os 6 pontos seguintes.

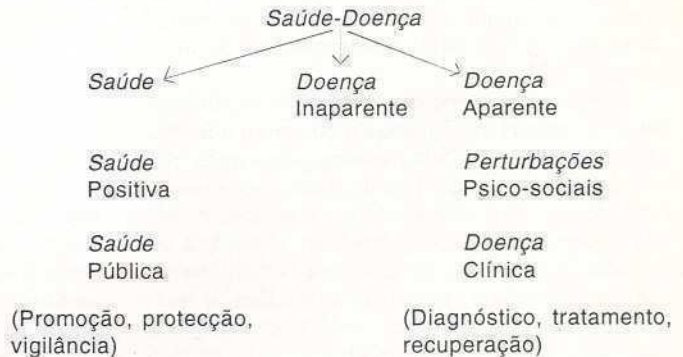
## 1 — Introdução sobre os factores e o condicionamento da saúde-doença nos indivíduos

A saúde e a doença constituem em todas as populações um binário de situações opostas, ou transitoriamente alternantes, em que a *saúde* nos aparece como a condição normal de funciona-

mento do organismo e de equilíbrio psicológico favorável à vida dos indivíduos, e a *doença* como a situação incómoda, preocupante ou dolorosa, causadora de riscos funcionais de evolução própria mais ou menos demorada, na dependência da sua gravidade e do tratamento instituído, podendo conduzir à cura, à cronicidade ou à morte.

A doença começa em muitos casos por revestir formas inaparentes, sem sintomas, e irá evoluir para a cura ou para condições mais ou menos graves que caracterizam a sua sintomatologia local ou sistémica.

Em termos concretos de funcionamento do organismo humano, a saúde e a doença dependem das manifestações favoráveis ou desfavoráveis de múltiplos factores que reunimos nos quatro grupos do quadrilátero e esquema descritivo seguintes.



\* Comunicação apresentada no «Dia do INSA», em 27 de Novembro de 1992, seguida de comentário pelo Prof. Aloísio Coelho, director do INSA, e de discussão pelos participantes na sessão.

— *Genoma*, ou seja, o material genético de cada célula sob a forma de genes agrupados em cromossomas, que no ovo (óvulo fecundado) contém toda a informação que irá condicionar a estrutura orgânica e funcional de cada novo indivíduo nos aspectos morfológicos e fisiológicos das células, tecidos e órgãos do corpo e do sistema nervoso nas funções de coordenação, sensoriais e de pensamento-raciocínio, memória e capacidade inovadora e inventiva.

No aspecto material, o genoma é quimicamente constituído pelo arranjo espacial complementar e repetitivo de apenas quatro bases (duas púricas e duas pirimídicas) de natureza azotada, de uma molécula do açúcar desoxirribose e de radicais de hidrogénio e de fosfato de interligação, constituindo moléculas nucleotídicas de ácidos simas dos genes, que se calcula serem em número de cerca de 80 000, por célula, agrupados de forma a constituírem com proteínas e outros materiais de suporte os cromossomas, que, por sua vez, se agrupam em 23 pares, sendo um par de cromossomas sexuais.

O peso total do material genético de cada célula é pequeníssimo, da ordem de microgramas ou inferior, e o de cada gene ainda muitos milhares de vezes mais reduzido. Os genes na totalidade representam apenas cerca de 1 % do genoma.

É inacessível ao pensamento, ou à compreensão racional, como tão pequena quantidade de matéria permite a formação de tão grande número de genes com as diferenciações individuais que comandam as funções de cada um no condicionamento final da formação corporal, das manifestações da vida e da saúde ou de doença, isto é, da constituição do corpo de cada indivíduo e do equilíbrio funcional e adaptativo mais ou menos eficaz dos seus órgãos à instabilidade do meio em que vive.

Este condicionamento é exercido por intermédio de proteínas sintetizadas mediante a informação transmitida por cada gene ou genes afins, por intermédio de ácidos ribonucleicos, igualmente sintetizados, que seleccionam os ácidos aminados necessários para a formação adequada de péptidos e a sua associação para constituírem a estrutura (primária, secundária, terciária e quaternária) própria de cada proteína, seja esta destinada à constituição morfológica ou às funções orgânicas, até à quantidade e localização adequadas.

Sabe-se que só um número relativamente pequeno de genes são activos no genoma, mantendo-se

do-se inactivos (redundantes) temporária ou definitivamente muitos outros, que em parte devem ser genes que tiveram papel funcional noutras espécies e se foram acumulando por desnecessários ou substituídos por outros de capacidade funcional mais eficaz, e se tornaram responsáveis pela evolução das espécies conhecidas.

O material genético pode sofrer ao longo da vida, desde a concepção, desarranjos ao nível de um ou mais genes ou estruturas que os suportam nos cromossomas, quer por influência de anomalias de posição, fracturas, agentes tóxicos de origem externa, quer, provavelmente, por intervenção de outros genes até ali silenciosos, causando perturbações do tipo das chamadas malformações congénitas ou de doenças genéticas igualmente congénitas ou de expressão pós-natal.

São mais de 5000 as anomalias desta ordem já verificadas em seres humanos ou animais de experiência, na sua grande maioria extremamente difíceis de identificar, mas as grandes perturbações de origem genética nos seres humanos são individuais e raramente familiares e revestem as formas de malformações congénitas, de anomalias cromossómicas ou de erros de localização e actuação funcional de genes individuais.

Diversas formas patológicas na dependência de erros relacionados com genes estão sujeitas a transmissão de pais a filhos, que obedecem a regras ou leis biológicas definidas.

Sabe-se que o material genético tem alguma capacidade de autorreparação dos desarranjos na sua estrutura e das relações entre genes afins nas suas funções (estimulação, controlo, inibição).

O factor genético contém, pois, toda a informação escalonada para a formação dos novos indivíduos, o funcionamento do seu organismo, a adaptação ao meio ambiente e a própria duração da vida (a potencialidade de atingir um limite em anos se não houver perturbações estranhas que impeçam a sua acção). Dele dependem, consequentemente, as condições normais de saúde, e, como a investigação tem mostrado, as suas raras perturbações conhecidas, condicionando enfermidades e doenças mais ou menos graves, afectam negativamente a saúde e a duração da vida de cada indivíduo atingido desde a fase de gestação, ou posteriormente pela acção doutros factores.

— *Alimentação*. É o segundo factor prioritário a condicionar a saúde, porque desde a concep-

ção a após o nascimento, sem interrupção, o novo ser precisa de alimentação adequada para dispor da energia indispensável ao seu desenvolvimento corporal e funcionamento orgânico e psíquico e dos materiais de construção que formam as células, tecidos e órgãos e, igualmente, dos materiais de substituição ou reparação que vão sendo gastos ou inutilizados pelas actividades de funcionamento normal e lesões causadas por agentes nocivos de origem interna e do ambiente.

A alimentação pode afectar a saúde e ser causa de doença por quatro razões:

- insuficiência dos alimentos ingeridos ou a sua falta completa (inanição), levando a situação de carência global de nutrientes, causadoras de perturbações funcionais, de doença expressa ou de risco de morte, mais ou menos rápida;
- desequilíbrio nos nutrientes indispensáveis ao organismo, originando as chamadas doenças da nutrição por desequilíbrio metabólico;
- excesso de ingestão de energia ou de nutrientes como gorduras, hidratos de carbono e mesmo proteínas, que provocam as perturbações de nutrição por excesso;
- presença de agentes estranhos, como bactérias, tóxicos, cancerígenos, fungos, causadores de doenças específicas ou com acção indirecta sobre o material genético.

— *Ambiente*, que compreendendo todos os factores exteriores ao indivíduo: ar (atmosfera), solo, água, habitação, locais de trabalho e passatempo, clima, condições sanitárias, cria situações frequentes de contágio, poluição, intoxicações, acção de radiações e perturbações genéticas, ruído excessivo e acidentes. O ambiente salutar, favorável à saúde, permite que os indivíduos estabeleçam equilíbrio com as variações dos seus agentes naturais, e, pelo contrário, a degradação do ambiente na quase totalidade devida a acções nefastas das comunidades humanas origina as situações desfavoráveis que se traduzem por sofrimento, enfermidades e doenças causadoras dos desequilíbrios funcionais orgânicos.

— *Modo de vida*. Significando, aqui, o comportamento favorável ou prejudicial à saúde dos indivíduos na comunidade e as correspondentes contribuições dos grupos de indivíduos para

criarem, organizarem e manterem em harmonia com as suas comunidades instituições de serviços médicos e de cuidados de vigilância da saúde pública (família, escola, trabalho, condições sanitárias) com capacidade para promover a saúde, lutar contra a doença e fazer a avaliação da situação da saúde e da doença procura pôr em evidência o significado que se atribui à saúde e à doença para se poder avaliar da situação de saúde geral da população e das suas perturbações o pôr em evidência o grau das relações previsíveis entre os factores do binário saúde-doença, ao nível simultâneo dos indivíduos e suas comunidades.

- É preciso neste contexto de condições da vida corrente considerar a saúde algo de diferente da definição utópica dada pela OMS (situação de completo bem-estar, etc.) mas no sentido a que chamamos *saúde positiva*, isto é, da situação orgânica e psíquica de ausência de doença e de desnecessário acompanhamento de recursos médicos (cuidados gerais ou hospitalares), de consumo de medicamentos e de práticas de comportamentos considerados correctores em condições de doença.

O novo conceito de saúde positiva implica a avaliação da saúde em termos da vida corrente, pela vigilância dos indivíduos e o registo evolutivo da sua situação em termos de dados estatísticos, do que resulta as autoridades de saúde poderem estabelecer graus de saúde positiva, de acordo com a evolução do comportamento de cada indivíduo. Trata-se, porém, de assunto em estudo e ainda pouco avançado.

- Com a *saúde positiva* relaciona-se directamente a *saúde pública* (conjunto de formas organizadas pelo Estado, indivíduos e as comunidades para conhecer os estados de saúde-doença e efectuar as intervenções adequadas indispensáveis à promoção, protecção, vigilância continuada do estado de saúde na família, escola, trabalho, passatempos e nas intervenções da própria vida cultural), cabendo às autoridades de saúde escalonadas do nível nacional e regional ao concelho, em ligação com as entidades médicas clínicas e as autarquias relacionadas, as acções concretas de luta contra as doenças evitáveis e de promoção das condições de saúde positiva.

- A *doença* corresponde nas suas formas *inaparentes* a situações anormais que passam despercebidas aos portadores durante tempo mais ou menos longo, podendo mesmo nunca chegarem a manifestar-se e originarem risco de morte, ou tornarem-se *aparentes* com perturbações clínicas específicas, em que o recurso ao médico aparece como necessidade para o respectivo diagnóstico, tratamento e recuperação, ou seja, para curativamente tentar que os doentes melhorem e readquiram o maior grau de saúde positiva possível no meio em que vivem ou passam a viver.

## 2 — Dados estatísticos da mortalidade na População Portuguesa e sua evolução recente

A morte é o dado mais preciso de avaliação estatística da duração da vida dos indivíduos e das causas dos óbitos, porque se dispõe de um registo administrativo obrigatório e preciso no tempo da perda de vida de cada indivíduo, qualquer que seja o sexo e a idade. Pelo conhecimento da sua ocorrência e respectivas causas tiram-se conclusões importantes do estado de saúde e de doença da população a que dizem respeito, ainda que de forma indirecta por não corresponderem ao acompanhamento regular ao longo do tempo das variações do binário saúde-doença de cada indivíduo.

O índice de *mortalidade geral* (relação do número de mortes, em cada ano, por 1000 habitantes da população respectiva) e as suas variantes de padronização, etc., são geralmente acompanhadas da indicação do índice de *mortalidade infantil* (relação do número de crianças que morrem durante o primeiro ano de vida, por 1000 nascimentos vivos) e das variantes em tempo mais curto, como a *mortalidade perinatal e neonatal*, referentes à primeira semana e às quatro primeiras semanas de vida, respectivamente.

A população total do país, distribuída pelo Continente e Regiões Autónomas, foi calculada para o ano de 1990-1991 (censo de 1991) nos números seguintes em milhares:

	1990
Continente	9363,3
Açores	237,6
Madeira	253,1

quando em 1980, isto é, 10 anos antes, fora no Continente de 9291,5, nos Açores de 244,4 e na Madeira de 258,2. O que corresponde a pequeno acréscimo no Continente, e na Madeira e a diminuição que já vinha de trás nos Açores.

As três referências seguintes a índices de mortalidade (geral, infantil e por causas principais) mostram particularidades com algum significado interpretativo do estado de saúde-doença da população.

- O índice de *mortalidade geral* foi no Continente e na Madeira sensivelmente da mesma ordem e também sensivelmente inferior ao dos Açores (resultados preliminares):

	1990
Continente	(10,4)
Açores	(11,6)
Madeira	(10,1)

No Continente, entre 1980 e 1990, os valores foram de 9,6 em 1980 e 1985, tendo-se mantido anualmente abaixo de 10 óbitos por habitantes

- O índice de *mortalidade infantil* teve no Continente e nas suas variantes, entre 1980 e 1990, a seguinte evolução:

	1980	1985	1990
Geral	24,3	17,8	11,0
Perinatal	23,9	19,8	12,6
Neonatal	15,4	12,2	7,0

sendo em 1990, respectivamente, nos Açores: 11,0, 8,8 e 18,0; e na Madeira: 10,1, 4,9 e 9,8.

- As *causas principais de morte* em toda a população foram nos anos de 1985, 1990 e 1991, por 1000 óbitos de todas as idades e sexos:

	1985	1990	1991
Doenças cerebrovasculares	243,0	238,6	256,0
Tumores malignos	162,1	175,2	185,3
Doenças do coração	161,1	165,0	177,2
Sintomas, sinais e afecções mal definidas	111,9	118,1	115,9
Acidentes	50,8	43,6	47,6
Diabetes	18,0	24,9	30,5
Aterosclerose	21,5	25,0	28,0
Bronquite, enfisema, asma	28,6	26,7	27,3
Doença crônica do fígado e cirrose	31,1	23,1	27,0
Suicídios e homicídios	11,3	10,1	11,4
Doenças transmissíveis	8,5	9,1	10,8

— Os dados estatísticos da mortalidade sofreram grandes mudanças no período de 30 anos de 1960 a 1990, com diferenças mais acentuadas para as causas de morte no índice de mortalidade geral. E enquanto os valores deste se mantiveram anualmente praticamente estacionários, sem tendência para a baixa, o índice de mortalidade infantil e as suas variantes tiveram diminuição acentuada, da ordem de 80 % entre 1960 e 1990. Nos 10 anos que vão de 1980 a 1990, o valor do índice global de mortalidade infantil passou de cerca de 26,0 para 11,0.

O significado das variações das principais causas de morte, dentro do índice geral de mortalidade, é de fundamental importância para a análise das condições de saúde-doença, tendo-se verificado que entre 1980 e 1990 houve diminuição de cerca de 80 % ou superior dos óbitos por doenças infecciosas e parasitárias, sem que tenha diminuído o valor global da sua incidência sobretudo ao nível dos aparelhos respiratório e digestivo, enquanto aumentaram a mortalidade e a incidência global das doenças ou perturbações de alto risco cérebro-vasculares, e do coração, e, igualmente, dos tumores malignos e dos acidentes.

A diminuição da mortalidade por doenças contagiosas evitáveis verificou-se predominante-

mente na infância, e o aumento da mortalidade por doenças cardiovasculares e tumores, a partir da segunda metade da vida adulta.

Os acidentes começam a ocorrer desde o nascimento e atingem a maior gravidade na primeira metade da vida adulta com grande predomínio dos rodoviários, período em que estes constituem uma das causas mais importantes de mortalidade, ou seja, de mortalidade evitável.

A mortalidade infantil tem baixado de forma acentuada, e que traduz melhoria das condições gerais de saúde e de eficácia de tratamento das afecções predominantes nos primeiros meses de vida, mas a sua influência no índice de mortalidade geral da população é reduzida.

— Esperança de vida e mortalidade prematura.

Calculadas a partir de dados da mortalidade, desde o nascimento ou de anos posteriores, são traduzidas, respectivamente, em número de anos de vida provável de cada indivíduo (no total e por sexos), e de anos perdidos em relação à média da duração de vida, expressa pelo valor da esperança de vida correspondente.

- Para a *esperança de vida*, têm sido calculados os valores anuais que os indivíduos da população tiveram a probabilidade

de viver a partir do nascimento (ou de anos posteriores), entre 1980 e 1990:

	1980	1985	1990
Média (anos de vida)	72,9	73,5	74,2
Homens	69,1	70,1	70,1
Mulheres	76,7	76,9	77,6

o que dá para a mulher uma longevidade média de cerca de 7 anos superior à do homem.

- Para a *mortalidade prematura*, é calculado o número de anos de vida potenciais perdidos, relativamente à esperança de vida, expressos em taxas por 100 000 habitantes de 0-69 anos. Entre os anos de 1976 e 1986 e para as quatro causas de morte mais exemplificativas: doenças transmissíveis, doenças do aparelho circulatório, tumores malignos e acidentes, foram registados os seguintes valores total e por sexos:

	1976	1981	1986
<b>Doenças transmissíveis</b>			
Total	874	368	181
Homens	1047	419	244
Mulheres	712	318	121
<b>Doenças do aparelho circulatório</b>			
Total	1391	1070	879
Homens	1775	1384	1179
Mulheres	1030	768	590
<b>Tumores malignos</b>			
Total	1188	1096	1072
Homens	1266	1212	1175
Mulheres	1115	984	974
<b>Acidentes</b>			
Total	1901	1714	1172
Por veículos com motor	1096	1073	685

Os acidentes por veículos com motor (acidentes de viação) tiveram entre 1985 e 1990 os

seguintes resultados entre feridos e mortos, registados anualmente:

Anos	Acidentes	Feridos	Mortes imediatas	Óbitos
1985	55 798	56 330	1939	2556
1986	61 979	42 895	2036	2468
1987	84 198	41 333	2341	2689
1988	93 417	60 841	2561	2824
1989	100 473	62 868	2409	2795
1990	108 309	65 011	2451	2784

Em termos de mortalidade prematura, os tumores malignos e os acidentes aparecem como as causas de mortalidade evitável mais salientes, seguidas das doenças do aparelho circulatório, com valores muito mais baixos para as doenças transmissíveis, que decresceram progressivamente desde a década de 70.

A mortalidade por acidentes de viação (ou de tráfego) tem aumentado acentuadamente nos anos citados entre 1985 e 1990, embora com oscilações indicativas de causas evitáveis.

- Os dados da mortalidade geral, da mortalidade infantil e das causas que apresentam maiores riscos de mortalidade na População Portuguesa são no presente indicativos de um estado geral de saúde com tendência para melhorar ligeiramente ou estacionar no primeiro ano de vida e para piorar em relação às doenças da idade adulta e velhice.

O alongamento da vida, traduzido estatisticamente pelo aumento da duração média (valor em anos atingido por 50 % da população) e da esperança de vida ao nascimento, continua em aumento anual, mas progressivamente mais reduzido. Ao mesmo tempo verifica-se em toda a população rural ou urbana, rica ou pobre, aumento de procura de meios de diagnóstico e de terapêutica para a doença, de maior facilidade

de consultas médicas, maior consumo de medicamentos e de recurso a serviços de emergência médica e de internamento hospitalar — tudo indicativo de estado de saúde instável com predomínio de queixas e de risco de morte nos primeiros tempos de vida e ao longo da idade adulta e da velhice.

As relações dos estados de doença (morbilidade) com os dados da mortalidade postos em evidência anteriormente constituem a base da avaliação das variações do binário saúde-doença em cada indivíduo e do nível geral de saúde no conjunto da população.

### 3 — Dados estatísticos da morbilidade da População Portuguesa

Enquanto é obrigatório o registo dos casos de morte dos indivíduos e das respectivas causas, como se referiu, o registo de casos de doença só é obrigatório para algumas doenças especificadas na lei, e que são contagiosas (transmissíveis), mas esta declaração (notificação pelos médicos às autoridades de saúde) está longe de ser precisa e segura.

— *Doenças de notificação obrigatória.* Nos casos de 1980 a 1990 foram registados os

seguintes casos de doenças de declaração obrigatória:

1990	Total de casos
1980	4 484
1985	5 540
1986	7 679
1987	15 002
1988	12 361
1989	24 049
1990	7 867

os maiores valores corresponderam a surtos de algumas doenças, particularmente de sarampo.

- Nos anos de 1989 e 1990 foram registados, por tipos de doença, os seguintes casos:

	1989	1990
Febre tifóide e parafóide	630	414
Brucelose	1 576	1 108
Tosse convulsa	274	101
Escarlatina	487	225
Meningite meningocócica	266	205
Sarampo	11 791	407
Rubéola	2 305	239
Hepatite por vírus «A»	1 029	805
Hepatite por vírus «B»	460	480
Hepatite por vírus não especificados	633	477
Parotidite epidémica	2 389	1 264
Febre escaro-nodular	1 063	1 094
Sezonismo	160	129
Sífilis precoce sintomática	154	125
Sífilis precoce latente	74	58
Infecções gonocócicas	260	257
Outras	438	442

- *Tuberculose*, incidência anual de 1980 a 1990:

Anos	Total de casos novos
1980	6873
1985	6889
1986	6418
1987	7099
1988	6280
1989	6305
1990	5894

- *Sida*, número de casos por ano de diagnóstico e de notificação e por sexos, entre 1983 e 1990:

Anos	Diagnóstico	Notificação	Homens	Mulheres
1983	1	—	—	—
1984	2	—	2	—
1985	27	18	26	1
1986	30	28	28	2
1987	61	45	50	11
1988	99	109	90	9
1989	160	151	134	26
1990	162	222	144	18
<b>Total</b>	<b>573</b>	<b>573</b>	<b>502</b>	<b>71</b>

— Mais exemplificativa da situação da doença na população é a conclusão que se pode tirar dos dados do «Inquérito Nacional de Saúde na Região de Lisboa e Vale do Tejo, 1989-1990», efectuado num total de 10 551 indivíduos, sendo 5019 homens e 5532 mulheres, distribuídos por sexos e idades (DEPS, 1990).

- População que referiu ter estado doente ou sentir-se mal nas duas semanas anteriores à inquirição:

<b>Total</b>	31,6 %
Homens	27,0 %
Mulheres	35,7 %

Desta população, deixaram de fazer as suas tarefas habituais, por motivos de falta de saúde:

<b>Total</b>	10,3 %
Homens	9,0 %
Mulheres	11,6 %

com a correspondente perda de número médio de dias de trabalho:

<b>Total</b>	7,8 dias
Homens	8,0 dias
Mulheres	7,6 dias

A percentagem por grupo etário das pessoas que referiram ter deixado de fazer as tarefas habituais por se sentirem mal, foi de:

0-4 anos — 8,9 %; 5-14 anos — 6,7 %; 15-24 anos — 5,1 %; 25-44 anos — 8,2 %; 45-64 anos — 13,2 %; 65-74 anos — 17,2 %; 75 e mais anos — 22,1 %, com a correspondente perda de número médio de dias: 0-4 anos — 5,9 %; 5-14 anos — 4,6 %; 15-24 anos — 5,4 %; 25-44 anos — 6,8 %; 45-64 anos 8,2 %; 65-74 anos — 9,5 %; 75 e mais anos — 10,9 %.

A população que referiu ter estado doente ou ter-se sentido mal, foi em percentagem por grupo etário:

0-4 anos — 24,2 %; 5-14 anos — 17,2 %; 15-24 anos — 16,3 %; 25-44 anos — 25,6 %; 45-64 anos — 44,1 %; 65-74 anos — 51,6 %; 75 e mais anos — 57,1 %.

As quatro causas de alteração da saúde referidas com mais frequência pela população inquirida foram em percentagem desta:

Doenças do aparelho respiratório	21,0 %
Doenças do sistema osteoarticular	20,7 %
Doenças do aparelho circulatório	11,8 %
Doenças do aparelho digestivo	9,2 %

A população com mais de 45 anos foi a que referiu mais frequentemente queixas do aparelho circulatório e do sistema osteoarticular, nas percentagens respectivas de 88,0 % e de 79,7 %.

As alterações do estado de saúde que na data da inquirição tinham duração superior a três meses, referiam-se ao sistema osteoarticular e tecido conjuntivo, 28,4 %, e ao aparelho circulatório, 16,7 %.

Seguiam-se os sintomas, afecções e sinais mal definidos, 14,0 %; doenças do aparelho respiratório, 8,8 %; doenças do aparelho digestivo, 8,7 %; doenças do sistema nervoso e órgãos dos sentidos, 5,9 %; doenças da nutrição, metabolismo e sistema imunitário, 4,5 %; doenças do aparelho génito-urinário, 3,5 %; transtornos mentais, 2,6 %; traumatismos e envenenamentos, 2,1 %; doenças da pele e do tecido celular subcutâneo, 1,2 %.

— Cálculos estatísticos gerais, independentemente de inquéritos sistematizados, dão a imagem aproximada do estado de saúde da População Portuguesa no presente:

- 800 000 pessoas com reumatismo, mais 100 000 com espondilose anquilosante;
- 600 000 indivíduos incapacitados pelo álcool;
- 500 000 diabéticos;

- 114 000 deficientes físicos ou incapacitados por desastres de viação;
- 60 000 deficientes por desastres no trabalho;
- 11 900 incapacitados por acidentes domésticos, do desporto e militares;

o que totaliza mais de dois milhões de pessoas. Juntam-se-lhes os portadores de doenças crónicas: cancro, coração e vasos, fígado, estômago e duodeno, cólon, rim, pele e as enfermidades mentais (crianças deficientes, sobretudo) e os cegos, estes calculados em 20 000.

No total, entre 40 e 45 % da população tem perturbações da saúde permanentes ou com tratamento demorado, que são as mais significativas na avaliação do estado de saúde positiva.

Acrescente-se que a doença de maior prevalência na população (número de casos existentes por 100, ou mais, habitantes) é a cárie dentária. Dados seguros indicam que nas crianças das escolas a prevalência atinge já 80 %, e com outras perturbações dentárias relacionadas toda a população, em várias regiões do País, sofre de cárie dentária posteriormente. Dois factores condicionam a incidência e a prevalência da cárie dentária: o baixo teor de flúor na água de bebida (inferior a 0,5-1 mg, por litro) e a falta de cuidados higiénicos ao nível da boca, geralmente acompanhados de consumo de guloseimas. Não é feito registo de casos.

- O fumo do tabaco aparece, simultaneamente, como causa de doença prolongada e como causa de morte, sem que se conheça com segurança o número de casos por que é responsável. Calcula-se, no que respeita à mortalidade, que cerca de 11 % do número total de óbitos são provocados por doenças derivadas dos efeitos do tabaco, isto é, 30 óbitos evitáveis por dia, com a correspondente morbilidade ao longo do curso de cada uma das doenças originadas, na População Portuguesa. Estatisticamente, 4000 casos são imputáveis a tumores malignos do pulmão, boca, língua, orofaringe, laringe, esófago, intestino e estômago, bexiga, rim, pâncreas, e ainda de outras partes do corpo. 4800-5000 casos são atribuíveis a doenças cardiovasculares e acidentes vasculares cerebrais. 1300-1500 casos são de bronquite crónica e enfisema pulmonar.

— Pelos comentários feitos a propósito das causas de morte e suas oscilações e dos dados da morbilidade acabados de referir, conclui-se que o estado de saúde da População Portuguesa pode ser muito melhorado, progressivamente, pela diminuição das doenças evitáveis, da mortalidade prematura e promoção do alongamento da vida em condições favoráveis do ambiente, do comportamento e do modo de vida, isto é, do aperfeiçoamento dos meios de promoção da saúde positiva.

No presente, verifica-se melhoria da saúde apenas em aspectos muito limitados de alguns factores condicionantes, mas o facto das pessoas apresentarem mais queixas, recorrerem cada vez mais ao médico e ao internamento hospitalar, consumirem mais medicamentos e pensarem mais na doença, com a qual fazem despesas crescentes, do que na melhoria natural da saúde como situação ao alcance de toda a população, significa que a doença com as suas implicações está em aumento e a saúde em diminuição. A nossa saúde, na realidade, está a piorar.

#### 4 — Estrutura e funcionamento dos Serviços de Saúde Portugueses

Com a grande Reforma dos Serviços de Saúde Portugueses, de 1971, em que foram reorganizadas as estruturas médicas e de saúde pública e criadas as carreiras profissionais de saúde, Portugal passou a ter três grupos de serviços de apoio à população:

— *Sistema de Saúde Pública*, da responsabilidade de autoridades de saúde pública com funções de intervenção na promoção, protecção e vigilância da saúde individual e da colectividade. Localizadas na sede do distrito (centros de saúde distritais, dirigidos por directores de saúde), na sede do concelho (centros de saúde concelhios, dirigidos por delegados de saúde) e em grupos de freguesias (dirigidos por subdelegados de saúde), às autoridades de saúde competem as intervenções de índole sanitária contra a poluição, as intoxicações, os riscos de perturbações de saúde dos dejectos urbanos, industriais, transportes, etc.

Os centros de saúde são os órgãos de execução das actividades de saúde pública, em ligação com as municipalidades e outras entidades públicas e privadas responsáveis, e, ainda,

com o sistema seguinte de medicina clínica. As suas diversas valências, ou núcleos de trabalho, actuam coordenadamente sob a direcção da autoridade de saúde, com o apoio da enfermagem domiciliária, dos técnicos auxiliares de saúde, dos laboratórios de saúde pública e dos núcleos de estatística sanitária de informática.

Calcula-se que são necessários centros de saúde distritais, em número correspondente à população da sede, de 1 para 50 000 habitantes; centros de saúde concelhios em todas as sedes e mais 1 para 30 000 habitantes; e postos de saúde na dependência directa do centro concelhio, em número de 1 por 2500 habitantes, por grupos de freguesias contíguas;

— *Sistema de Medicina Clínica*, englobando os médicos de clínica geral e especialistas, hospitais centrais, gerais e de especialidades, em ligação com os hospitais concelhios. Os hospitais centrais estão localizados em Lisboa, Porto e Coimbra e constituem a cúpula do sistema. Os hospitais gerais são hospitais distritais de carácter regional e é com eles que se estabelecem os contactos funcionais com os pequenos hospitais concelhios, para apoio de diagnóstico clínico e laboratorial, terapêutica e recuperação;

— *Serviços de Ensino, Estudo e Investigação*. As Universidades, pelas Faculdades de Medicina e equivalentes, Faculdades de Farmácia e Cursos Especializados, têm papel preponderante na formação de técnicos especializados e na investigação dentro das suas áreas de actividade; dispõem, ainda, de Escolas Superiores para a formação do pessoal de enfermagem. Outro pessoal de saúde é preparado em cursos técnicos próprios.

A instituição fundamental do País, preparada para as tarefas de estudo e investigação nos domínios da saúde — em particular da Saúde pública —, é o Instituto Nacional de Saúde, com a sede em Lisboa e Delegação no Porto, que pelos seus laboratórios e Centros de Estudo individualizados tem as atribuições de analisar a situação da saúde-doença e de avaliar e propor os meios convenientes da sua melhoria

**5 — A perspectiva da evolução da Saúde e da Doença na População Portuguesa.** Poderá Portugal tornar-se pioneiro na prática da melhoria da saúde, erradicação de doenças evitáveis e alongamento da duração média da vida?

— Pelas medidas de saúde pública coordenadas pelas autoridades de saúde ao nível do

respectivo sistema, a melhoria da saúde individual e colectiva está ao alcance da População Portuguesa promovendo as intervenções concretas de luta contra a poluição e as deficiências sanitárias, contra o álcool, o tabaco e os acidentes e contra a degradação moral e social da prostituição, do sexualismo e da droga, que ao nível da família começam pela libertinagem;

— A luta contra as doenças evitáveis precisa de ser orientada para a erradicação das infecto-contagiosas, de que se disponha de vacinas eficazes ou de meios de terapêutica radicais e de prevenção do contágio, da transmissão e riscos.

Outro grande grupo de doenças evitáveis é representado pelas perturbações alimentares (carências, desequilíbrios, excessos), em que a prevenção depende de hábitos salutarres de vida e educação desde o nascimento, ao nível da família, na escola e no trabalho. Todas estas intervenções estão ao alcance da nossa população.

— O alongamento da duração média da vida e o conseguir-se maior longevidade com saúde são factores que estão certamente ao alcance da População Portuguesa na dependência da capacidade biológica do material genético e das práticas da melhoria da saúde dos indivíduos. Mas o problema da duração máxima que poderá atingir a vida humana continua a ser um enigma e motivo de lendas e conjecturas. As primeiras descrições lendárias foram encontradas nos pequenos tijolos suterrados da capital da Suméria e cidades próximas, escritas em sinais primitivos cuneiformes (primeiras letras) há mais de 6000 anos, e referem a luta do rei Gilgamesh contra a morte, o qual teria vivido muitas centenas de anos e possuído temporariamente a planta da imortalidade. Na descrição bíblica da criação de Adão e Eva, aparecem antes do dilúvio, que terá ocorrido há cerca de 6000 anos, durações de vida lendárias de Adão, 830 anos, Seth e Caim, 912 e 910 anos, até Noé, 950 anos, e este ultrapassado por Matusalém, 969 anos. Depois do dilúvio, o mais idoso dos homens teria sido, com 600 anos, Shem, seguido doutros até aos patriarcas de tempos mais históricos de Israel. Destes, há referência a Abraão, com 175 anos, Isac, com 180 anos, e Jacob, com 147 anos, valores aceitáveis, ou mesmo verídicos, tendo em conta as condições salutarres da vida nessa época.

• No presente, duas ordens de factos nos levam a considerar o problema do alonga-

mento da vida em termos de esperança ou de previsão possível de grande aumento da sua duração média.

Um primeiro conjunto de dados informativos está relacionado com o aumento progressivo desde o começo do século, em que a duração média da vida num país evoluído sanitariamente como os EUA passou de 49 anos, em 1900, para cerca de 80 anos, em 1990. E tendo em conta que diversas causas de morte da população actual virão a ser diminuídas progressivamente, incluindo algumas doenças no presente consideradas incuráveis e os efeitos acumulados até à 3.ª idade por medidas insuficientes de saúde pública, é de prever que se atinjam os 100 anos de vida acumuladas até à velhice. E dos 100 anos poderia geneticamente chegar-se no futuro ao dobro da média actual de 80 anos, isto é, à so brevivência de 160 anos.

- Um segundo conjunto de dados leva a crer que no homem pode passar-se o mesmo que nos animais superiores, em que a duração média da vida é cerca de 8-10 vezes maior do que o seu período de desenvolvimento até à idade adulta. Teríamos, assim, para os 18 anos, ou 20, de infância e juventude humana, a média hipotética de 160 anos de longevidade, quando as condições de saúde forem suficientemente favoráveis.

— Portugal dispõe de conhecimentos e de meios de intervenção para se tornar pioneiro no Mundo da melhoria da saúde da sua população, como exemplo a ser seguido. Precisa, porém, de fazer funcionar os seus serviços coordenadamente com eficácia.

## 6 — O papel das Organizações Internacionais de Saúde (OMS, CEE)

### Avaliação do custo dos cuidados de saúde na População Portuguesa

Sobre melhoria da saúde e luta contra a doença temos dito que Portugal não pode esperar nada de útil da OMS, nem da CEE, porque a preocupação destas instituições assenta apenas no estudo da doença, e não nas intervenções de saúde pública.

— A incapacidade da OMS para ajudar os países membros a organizarem sistemas de

cuidados de saúde completos está a ser substituída pela recomendação de utilizar os chamados médicos clínicos gerais/médicos de família nas ligações da prática clínica corrente com os serviços hospitalares, e não com a vigilância da saúde. Por sua vez, a CEE procura investigar problemas da doença clínica e não da saúde.

— As despesas com a saúde nos países da CEE foram avaliadas no ano de 1990 (OCDE) em termos de percentagem do PIB (Produto Interno Bruto) de cada um dos países:

País	Despesas totais	Despesas públicas
Grécia	5,3	4,0
Dinamarca	6,2	5,2
Reino Unido	6,2	5,2
Espanha	6,6	5,2
Portugal	6,7	4,1
Irlanda	7,1	5,8
Luxemburgo	7,2	6,5
Bélgica	7,4	6,1
Itália	7,7	5,9
Holanda	8,0	5,8
Alemanha	8,1	5,9
França	8,9	6,6

As estimativas para Portugal, segundo o DEPS, subestimam o montante das despesas públicas com a saúde, calculando-se que em 1990 tenham sido de 5 % do PIB ou ligeiramente superiores, e as despesas totais da ordem de 8,0 %, uma vez que as despesas privadas calculadas pela OCDE em 2,6 % foram bastante superiores.

Pelos valores da OCDE, Portugal terá gasto com a saúde, em termos de % do PIB, mais do que a Grécia, a Dinamarca, o Reino Unido e a Espanha, e em termos reais só terá ficado abaixo da Alemanha e da França.

A preços correntes as despesas orçamentadas para a saúde em Portugal passaram de 43 916,9 contos, em 1880, para 353 489,0 con-

tos, em 1990. Em 1990, couberam deste total 45,4 % aos hospitais; aos cuidados primários de saúde 46,6 %; à psiquiatria 3,3 %; à saúde pública cerca de 4 %.

As despesas com medicamentos foram em 1990 e 1991, respectivamente, de 156 635 e 193 005 milhares de contos, dos quais 61,3 e 76,8 % couberam ao Estado. O aumento em todo o mundo das chamadas «despesas com a saúde», quando se trata de «despesas com a doença», só poderá ter correcção com a redução progressiva desta, ou seja, com a melhoria acentuada da saúde ao longo da vida. As medidas de saúde, de equidade de promoção e vigilância são o grande factor condicionador.

COELHO, ALOÍSIO — O Novo Programa de Investigação Biomédica e de Saúde da CEE. (BIOMED I, 1990-1994). *Acta Médica*, Vol. 5, n.º 2, 1992.

OMS (WHO) — Public Health in the Year 2000. Copenhagen, 1992.

## BIBLIOGRAFIA

GONÇALVES FERREIRA, F. A. — Política de Saúde e Serviço Nacional de Saúde em Portugal. Lisboa, *Biblioteca Ciência, Progresso, Cultura*, 1975.

A Saúde em Portugal na Segunda Era da Saúde Pública. Lisboa, *Arquivos do Instituto Nacional de Saúde*, Vol. 9-10, 1984-1985.

Nutrição Humana, Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1989.

Sistemas de Saúde e seu Funcionamento, Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1989.

História da Saúde e dos Serviços de Saúde em Portugal. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1989.

INE — *Estatísticas Demográficas e de Saúde*, Lisboa.

DEPS — *Saúde: dados estatísticos*, Lisboa, 1980-1990.

Inquérito Nacional de Saúde, Lisboa, Região de Lisboa e Vale do Tejo, 1989-1990.

DGCSP — *Direcção Geral dos Cuidados de Saúde Primários*, Saúde em números, Lisboa, Vol. 1/4, 1986-1989.

WALDORF, Roy L. — *Maximum Life Span*, Toronto, 1983.

CAYOLLA DA MOTTA, L. e SEQUEIRA, M. L. — *Mortes Prematuras em Portugal por Causas Principais*, Lisboa, *DEPS*, 1971, 1983, 1985.

CASTANHEIRA, J. L. — *Anos de Vida Potenciais Perdidos (Evolução, 1976-1986)*, *Saúde em Números*, Vol. 4, n.º 2, 1989.

SILVEIRA BOTELHO, J.; ALEIXO DIAS, J. A. e CAYOLLA DA MOTTA, L. — *Atlas da mortalidade evitável em Portugal, 1980-1989*, Lisboa, *DEPS, DGCSP e ENSP*, 1990.

CORREIA DE CAMPOS, A. — *Avaliação económica de programas de saúde*, *ENSP*, 1986.  
Estado-Providência, Perspectivas e Funcionamento. O Caso da Saúde, *ENSP*, 1990.

MESQUITA MORAIS, J. — *Racionamento de Recursos de Saúde e Gratuidade na Prestação de Cuidados*, *O Médico*, Porto, n.º 1894, 1988.



## Homenagem ao Professor Francisco António Gonçalves Ferreira \*

*Aloísio M. Coelho \*\**

É, para mim, motivo de grande satisfação o facto de, na qualidade de Director do Instituto, ter a oportunidade de dar realização a mais um Dia do INSA, que, este ano, embora organizado segundo o modelo habitual, apresenta algumas características que lhe conferem uma tonalidade especial. A começar pelo Conferente. Com efeito, o nosso conferente de hoje é o Professor Francisco Gonçalves Ferreira, antigo Director do Instituto, a quem dirijo os meus cumprimentos de muita estima e admiração. Acontece que a ideia da criação dos Dias do INSA correspondeu a uma iniciativa sua, decidida há precisamente dez anos; e que se cumprem também este mês dez anos, desde que o Professor Gonçalves Ferreira passou ao regime de aposentação, por ter atingido o limite de idade.

Em face deste duplo aniversário, pareceu-nos que o Dia do INSA deste ano seria o momento apropriado para lhe prestar a homenagem de que há muito tempo é credor, por parte do Instituto que, na sua configuração actual, por inteiro lhe deve a existência. Todos — ou, pelo menos, muitos dos presentes — sabem que o Professor Gonçalves Ferreira é extremamente avesso a quaisquer manifestações públicas de apreço. Por isso lhe peço a sua indulgência para esta pequena, embora bem intencionada, «traição» que hoje cometemos.

A personalidade do Professor Gonçalves Ferreira e as importantes contribuições que tem dado ao

País, ao longo de mais de meio século de vida cheia e intensa, inteiramente dedicada ao serviço público, são bem conhecidas e asseguram-lhe um lugar cimeiro na história da Saúde em Portugal. A sua obra, que é vasta e profunda, encontra-se minuciosamente descrita na nota biográfica sobre os Directores do Instituto no período de 1899 a 1981, da autoria do Dr. João Reis, que foi publicada no Volume VI dos Arquivos do Instituto Nacional de Saúde. Dispensamo-me, por isso, de a comentar aqui em pormenor, o que iria, certamente, ocupar muito tempo. Assinalarei, no entanto, de forma sucinta, alguns dos aspectos fundamentais dessa obra, referindo-me, em particular, a três áreas principais:

- 1) Ciências da Nutrição e Alimentação
- 2) Política de Saúde / Organização e Administração de Serviços de Saúde
- 3) Ensino

Foi na área da Nutrição que o Professor Gonçalves Ferreira iniciou a sua actividade científica e de investigação, na Universidade de Coimbra, no já longínquo ano de 1938. Tendo começado por estudar assuntos relacionados com as vitaminas e os ácidos aminados, viria, ulteriormente, a debruçar-se sobre muitos outros aspectos, designadamente, do âmbito da Nutrição em Saúde Pública e dos problemas da alimentação dos portugueses. As dezenas de trabalhos que publicou sobre estas matérias, ao longo de mais de quatro décadas — uns de carácter propriamente científico, outros de carácter doutrinário — e que culminaram com a publicação de um Tratado de Nutrição, já na década de 80, grangearam-lhe a merecida e indiscutível reputação de primeira autoridade nacional naquele domínio. De todos estes trabalhos,

\* Palavras proferidas na sessão inaugural do «Dia do INSA, 1992».

\*\* Director do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA).

permito-me salientar dois, pela sua extrema relevância para o País: a «Tabela da Composição dos Alimentos Portugueses», elaborada com a colaboração de uma distinta Técnica do Instituto, também já aposentada — a Dra. Maria Ernestina da Silva Graça —, obra que constitui um monumento de trabalho e que viria a revelar-se instrumento indispensável para várias gerações de práticos e estudiosos; e o «Inquérito Alimentar Nacional», o primeiro realizado no País à escala do Continente, no início da década de 80, que veio a fornecer um conjunto de informações precisas sobre a forma como os portugueses se alimentam nas várias regiões, representando, conseqüentemente, uma base para a tomada de decisões, relativamente à correcção das carências e erros detectados. Este Inquérito constitui um empreendimento intersectorial de grande vulto, que não mais voltou a repetir-se até hoje, embora haja todo o interesse em que tal volte a acontecer.

Como político da Saúde, o Professor Gonçalves Ferreira teve também um papel primordial, quer em termos doutrinários, quer em termos de intervenção. Desde a década de 50, nos habituámos a ler os seus trabalhos sobre política e administração de saúde, cheios de autoridade e perspectivas originais, relativamente à situação portuguesa. Também neste domínio se afirmou como profundo conhecedor dos assuntos e o prestígio que alcançou levou a que lhe fosse possibilitada uma experiência legislativa de grande fôlego, que veio a culminar na publicação dos Decretos-Lei 413 e 414/71, que estabeleceram uma inovadora reforma dos serviços de saúde e que ficaram a constituir um marco histórico na evolução da Saúde Pública em Portugal. A dimensão da obra legislativa realizada durante a sua curta permanência, de cerca de um ano, à frente da Secretaria de Estado da Saúde, pode avaliar-se pelo número de diplomas publicados: 2 leis, 38 decretos-lei, 10 decretos simples, 66 portarias e numerosos despachos normativos. Tudo isto constituindo um conjunto de disposições coerentes, que viria a ser considerado como uma das legislações de saúde mais progressivas existentes à data no contexto europeu. A este propósito, não pode esquecer-se, também, a sua experiência africana, que se repartiu por dois períodos distintos, passados em Moçambique — cerca de ano e meio em 1968-69 e mais quatro meses em 1974. No primeiro destes dois períodos, actuou como Secretário Provincial de Saúde, Trabalho, Assistência e Previdência, tendo levado a cabo um notável programa de promoção e extensão da

rede dos serviços de saúde, que, entre muitas outras realizações, se traduziu na criação de duas escolas de enfermagem e de vários cursos de auxiliares sanitários (num total de 200 destes técnicos); numa acção de vacinação maciça pelo BCG, que abrangeu mais de 3 milhões de crianças entre os 2 e os 16 anos; no reforço efectivo da luta contra as grandes endemias, tendo-se conseguido a confirmação da erradicação da varíola e das boubas; na organização de centros de saúde e na reorganização de hospitais. No segundo daqueles dois períodos elaborou um projecto de legislação que viria a servir de base ao Serviço Nacional de Saúde criado a seguir à independência do País.

No que se refere ao Ensino, também o Professor Gonçalves Ferreira deu contribuições numerosas e valiosas ao País. Com o apoio entusiástico de outra grande figura da Saúde Pública, o Professor Arnaldo Sampaio, que foi seu companheiro de várias lutas, renovou e reanimou o ensino da Saúde Pública, que, depois da morte de Ricardo Jorge, em 1939, se tinha vindo progressivamente a degradar. A ele se deve a criação da Escola Nacional de Saúde Pública, que, até ser autonomizada, em 1976, constituiu o departamento de ensino do Instituto Nacional de Saúde. Teve também um papel de grande relevo no desenvolvimento do ensino médico de pré-graduação, tendo contribuído, para o efeito, com a elaboração de estudos vários e de programas inovadores da maior valia. Além disso, como membro da Comissão Instaladora da Universidade Nova de Lisboa, desempenhou uma acção fulcral na criação da nova Faculdade de Ciências Médicas daquela Universidade, tendo conseguido o feito de fazer incluir o ensino da Saúde Pública ao longo de todos os anos de curso de Medicina. Mas a acção do Professor Gonçalves Ferreira no domínio do ensino não se limitou ao ensino médico. Além da promoção de numerosos cursos para variados tipos de técnicos de saúde, esteve também na base da criação dos primeiros cursos de dietistas efectuados no País e, ainda, do Curso de Nutricionismo — hoje cha-mado de Ciências da Nutrição — da Universidade do Porto, que veio preencher uma grave lacuna existente no País. Neste capítulo do Ensino, não poderá deixar de mencionar-se ainda uma das suas contribuições mais relevantes: o seu monumental tratado «Moderna Saúde Pública», obra pioneira e única no País, que, desde há cerca de vinte anos, tem assegurado a formação de sucessivas gerações de estudantes de pré e pós-graduação.

Finalmente — e deixando agora de lado muitas outras realizações que ornaram o seu currículo — mencionarei apenas, para terminar, algo do seu papel relativamente ao Instituto, que serviu dedicadamente durante cerca de 30 anos — 2 como Médico Nutricionista, 13 como Director da Delegação do Instituto no Porto, e 14 como Director da Sede do Instituto em Lisboa. Pode consubstanciar-se a importância deste papel em dois momentos determinantes da vida da instituição: a criação da Delegação no Porto, em 1954; e a reestruturação geral do Instituto, em 1971. A criação da Delegação no Porto foi obra que realizou com inultrapassável desvelo e competência e que ainda hoje, passado um quarto de século sobre o seu regresso a Lisboa, continua a viver sob o influxo que a sua forte marca lhe imprimiu.

Sobre a reestruturação do Instituto não me alongarei. Apenas direi que o Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA), tal como hoje existe — desde as instalações à estrutura orgânica, passando pelas suas finalidades, objectivos, atribuições e competências — se deve ao Professor Gonçalves Ferreira, que, graças à largueza das suas concepções, o projectou nos já longínquos anos de 1954-55. Na verdade, pode dizer-se que praticamente tudo aquilo que é hoje o Instituto se encontra no famoso relatório por ele elaborado nessa data e que levou perto de vinte anos a concretizar-se. Só graças à sua perseverança e ao seu firme empenhamento é que foi possível dar ao Instituto as instalações condignas que hoje possui; e só graças à reformulação operada pela legislação que publicou em 1971 é que o então Instituto Superior de Higiene, após setenta anos de existência como simples dependência da antiga Direcção-Geral de Saúde, destinada à realização de análises de rotina e de apoio, pôde adquirir a feição moderna de Instituto Nacional de Saúde, que hoje o caracteriza, como órgão central do Ministério da Saúde, responsável pelo estudo e investigação dos problemas da Saúde do País, passando a enfileirar, por direito próprio, ao lado dos organismos congéneres espalhados por variados países dos continentes europeu e americano.

A total reformulação do Instituto, que veio condicionar-lhe o desenvolvimento de novas potencialidades, permitiu ao Professor Gonçalves Ferreira criar diversos Centros de Estudo e Investigação, alguns dos quais vieram a alcançar grande prestígio, a nível nacional e internacional. Citarei apenas, a título de exemplo, o Centro de Estudos de Nutrição, que dirigiu até à sua

aposentação e ao qual esteve de algum modo ligada a criação, em que teve também papel preponderante, do Conselho Nacional da Alimentação e Nutrição, órgão interministerial de consulta do Governo, que funciona junto do Centro e que é presidido, por inerência, pelo Director do Instituto.

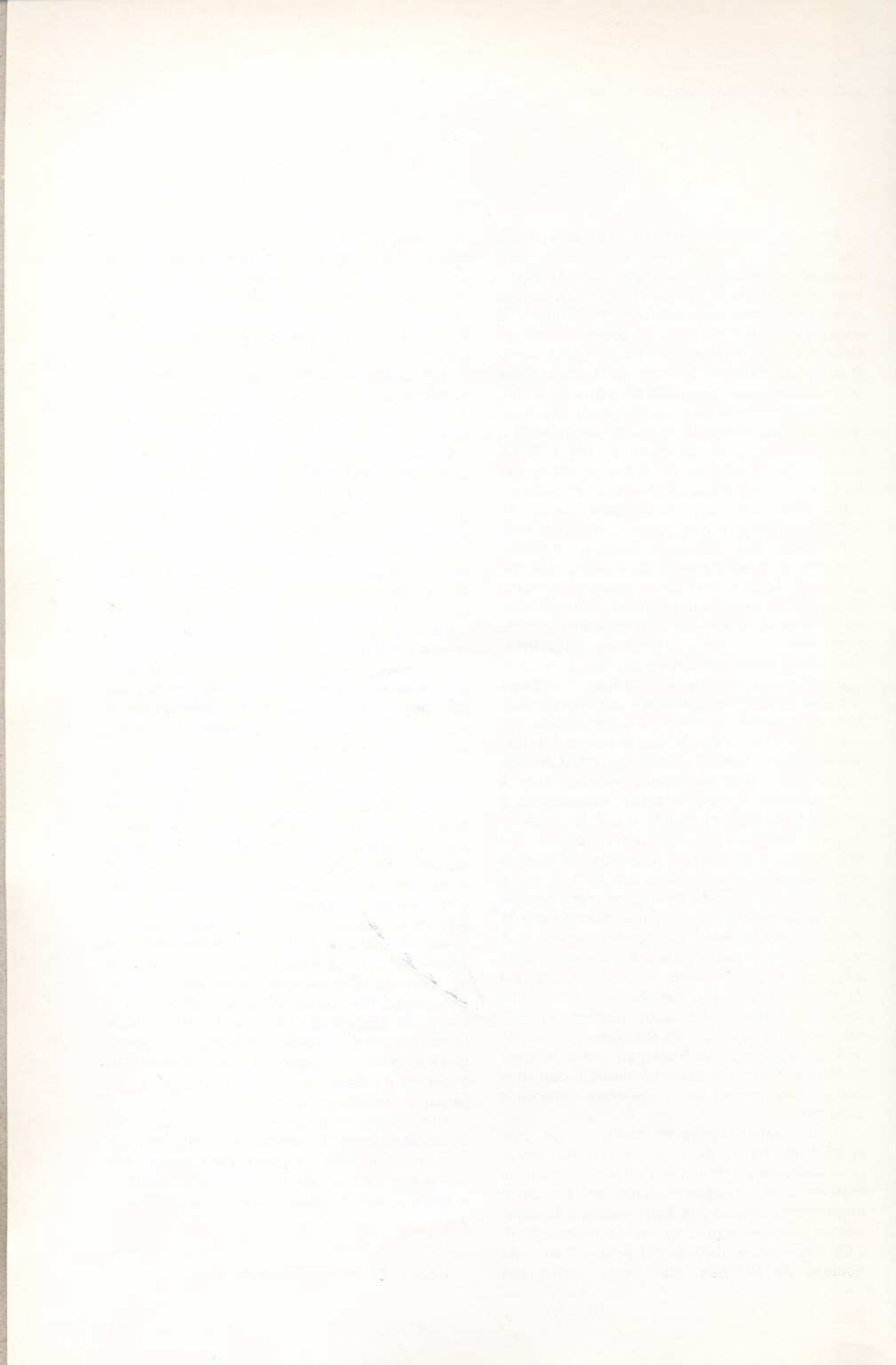
Em conclusão, e restringindo-nos apenas ao sector da Saúde — pois a sua acção determinada e esclarecida se estendeu também a outros sectores —, pode afirmar-se, com inteira propriedade, que as actividades desenvolvidas pelo Professor Gonçalves Ferreira, ao longo da sua extensa carreira, representam uma obra de pensamento e acção que dificilmente encontra paralelo no nosso País.

Aquilo que muito sumariamente acabo de expor — e que está longe de ilustrar a riqueza desta forte personalidade — constitui, só por si, justificação mais que bastante para a tornar credora de profunda admiração e apreço. Por isso, entendeu o Instituto, que tão devotadamente criou e serviu, prestar-lhe hoje pública homenagem, aproveitando, para o efeito, esta oportunidade em que se cumpre o décimo aniversário da criação do Dia do INSA e o décimo aniversário da sua aposentação.

Esta homenagem, a que o Senhor Ministro da Saúde se quis associar, fazendo-se representar, no seu impedimento, pelo Senhor Secretário de Estado da Saúde — a quem me cumpre agradecer a sua presença — esta homenagem, dizia, consta de dois aspectos distintos: por um lado, proceder-se-á ao descerramento de uma lápide comemorativa — cerimónia que imediatamente se seguirá a esta sessão inaugural e para a qual, desde já, tenho o gosto de convidar todos os presentes; por outro lado, instituem-se, a partir de agora, as «Conferências Gonçalves Ferreira», designação que passarão a ter daqui para o futuro, as conferências do Dia do INSA. Desta forma singela prestamos o nosso preito àquela que é a figura mais ilustre e a personalidade mais poderosa da Saúde Pública em Portugal, nesta segunda metade do século XX.

Renovando os meus efusivos cumprimentos ao homenageado e pedindo-lhe mais uma vez desculpa por esta pequena maquinação que planeámos sem lhe dar conhecimento, agradeço a todos a atenção que fizeram o favor de me dispensar.

Lisboa, 27 de Novembro de 1992



# Para um diagnóstico serológico precoce da lepra e da tuberculose \*

## Resposta de populações de doentes com lepra, de doentes com tuberculose e de indivíduos saudáveis aos antígenos glicolípidos fenólicos micobacterianos

Jorge Torgal Garcia \*\*

### RESUMO

Em 182 doentes com diferentes formas de lepra, em 50 contactantes há pelo menos dois anos de doentes com lepra, em 50 doentes com tuberculose confirmada bacteriologicamente por cultura e em 137 indivíduos saudáveis, foi estudada a existência de anticorpos contra antígenos fenoglicolipídicos característicos de *Mycobacterium leprae*, PGL-I, de *M. tuberculosis*, PGL-Tb-I, de *M. bovis*, de *M. marinum* e de *M. kansasii*. Foi determinada a sensibilidade, a especificidade e os valores predictivos para os antígenos homólogos e verificada a sua eventual utilidade no diagnóstico serológico de rastreio da lepra e da tuberculose. De entre os resultados obtidos, salienta-se a aptidão de, em teste ELISA, o PGL-I apresentar uma sensibilidade de 98,0 % para as formas de lepra multibacilares e paucibacilares activas, e de o PGL-Tb-I permitir o diagnóstico serológico da quase totalidade dos casos de tuberculose activa, tendo-se observado uma sensibilidade de 98,0 %, uma especificidade de 90,5 % e um valor predictivo de um resultado negativo de 99,2 %, o que é indicador da sua validade como teste de rastreio da tuberculose.

### SUMMARY

In 182 patients with different forms of leprosy, in 50 persons who have been in contact with leprosy patients at least for the last two years, in 50 patients with tuberculosis confirmed by culture and in 137 healthy individuals, a study was carried out to determine antibodies against phenoglycolipid antigens characteristic of *Mycobacterium leprae*, PGL-I, *M. tuberculosis*, PGL-Tb-I, *M. bovis*, *M. marinum* and *M. kansasii*. The sensitivity, specificity and predictive values for homologous antigens were determined, and possible use in serum diagnosis for the screening of leprosy and tuberculosis was verified. From all the results, we would point out the capacity of PGL-I, in ELISA test, which showed a 98,0 % sensitivity for the active multibacilar and paucibacilar forms of leprosy, as well as PGL-Tb-I which allowed the serological diagnosis of almost all the cases of active tuberculosis, showing a sensitivity of 98,0 %, a 90,5 % specificity and a 99,2 % predictive value of a negative result, which indicates its validity as a test for tuberculosis screening.

### Introdução

A lepra afecta actualmente cerca de 12 milhões de pessoas <sup>(312)</sup> e na última década a epidemia

não tem regredido <sup>(179)</sup>. Estima-se que metade da população mundial esteja infectada por *Mycobacterium tuberculosis* <sup>(38)</sup>, embora apenas cerca de 10 milhões de indivíduos por ano venham a desenvolver doença <sup>(300)</sup>. A incidência de isolamentos de outras micobactérias, que não *Mycobacterium tuberculosis*, tem aumentado nos últimos anos, tendo hoje uma significativa importância na epidemiologia das infecções e da patologia humana por micobactérias <sup>(320)</sup>.

Os meios disponíveis para o diagnóstico das infecções e das formas de doença por micobactérias não são satisfatórios <sup>(322)</sup>. Na lepra mantém-se a impossibilidade de cultivar o bacilo de Hansen. Na tuberculose a afirmação do diagnós-

Prémio Ricardo Jorge de Saúde Pública, 1992.

\* O presente trabalho foi objecto de um contrato de Investigação e Desenvolvimento com a JNICT, C. de I&D n.º 903.86.101; no seu decurso beneficiei de uma bolsa de estudo, com a duração de 3 meses e de um convite de 3 semanas, da parte da Embaixada de França em Lisboa, bem como de uma bolsa de estudo de 13 meses da INVOTAN, que me possibilitaram estadas em França, no Institut Pasteur de Paris.

\*\* Professor de Saúde Pública, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa.

tico necessita de 2 a 3 semanas, situação particularmente preocupante no caso de suspeita de meningite tuberculosa. No respeitante às outras micobactérias, para além do tempo de crescimento, são necessárias, para a sua identificação, provas culturais e bioquímicas de uso não corrente na maioria dos laboratórios de bacteriologia. O rastreio para o diagnóstico precoce da lepra baseia-se no exame clínico de contactantes e indivíduos em risco, e os métodos utilizados para o rastreio da tuberculose, radiologia, provas de tuberculina, são de reduzida eficiência<sup>(279)</sup>. Também o uso de sensitinas derivadas de outras micobactérias para rastreio das infecções provocadas por cada uma delas, se tem revelado de escassa utilidade<sup>(51)</sup>.

O isolamento e a purificação de um glicolípido fenólico a partir de *Mycobacterium lepræ*, PGL-I, que se verificou possuir propriedades antigénicas específicas desta espécie, veio abrir novas perspectivas no diagnóstico serológico da lepra<sup>(28, 33, 142, 143)</sup>. O isolamento de glicolípidos fenólicos de outras micobactérias, como *Mycobacterium bovis*<sup>(83, 266)</sup>, *Mycobacterium marinum*<sup>(123, 253)</sup>, *Mycobacterium kansasii*<sup>(120, 267)</sup> e *Mycobacterium tuberculosis*<sup>(71)</sup> perspectivou o diagnóstico serológico das infecções por estas micobactérias.

Os antigénios glicolípidos fenólicos diferem entre si no respeitante à natureza e à estrutura da sua porção carboidrato. O micosido B (*M. bovis* BCG) e o micosido G (*M. marinum*) possuem apenas uma ramnose, enquanto os outros micosidos PGL-I, de *M. lepræ*, PGL-K-I, de *M. kansasii*, e PGL-Tb-I, de *M. tuberculosis*, contêm distintos oligosacáridos. Existem, no entanto, semelhanças estruturais entre estes antigénios, de onde a possibilidade de ocorrer a formação de produtos de degradação ou de intermediários biosintéticos dos PGL major, nos indivíduos com tuberculose e lepra; acresce que o micosido A de *M. gastri*, micobactéria não patogénica é idêntico ao PGL-K-I<sup>(216, 292)</sup>. Embora tenha sido relatado que extractos de *M. bovis* BCG, *M. xenopi*, de *M. flavescens*, de *M. fallax* e de *M. terræ* reagiam positivamente, em teste ELISA, com anti-soro anti-PGL-Tb-I<sup>(217)</sup>, estudos recentes não o confirmaram (F. Papa e H.L. David, comunicação pessoal).

O estudo da presença de anticorpos contra os cinco glicolípidos fenólicos referidos, em indivíduos com tuberculose pulmonar, em indivíduos com lepra, quer com formas paucibacilares quer multibacilares, com menos e com mais de 5 anos de diagnóstico, em indivíduos contactantes de doentes multibacilares e paucibacilares de Hansen,

e em indivíduos saudáveis, teve como objectivo conhecer a utilidade do PGL-Tb-I no diagnóstico das formas activas de tuberculose pulmonar, do PGL-I no diagnóstico e no prognóstico dos doentes com lepra, nas suas diferentes formas e em relação com a sua situação clínica, bem como conhecer a existência de uma resposta imunitária nos doentes com tuberculose e com lepra aos respectivos antigénios fenolicoglicolipídicos heterólogos, e igualmente avaliar a resposta antigénica de uma população saudável aos glicolípidos fenólicos conhecidos.

## 1. Micobacterioses humanas

### 1.1 Lepra

Conhecida desde a Antiguidade, descrita nos mais recuados documentos históricos, médicos e não médicos, e integrando desde há séculos o imaginário negativo da Humanidade, a lepra constitui, ainda hoje, um importante problema de Saúde.

A elevada prevalência observada na Europa na Idade Média diminuiu progressivamente, por motivos não claros, de entre os quais sobressaem as modificações na ecologia humana e a segregação dos doentes. O quase desaparecimento, no decorrer do século XX, da lepra na Europa, onde se observam actualmente apenas focos residuais, e a sua actual distribuição epidemiológica a nível mundial, evidenciam a associação entre os níveis de prevalência da doença e as condições socio-económicas das populações afectadas<sup>(176)</sup>, a melhoria destas sendo acompanhada por uma diminuição de incidência da lepra<sup>(146, 147, 248)</sup>. A exposição ao agente, se obviamente necessária, não é, como para outros agentes, obrigatoriamente sinónimo de doença; pode afirmar-se que a malnutrição nas crianças com menos de 4 anos significará um risco acrescido de contrair lepra, correlacionado com uma maior incidência na população em geral<sup>(268)</sup>.

Estima-se que a lepra afecta hoje no Mundo 10 a 12 milhões de indivíduos, que vivem em 152 países, em 53 dos quais a doença se considera endémica, isto é, com uma taxa de incidência superior a um caso por mil habitantes, o que significa mais de 1,6 biliões de pessoas em risco de contágio<sup>(312)</sup> (Quadro I)<sup>(303, 317)</sup>, (Figura 1)<sup>(316)</sup>.

Se bem que seja reduzida a mortalidade pela lepra, o *Mycobacterium lepræ*, que terá uma baixa contagiosidade (entendida como aptitude

**QUADRO I**  
**NÚMERO DE CASOS DE LEPROSA ESTIMADOS**  
**E RESPECTIVA PREVALÊNCIA SEGUNDO AS**  
**REGIÕES O.M.S.**

Regiões O.M.S.	n.º de casos *	Prevalência *
África	3 500 000	10,1 / 1000
América Norte e Sul	400 000	1,32 / 1000
Sudoeste Asiático	4 150 000	5,00 / 1000
Mediterrâneo Oriental	160 000	0,75 / 1000
Pacífico Oriental	2 000 000	3,58 / 1000
Europa	25 000	0,25 / 1000

\* Valores estimados.

para se propagar, difícil de avaliar face à inexistência de testes afirmativos de infecção) e uma reduzida patogenicidade (entendida como um baixo risco de doença nos indivíduos infectados), apresenta um grande poder de invasão, (nas formas multibacilares os bacilos podem ser encontrados no sangue; na pele, nos nervos, no fígado, no baço, nos testículos, nos músculos, na medula óssea) e uma elevada virulência responsável pelas graves incapacidades e deformações observadas em cerca de 25 % dos doentes (175, 280). As consequências sociais do grande número de indivíduos com deformações incapacitantes da sua actividade profissional e o estigma social da doença, não comparável ao de qualquer outra, mais do que o número de doentes, terão sido os factores desencadeantes dos esforços feitos nos últimos anos, sob o impulso

**FIGURA 1**  
**DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL DA LEPROSA SEGUNDO A PREVALÊNCIA ESTIMADA PELA O.M.S.**



e com a coordenação da Organização Mundial de Saúde, a fim de controlar a lepra.

A incapacidade, que hoje se mantém, de cultivar o *M. lepræ*, que, lembremo-lo, foi descoberto em 1874 por Hansen (132), foi a primeira responsável pelas dificuldades de uma acção eficaz contra a lepra. O tardio uso terapêutico das sulfonas nos doentes com lepra, apenas utilizadas a partir de 1941 (97) quando haviam sido

descobertas em 1908, e a desastrosa recomendação do Congresso Mundial da Lepra, em 1968, preconizando mini-doses de dapsona com o consequente aparecimento de resistências primária e secundária, foram consequência da impossibilidade de experimentação *in vitro* e *in vivo*. A cultura do bacilo na pata do ratinho, conseguida por Shepard em 1960 (259), e a infecção experimental do tatu de nove faixas em 1971 (*Daypsus novencintos*) (165),

vieram atenuar a situação e possibilitar um grande esforço de investigação.

Múltiplos progressos têm sido obtidos no conhecimento da bacteriologia do *M. lepræ* e no domínio da imunologia da lepra. A classificação de Ridley e Jopling<sup>(244)</sup>, permitindo classificar clinicamente os doentes em correlação com a sua condição imunológica e a sua carga bacteriológica, o conhecimento da parede celular, do metabolismo, da composição e dimensão do DNA do genoma do *M. lepræ*, e a sua clonagem em *E. coli*<sup>(81, 140)</sup>, o desenvolvimento de provas tendo por base antígenos ou epitopos específicos de *M. lepræ* e a produção de anticorpos monoclonais<sup>(94, 314)</sup> e o ensaio experimental de vacinas<sup>(63, 298, 314, 316)</sup>, são resultados da investigação das últimas décadas.

No entanto, se se progrediu no conhecimento dos determinantes epidemiológicos da lepra, quer nos ligados ao agente, quer nos respeitantes ao hospedeiro, quer ainda nos relacionados com os factores ambientais<sup>(105)</sup>, múltiplas questões básicas da epidemiologia da doença permanecem sem resposta, com consequências gravosas para a sua luta e no seu controlo.

A importância que pode ter a existência de outras micobactérias do meio ambiente na prevalência e no tipo de formas clínicas dominantes de lepra que se observam numa dada população<sup>(186)</sup>, bem como o significado epidemiológico da homologia filogenética observada entre *M. lepræ* e outras micobactérias patogénicas para o homem, como *M. tuberculosis*, *M. bovis* e *M. avium*<sup>(265)</sup>, são questões ainda sem respostas concludentes. A incapacidade de se afirmar a importância relativa dos doentes com formas paucibacilares na transmissão da doença<sup>(174)</sup>, bem como a impossibilidade de distinguir o indivíduo infectado por *M. lepræ*, sem doença, do indivíduo não infectado, são reveladores do insuficiente conhecimento epidemiológico actual.

É certo que a análise dos indicadores mostra que em alguns países, como a China, o Japão, a Nigéria, os Estados Unidos da América, a Venezuela e em algumas regiões da Índia, as medidas de vigilância epidemiológica, os programas de terapêutica múltipla e de acompanhamento dos doentes, acompanhadas pela melhoria das condições socio-económicas das populações, têm tido resultados encorajantes<sup>(147, 179, 317)</sup>.

No entanto, são muitas as dificuldades para atingir os três objectivos definidos como prioritários para o controlo da doença:

a) a diminuição da prevalência e da incidência; b) a prevenção, de forma eficaz, das de-

formações incapacitantes dos doentes; c) a integração social dos doentes<sup>(177)</sup>.

A estratégia da luta contra a lepra baseia-se na terapêutica.

O objectivo é tratar com terapêutica múltipla os doentes, que deverão ser diagnosticados o mais precocemente possível. Dado o insignificante valor epidemiológico do reservatório animal da doença<sup>(24, 280)</sup>, o objectivo último é esgotar o reservatório humano do agente.

Os modelos epidemiométricos para a lepra são claros ao afirmarem a necessidade de diagnósticos precoces de forma a possibilitar um máximo aproveitamento dos meios existentes, e reduzir no menor tempo a incidência e a prevalência da lepra<sup>(171, 178)</sup>. Os modelos económicos estudados mostram que, na ausência de vacinação, o menor custo económico é obtido com a maior precocidade do diagnóstico<sup>(173)</sup>. O diagnóstico no início do aparecimento da doença é a melhor, e por vezes a única, forma de evitar o aparecimento de deformações incapacitantes nos doentes<sup>(102, 177)</sup>.

O método de diagnóstico de uso corrente, actualmente, continua a ser o clínico, apoiado na bacteriologia e na histopatologia. A procura de métodos de diagnóstico serológico, da infecção e da doença, tem sido um objectivo prioritário. O glicolípido fenólico, extraído e isolado de *M. lepræ*, foi o primeiro antígeno específico a ser identificado<sup>(28, 142)</sup>.

## 1.2 Tuberculose

Se bem que o seu principal agente, *M. tuberculosis*, tenha sido descoberto em 1882, por R. Koch<sup>(166)</sup>, a tuberculose, que em epidemias sucessivas ao longo dos séculos, epidemias de elevada mortalidade, devastou a Humanidade, apenas começou a ser controlada, nos países industrializados, a partir dos anos 60<sup>(38)</sup>.

Muito se tem progredido no conhecimento da epidemiologia da tuberculose, possibilitando organizar a luta contra a doença e transpor para o domínio do seu controlo os novos conhecimentos obtidos, quer na bacteriologia do agente, quer no domínio da terapêutica<sup>(62, 112, 185)</sup>.

Um grande caminho foi percorrido:

— O conhecimento de que o Homem é o único reservatório de *M. tuberculosis*; os progressos da sistematização bacteriológica que, definindo actualmente 56 espécies do género *Mycobacte-*

rium, quando em 1950 apenas 10 eram reconhecidas, possibilitou conhecer os agentes possíveis de tuberculose humana, *M. tuberculosis*, *M. bovis* e *M. africanum*, e a consequente importância relativa, para o Homem, de cada um, os seus reservatórios naturais e as suas formas de transmissão<sup>(18, 295)</sup>.

— A comprovação de que a transmissão por via respiratória é a principal via de contagiosidade da infecção por *M. tuberculosis*, agente de 98 % dos casos de tuberculose; a possibilidade de distinguir o indivíduo não infectado do infectado, utilizando a prova de tuberculina e valorizando as reacções segundo uma escala aceite internacionalmente<sup>(5)</sup>; a definição epidemiológica de doença, em que se entende como sofrendo de tuberculose o indivíduo que excreta bacilos, comprovado por exame directo e/ou cultura; a explicitação das condições de leitura de um esfregaço ao microscópio óptico, definindo a relação entre o número de bacilos observados por campo e o conteúdo bacilar da amostra da expectoração, o número de campos ópticos a observar e a relativa possibilidade de encontrar bacilos ácido-resistentes, mostrando a repetibilidade do exame directo, quantificando a sua sensibilidade e a sua especificidade, face à cultura, e atestando a sua importância no rastreio e no diagnóstico da tuberculose<sup>(42, 69, 78, 79)</sup>.

— O desenvolvimento de uma quimioterapia antituberculosa eficaz, iniciada após a descoberta da estreptomicina, continuada pela definição das condições óptimas de terapêutica com recurso a novos fármacos entretanto descobertos, quer quanto à sua associação quer quanto à duração do tratamento, e, tendo em conta a sensibilidade observada de *M. tuberculosis* aos diferentes agentes terapêuticos, valorizando as resistências primária e secundária observadas geograficamente ou nos diferentes grupos populacionais<sup>(231, 297)</sup>.

— O conhecimento do valor do risco relativo dos indivíduos infectados desenvolverem a doença, considerando a incidência da tuberculose na sua região<sup>(276)</sup>.

— O aperfeiçoamento de novos métodos de diagnóstico, recorrendo às técnicas da biologia molecular, possibilitando a comprovação da presença de bacilos da tuberculose nos produtos ou nas culturas por sondas de ADN<sup>(124, 205)</sup>.

— A mais perfeita visão da relação agente/hospedeiro com um mais completo e detalhado conhecimento da resposta imunitária nas infecções micobacterianas, essencialmente celular<sup>(50, 92, 170)</sup>, das características imunológicas e bio-

químicas de antígenos micobacterianos<sup>(137)</sup>, do papel dos linfócitos T<sup>(159, 160)</sup>, da acção das chamadas «stress proteins» como factor de virulência<sup>(330)</sup> e a descoberta de antígenos característicos, específicos de *M. tuberculosis*<sup>(71, 72, 73)</sup>.

— Os progressos no conhecimento da constituição, ultraestrutura e composição química<sup>(32, 82, 90)</sup>, as enzimas e a actividade bioquímica das micobactérias<sup>(298)</sup>, que são primordiais quer no saber da sua patogenicidade e antigenicidade quer nos mecanismos de resistência aos anti-bióticos.

A nítida diminuição da mortalidade por tuberculose observada nos países industrializados não foi, no entanto, seguida pela maioria da Humanidade, sendo estimados em 3 a 4 milhões as mortes por tuberculose em 1985<sup>(300)</sup>. Na Europa, é nítida a diminuição da mortalidade por tuberculose, embora ainda constitua, actualmente, na generalidade dos Países, uma parte relevante da mortalidade total por doenças infecciosas e parasitárias (Figura 2) (Quadro II)<sup>(299, 301, 302, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 313, 315)</sup>.

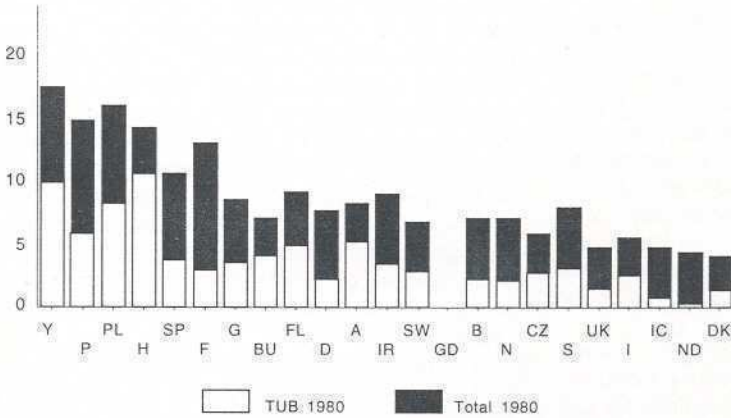
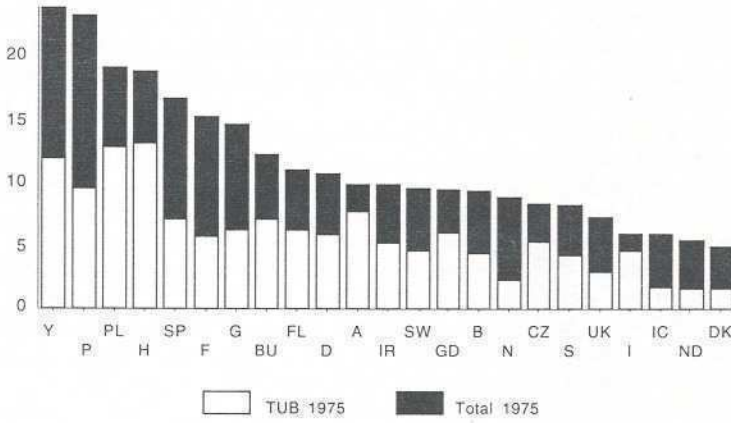
Também a morbilidade tem diminuído de cerca de 50 % todos os 10 anos, em valores médios (Quadro III)<sup>(44, 148, 201, 318)</sup>.

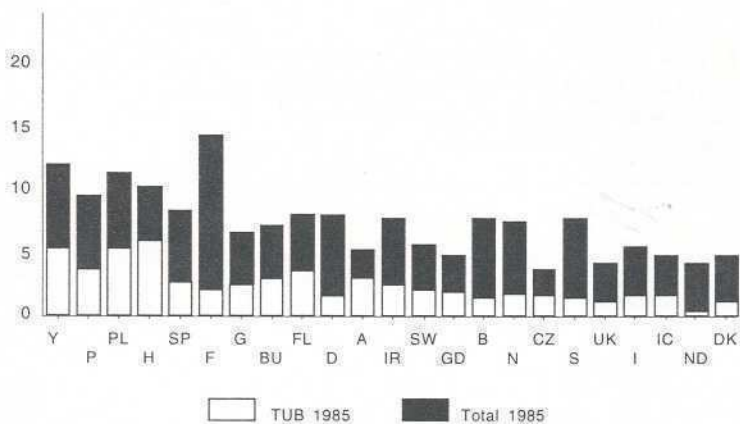
Com o aumento importante de casos de tuberculose nos indivíduos idosos, população acentuadamente crescente nos países desenvolvidos, e a elevada incidência de tuberculose nos indivíduos com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida surgiram novos grupos de risco com elevada mortalidade. A contagiosidade pelos indivíduos relapsos, que não cumprem os regimes terapêuticos, em geral infectados por bacilos resistentes, indivíduos que hoje têm uma maior sobrevida e são fonte de múltiplos novos casos de resistências primárias, constituem uma grave e difícil situação que coloca novos e crescentes problemas na estratégia de luta contra a tuberculose.

Os métodos actualmente utilizados no rastreio da tuberculose são pouco sensíveis, 62 a 70 % o exame directo, 12 a 24 % o rastreio radiológico<sup>(279)</sup>, dispendiosos, especialmente o radiodiagnóstico, e morosos, não possibilitando uma acção terapêutica precoce, única via para coartar a transmissão da infecção, o que assume particular importância em regiões de elevada prevalência. É sobremaneira urgente a necessidade de um método de diagnóstico precoce, de elevada sensibilidade e de uma conveniente especificidade, que possibilite o rastreio da doença, permitindo afirmar quais os casos de infecção

FIGURA 2

EVOLUÇÃO DA MORTALIDADE POR TUBERCULOSE \* NA EUROPA COMPARADA À MORTALIDADE TOTAL POR DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS\*\* — 1975, 1980 E 1985, N.º DE CASOS, TODAS AS IDADES, AMBOS OS SEXOS, POR 100 000 HABITANTES





Áustria, A; Bélgica, B; Bulgária, BU; Checoslováquia, CZ; Dinamarca, DK; Espanha, SP; Finlândia, FL; França, F; Grécia, G; Holanda, ND; Hungria, H; Irlanda, IR; Islândia, IS; Itália, I; Jugoslávia, Y; Noruega, N; Polónia, PL; Portugal, P; Reino Unido, UK; Rep. Democrática Alemã, GD; Rep. Federal Alemã, D; Suíça, SW; Suécia, S;

\* Tuberculose do aparelho respiratório, (020-021), A6, e outras formas de tuberculose, (022-025; 029), A7 - 10, segundo a classificação das causas de morte, ICD-8 Lista "A";

\*\* Todas as causas de morte por doenças infecciosas e parasitárias, (01-07), (I), segundo a classificação das causas de morte, ICD-8, Lista "A";

QUADRO II

EVOLUÇÃO DA MORTALIDADE POR TUBERCULOSE\* NA EUROPA COMPARADA À MORTALIDADE TOTAL POR DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS\*\* - 1975, 1980 E 1985, N.º DE CASOS, TODAS AS IDADES, AMBOS OS SEXOS, POR 100 000 HABITANTES

	1975		1980		1985	
	Tub.	tt	Tub.	tt	Tub.	tt
Áustria	7,7 - 9,9		5,4 - 8,2		3,2 - 5,2	
Bélgica	4,4 - 9,3		2,3 - 7,2(a)		1,5 - 7,7	
Bulgária	7,1 - 12,2		4,0 - 7,2		2,9 - 7,1	
Checoslováquia	5,3 - 8,3		2,8 - 6,1(b)		1,8 - 3,8	
Dinamarca	1,6 - 4,9		1,4 - 4,1		1,2 - 4,9	
Espanha	7,2 - 16,6		3,9 - 10,5		2,7 - 8,5(c)	
Finlândia	6,2 - 10,9		5,0 - 9,2		3,7 - 8,1	
França	5,5 - 15,2		3,0 - 13,0		2,1 - 13,2	
Grécia	6,2 - 14,4		3,7 - 8,6		2,6 - 6,8	
Holanda	1,5 - 5,5		0,3 - 4,4		0,3 - 4,3	
Hungria	13,0 - 18,7		10,8 - 14,2		6,1 - 10,4	
Irlanda	5,1 - 9,9		3,6 - 9,1		2,5 - 7,7	
Islândia	1,8 - 6,0		0,9 - 4,8		1,6 - 5,0	
Itália	4,6 - 6,0		2,7 - 5,7		1,6 - 4,0	
Jugoslávia	12,0 - 23,8		9,8 - 17,4		5,3 - 12,1	
Noruega	2,2 - 8,8		2,2 - 7,3		2,0 - 7,5	
Polónia	12,8 - 18,9		8,3 - 15,9		5,4 - 11,3	
Portugal	9,6 - 23,2		6,1 - 14,8		3,8 - 9,4	
Reino Unido (d)	2,9 - 7,4		1,5 - 4,8		1,1 - 4,3	
R.D. Alemanha	6,1 - 9,4		- - -		2,0 - 5,0	
R.F. Alemanha	5,7 - 10,7		2,5 - 7,8		1,7 - 8,0	
Suíça	4,9 - 9,7		2,9 - 7,0		2,1 - 5,7	
Suécia	4,3 - 8,2		3,2 - 7,0		1,4 - 7,9	

\* Tuberculose do aparelho respiratório, (020-021), A6, e outras formas de tuberculose, (022-025; 029), A7-10, segundo a classificação das causas de morte, ICD-8 Lista «A».

\*\* Todas as causas de morte por doenças infecciosas e parasitárias, (01-07), (I), segundo a classificação das causas de morte, ICD-8, Lista «A».

(a) 1979. (b) 1981. (c) 1984. (d) Inglaterra, Gales, Escócia e Irlanda do Norte.

## QUADRO III

## TAXAS DE INCIDÊNCIA DE TUBERCULOSE EM ALGUNS PAÍSES DA EUROPA EM 1950, 1960, 1970, 1983 E EM 1987. CASOS POR 100 000 HABITANTES, PARA AMBOS OS SEXOS E TODAS AS IDADES

	1950	1960	1970	1983	1987
Áustria	119,1	64,1	38,6	24,0	15,4
Bélgica	71,0	40,9	32,0	22,1	23,8
Dinamarca	58,9	20,9	13,8	7,4	5,6
Espanha	89,3	70,3	65,3	27,4	24,4
Finlândia	275,4	172,9	110,2	39,2	22,9
França	149,3	83,7	66,1	22,8	18,4
Grécia	—	133,9	60,4	15,2	15,7*
Holanda	159,3	50,9	19,7	8,6	9,1
Irlanda	228,9	111,8	47,4	26,3	23,9#
Islândia	129,4	43,8	20,1	9,6	5,4*
Itália	187,9	116,9	61,0	31,6	4,4
Noruega	93,4	32,2	13,8	5,0	7,4
Portugal	—	182,6	129,3	69,8	69,3
Reino Unido	154,9	64,4	28,6	14,5	12,1*
Inglaterra, Gales		118,7	53,7	25,1	12,7
Irlanda do Norte		157,2	64,9	24,4	—
Escócia	188,9	74,6	35,3	16,3	
Rep. Fed. Alem.	258,7	125,5	79,6	31,9	18,4
Suécia	150,4	56,1	29,0	10,0	5,2
Suíça	171,6	90,4	38,7	17,2	13,6*
<b>Média</b>	<b>153,4</b>	<b>83,7</b>	<b>47,9</b>	<b>22,1</b>	<b>17,4</b>

# = 1984; \* = 1986.

**Nota:** A Organização Mundial de Saúde não tem publicado elementos sobre a incidência da tuberculose na Europa; os princípios da declaração (notificação do clínico baseada em diagnóstico clínico, baseada em diagnóstico laboratorial, baseada apenas em notificações laboratoriais, notificações de médicos sentinelas, etc.) variam de País para País, pelo que a fiabilidade e a comparabilidade dos dados é bastante aproximativa.

que vão evoluir para doença, que afirma a doença nos cerca de 25 % de doentes de tuberculose que se mantêm tuberculino negativos <sup>(154)</sup>, que leve à clarificação dos resultados das provas de tuberculina, o que é especialmente importante nos doentes idosos em que as reacções exuberantes são frequentemente resultado do efeito «booster» <sup>(274)</sup>, que possibilite aumentar a rapidez e melhorar a probabilidade de afirmação do diagnóstico na meningite tuberculosa, na tuberculose renal, óssea ou extrapulmonar, na tuberculose da criança.

As sondas de ADN, actualmente de custo proibitivo para utilização frequente, têm uma elevada sensibilidade e especificidade, mas apenas quando os produtos contém  $10^4$ - $10^5$  bacilos, o que as torna inúteis para rastreio ou para o diagnóstico dos 40 a 60 % de formas de tuberculose pulmonar que são negativas ao exame directo bem como daquelas em que são escassos os bacilos presentes <sup>(130)</sup>. No entanto, um novo método (PCR), descrito por Saiki, em 1988 <sup>(249)</sup>, possibilitando a amplificação de sequências de ADN e, em consequência, a detecção de um pequeno número de bacilos, menos de 10, começou a ser avaliado no domínio da tuberculose (A. Hence, V. Levy-Frébault, B. Gicquel, comunicação pessoal, manuscrito em preparação) com resultados prometedores.

A elevada incidência de tuberculose está hoje em dia ligada a um baixo nível de desenvolvimento económico, social, cultural, quer do país, quer, nos países desenvolvidos, a grupos desfavorecidos e ou marginalizados, como os imigrantes, os idosos, os alcoólicos e os drogados <sup>(43, 45)</sup>; um método de rastreio deve ter um baixo custo e não exigir tecnologia muito diferenciada.

A descoberta de um antígeno específico de *M. tuberculosis*, o glicolípido fenólico denominado PGL-Tb-I, a sua extracção e o seu isolamento <sup>(71)</sup>, veio perspectivar o diagnóstico serológico como a metodologia capaz de dar resposta às necessidades prementes atrás referidas. O primeiro estudo serológico com este antígeno, integra o presente trabalho.

### 1.3 Outras Micobacterioses

No estado actual do conhecimento são reconhecidas pelo Internacional Working Group on Mycobacterial Taxonomy 56 espécies de micobactérias, a maioria das quais identificadas a partir da década de 60 (Quadro IV) <sup>(202, 263)</sup>.

O isolamento laboratorial de algumas destas espécies em produtos humanos assume, actualmente, uma importância considerável, como, a título de exemplo, assinala o Quadro V <sup>(80, 290, 324)</sup>.

Coloca-se, em consequência, a questão do significado destes isolamentos, isto é, da afirmação de colonização, de infecção ou de agente de doença. Se a resposta a esta questão depende, mesmo para uma micobactéria estritamente patogénica, como *M. tuberculosis*, da resposta imunitária, (infecção silenciosa e consequente tuberculino positividade sem vacinação nem sintomatologia, primo-infecção com sintomatologia, tuberculose pulmonar cavitária, tuberculose miliar), no respeitante às Micobactérias Não Tuberculosas, M.N.T., (denominação que abrange todas as espécies de Micobactérias à excepção de *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* e de *M. leprae*), a condição do sistema imunitário do hospedeiro humano é determinante no estabelecimento das condições que possibilitarão a evolução de uma situação de colonização, ou de infecção, para um quadro de doença. Em consequência, os progressos da Medicina, levando ao prolongamento da vida em situações de intensa degradação das condições de saúde, recorrendo com frequência crescente a quadros iatrogénicos de depressão do sistema imunitário, muitas vezes em paralelo com a prática de técnicas invasivas, endoscopias, próteses, transplantações, tem conduzido a frequentes situações de doença humana por micobactérias não tuberculosas com múltiplos quadros clínicos, como as descritas no Quadro VI (adaptado de <sup>61, 66, 152, 204, 278, 293, 294, 320, 321</sup>).

A frequência de isolamentos das diferentes espécies micobacterianas nos produtos humanos e as situações clínicas descritas para cada isolamento, bem como os isolamentos no meio ambiente, permitem classificar as Micobactérias, no respeitante à sua capacidade de provocar doença no Homem, em estritamente patogénicas, potencialmente patogénicas ou oportunistas, e saprófitas ou raramente patogénicas (Quadro VII) (adaptado de <sup>126, 168, 295, 320, 321</sup>).

A fragilidade desta classificação, que decorre mais das condições do hospedeiro do que das características próprias a cada espécie, contagiosidade, patogenicidade, poder de invasão e virulência, é evidenciada pela epidemia da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA), em cujos doentes múltiplas espécies de Micobactérias Não Tuberculosas têm sido isoladas (Quadro VIII) <sup>(214, 228)</sup>, e em elevada frequência (Quadro IX) <sup>(141, 214)</sup>.

As situações de doença apenas podem eclodir após infecção. As M.N.T. têm sido isoladas

## QUADRO IV

## ESPÉCIES MICOBACTERIANAS RECONHECIDAS PELO INTERNATIONAL COMMITTEE OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY (I.C.S.B.)

1896	<i>M. lepræ</i> <i>M. tuberculosis</i>	(Hansen, 1880) (Zopf 1883)	Lehman e Neumann Lehman e Neumann
1899	<i>M. smegmatis</i> <i>M. phlei</i>	(Trevisan, 1889)	Lehman e Neumann Lehman e Neumann
1901	<i>M. avium</i>		Chester
1912	<i>M. lepræmurium</i>		Marchou e Sorel
1923	<i>M. chelonæ</i> <i>M. paratuberculosis</i>		Bergey <i>et al</i> Bergey <i>et al</i>
1926	<i>M. marinum</i>		Aronson
1938	<i>M. fortuitum</i>		da Costa Cruz
1950	<i>M. ulcerans</i>		MacCollum <i>et al</i>
1955	<i>M. kansasii</i>		Hauduroy
1956	<i>M. scrofulaceum</i>		Prissick e Masson
1957	<i>M. microti</i>		Reed em Breed <i>et al</i>
1959	<i>M. xenopi</i>		Schwabacher
1962	<i>M. flavescens</i> <i>M. gordonæ</i>		Bojalil, Cerbon e Trujilo Bojalil, Cerbon e Trujilo
1964	<i>M. vaccæ</i>		Bönicke e Juhasz
1965	<i>M. intracellulare</i> <i>M. simiæ</i> <i>M. parafortuitum</i> <i>M. nonchromogenicum</i>	(Cuttino e McCabe, 1949)	Runyon Karasseva <i>et al</i> Tsukamura <i>et al</i> Tsukamura
1966	<i>M. thermoresistibile</i> <i>M. aurum</i> <i>M. gastris</i> <i>M. terræ</i>		Tsukamura Tsukamura Wayne Wayne
1967	<i>M. chitæ</i>		Tsukamura
1969	<i>M. africanum</i>		Castets, Rist e Boisvert
1970	<i>M. bovis</i> <i>M. triviale</i>		Karlson e Lessei Kubica <i>et al</i>
1971	<i>M. asiaticum</i> <i>M. duvalii</i> <i>M. gilvum</i>		Weiszfeiler <i>et al</i> Stanford e Gunthorpe Stanford e Gunthorpe
1972	<i>M. szulgai</i> <i>M. neoaurum</i> <i>M. chelonæ</i> subsp. <i>abscessus</i> (Moore e Frerich, 1953) <i>M. chelonæ</i> subsp. <i>chelonæ</i> (Bergey <i>et al</i> , 1923)		Marks <i>et al</i> Tsukamura Kubica <i>et al</i> Kubica <i>et al</i>
1974	<i>M. gadium</i>		Casal e Calero

QUADRO IV (Continuação)

1977	<i>M. malmoense</i>	Schröder e Juhlin
1978	<i>M. hæmophilum</i>	Sompolinsky <i>et al</i>
1979	<i>M. senegalense</i> <i>M. komossense</i> <i>M. farcinogenes</i>	Chamoiseau Kazda e Müller Chamoiseau
1980	<i>M. sphagni</i>	Kazda
1981	<i>M. agri</i> <i>M. aichiense</i> <i>M. chubuense</i> <i>M. obuense</i> <i>M. rhodesiæ</i> <i>M. tokaiense</i>	Tsukamura <i>et al</i> Tsukamura <i>et al</i> Tsukamura <i>et al</i> Tsukamura <i>et al</i> Tsukamura <i>et al</i> Tsukamura <i>et al</i>
1983	<i>M. austroafricanum</i> <i>M. diernhoferi</i> <i>M. fallax</i> <i>M. porcinum</i> <i>M. shimoidei</i>	Tsukamura <i>et al</i> Tsukamura <i>et al</i> Lévy-Frèbault <i>et al</i> Tsukamura <i>et al</i> Tsukamura <i>et al</i>
1984	<i>M. pulveris</i>	Tsukamura <i>et al</i>
1986	<i>M. moriokaense</i>	Tsukamura <i>et al</i>
1987	<i>M. poriferæ</i>	Tsukamura <i>et al</i>

## QUADRO V

MICOBACTÉRIAS ISOLADAS EM DIFERENTES LABORATÓRIOS. IMPORTÂNCIA RELATIVA DOS ISOLAMENTOS DE MICOBACTÉRIAS TUBERCULOSAS\* E DE MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS (M.N.T.). DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS M.N.T. ISOLADAS

França Institut Pasteur** 1978-1984		Inglaterra Public Health Lab. 1977-1984		Portugal H. Univ. Coimbra 1983-1984	
Isolamentos		Isolamentos		Isolamentos	
<i>M. tuberculosis</i>	n = 4954	<i>M. tuberculosis</i>	n = 16 425	<i>M. tuberculosis</i>	n = 75
<i>M. bovis</i>	n = 158	<i>M. bovis</i>	n = 166	<i>M. bovis</i>	n = 1
<i>M. africanum</i>	n = 59	<i>M. africanum</i>	n = 184		
BCG	n = 134				
<b>M.N.T. (31,3 %)</b>	<b>n = 2410</b>	<b>M.N.T. (16,9 %)</b>	<b>n = 3 400§</b>	<b>M.N.T. (10,5 %)</b>	<b>n = 8</b>
<i>M. fortuitum</i>		<i>M. fortuitum</i>		<i>M. fortuitum</i>	1 estirpe
<i>M. chelonæ</i>	21,3 %	<i>M. chelonæ</i>	10,8 %		
<i>M. gordonæ</i>	18,3 %			<i>M. gordonæ</i>	3
<i>M. kansasii</i>	18,2 %	<i>M. kansasii</i>	17,7 %	<i>M. kansasii</i>	1
<i>M. xenopi</i>	9,7 %	<i>M. xenopi</i>	36,7 %	<i>M. xenopi</i>	1
<i>M. terræ</i>	9,2 %	<i>M. terræ</i>	0,3 %		
M.A.I.S.#	7,5 %	M.A.I.S.	9,1 %		
<i>M. gastri</i>	5,6 %				
<i>M. flavescens</i>	4,2 %				
<i>M. marinum</i>	0,4 %	<i>M. marinum</i>	0,7 %	<i>M. marinum</i>	1
<i>M. szulgai</i>	0,2 %	<i>M. szulgai</i>	0,4 %		
<i>M. simiæ</i>	0,2 %				
<i>M. ulcerans</i>	1 estirpe	<i>M. ulcerans</i>	1 estirpe		
<i>M. thermoresistibile</i>	1 estirpe				
<i>M. malmoense</i>	1,0 %				
Outras M.N.T.	5,1 %	Outras M.N.T.	23,3 %	<i>M. vaccæ</i>	1 estirpe

\* Micobactérias Tuberculosas: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* e BCG

\*\* Service de la Tuberculose et des Mycobactéries, Lab. Nacional de Referência.

§ A percentagem dos isolamentos de M.N.T. observados é um valor médio num quadro de uma tendência crescente: 1977 = 11,0 %; 1980 = 16,3 %, 1982 = 22,1 % e 1984 = 22,8 %.

# M.A.I.S. - grupo *Mycobacterium avium-intracellulare-scrofulaceum*

QUADRO VI

ESPÉCIES DE MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS REFERIDAS COMO AGENTES DE DOENÇA NO HOMEM. QUADROS CLÍNICOS DESCRITOS

Agente	1.º Quadro clínico descrito	Outros
<i>M. avium</i>	d. pulmonar	adenite cervical, d. ósteoarticular, meningite, d. genito-urinária, disseminada, pós-cirurgia, d. cutânea
<i>M. intracellulare</i>	disseminada	adenite cervical, d. ósteoarticular
<i>M. scrofulaceum</i>	adenite cervical	d. pulmonar, disseminada
<i>M. kansasii</i>	d. pulmonar	adenite cervical, d. ósteoarticular, meningite, d. genito-urinária, disseminada, d. cutânea
<i>M. xenopi</i>	d. pulmonar	d. ósteoarticular, d. genito-urinária
<i>M. marinum</i>	d. cutânea	d. ósteoarticular, disseminada
<i>M. ulcerans</i>	d. cutânea	
<i>M. fortuitum</i>	d. pulmonar	adenite cervical, d. ósteoarticular, d. cutânea
<i>M. chelonæ</i>	d. pulmonar	adenite cervical, d. ósteoarticular, disseminada, d. cutânea, prótese cardíaca, cirurgia oftálmica
<i>M. hæmophilum</i>	d. cutânea	
<i>M. simiæ*</i>	d. pulmonar	
<i>M. szulgai*</i>	d. pulmonar	adenite cervical, d. ósteoarticular, d. cutânea
<i>M. paratuberculosis*</i>	d. intestinal	
<i>M. asiaticum*</i>	d. pulmonar	
<i>M. malmoense*</i>	d. pulmonar	adenite cervical, disseminada
<i>M. shimoidei*</i>	d. pulmonar	
<i>M. gordonæ</i>	meningite	d. ósteoarticular, disseminada, d. cutânea
<i>M. terræ**</i>	d. pulmonar	d. ósteoarticular, disseminada
<i>M. triviale**</i>	d. ósteoarticular	
<i>M. smegmatis**</i>	d. pulmonar	d. cutânea, prótese cardíaca
<i>M. nonchromogenicum**</i>	d. pulmonar	d. ósteoarticular
<i>M. thermoresistibile**</i>	d. pulmonar	d. ósteoarticular
<i>M. flavescens*</i>	d. pulmonar	
<i>M. bovis BCG**</i>	meningite	

\* Espécies raramente isoladas no Homem, frequentemente agentes de doença.

\*\* Espécies frequentemente isoladas no Homem, mas raramente patogénicas.

## QUADRO VII

## CLASSIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES MICOBACTERIANAS SEGUNDO A SUA PATOGENICIDADE PARA O HOMEM

Estritamente patogénicas	potencialmente patogénicas (oportunistas)	raramente patogénicas ou saprofitas
<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>	<i>M. gordonæ</i>
<i>M. bovis</i>	<i>M. intracellulare</i>	<i>M. terræ</i>
<i>M. africanum</i>	<i>M. scrofulaceum</i>	<i>M. triviale</i>
	<i>M. kansasii</i>	<i>M. nonchromogenicum</i>
<i>M. lepræ</i>	<i>M. xenopi</i>	<i>M. flavescens</i>
	<i>M. marinum</i>	<i>M. gastri</i>
<i>M. ulcerans</i>	<i>M. simiæ</i>	<i>M. farcinogenes</i>
<i>M. hæmophilum</i>	<i>M. szulgai</i>	<i>M. microti</i>
	<i>M. paratuberculosis</i>	<i>M. lepræmurium</i>
	<i>M. asiaticum</i>	
	<i>M. malmoense</i>	<i>M. smegmatis*</i>
	<i>M. shimoidei</i>	<i>M. thermoresistibile*</i>
		<i>M. fallax*</i>
	<i>M. fortuitum*</i>	<i>M. phlei*</i>
	<i>M. chelonæ*</i>	<i>M. vaccæ*</i>
		<i>M. parafortuitum*</i>
		<i>M. aurum*</i>
		<i>M. chitæ</i>
		<i>M. duvalii</i>
		<i>M. gilvum*</i>
		<i>M. neoaurum*</i>
		<i>M. gadium*</i>
		<i>M. senegalense*</i>
		<i>M. komossense*</i>
		<i>M. sphagni*</i>
		<i>M. agri*</i>
		<i>M. aichiense*</i>
		<i>M. chubuense*</i>
		<i>M. obuense*</i>
		<i>M. rhodesiæ*</i>
		<i>M. tokaiense*</i>
		<i>M. austroafricanum*</i>
		<i>M. diernhoferi*</i>
		<i>M. porcinum*</i>
		<i>M. pulveris*</i>
		<i>M. moriokaense*</i>
		<i>M. poriferæ*</i>

\* Micobactérias de crescimento rápido.

QUADRO VIII  
MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS  
ISOLADAS EM DOENTES COM SIDA

Estrita e Potencialmente patogénicas	Saprófitas ou raramente patogénicas
<i>M. haemophilum</i>	<i>M. gordonæ</i>
<i>M. avium-intracellulare</i>	<i>M. terræ</i>
<i>M. scrofulaceum</i>	<i>M. flavescens</i>
<i>M. kansasii</i>	<i>M. smegmatis*</i>
<i>M. xenopi</i>	<i>M. aurum*</i>
<i>M. simiæ</i>	
<i>M. szulgai</i>	
<i>M. asiaticum</i>	
<i>M. malmoense</i>	
<i>M. fortuitum*</i>	
<i>M. chelonæ*</i>	

\* Micobactérias de crescimento rápido.

em animais e no meio ambiente, no solo, nas poeiras, em plantas, na água, tendo cada espécie o seu próprio nicho ecológico, havendo nítidas variações geográficas no respeitante quer às espécies isoladas quer à frequência do seu isolamento.

A infecção humana por micobactérias potencialmente patogénicas, que não são transmissíveis de Homem ao Homem, decorre do contacto com elementos do meio ambiente. O Quadro X (adaptado de 74, 101, 145, 158, 161, 162, 169, 184, 190, 213, 226, 227, 229, 254, 285, 286, 287, 288, 320), refere algumas das possíveis fontes de contágio.

O conhecimento da existência de uma resposta imunitária do hospedeiro humano a uma dada micobactéria possibilitaria diferenciar as situações de infecção das de colonização.

Os estudos efectuados com sensintinas — PPD's (Purified Protein Derivated) obtidos por metodologia semelhante à tuberculina (PPD obtido de *M. tuberculosis*) — de várias espécies, (*M. avium*, *M. gordonæ*, *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. scrofulaceum*, *M. ulcerans*, *M. xenopi*, *M. chelonæ*, *M. duvalii*, *M. flavescens*, *M. fortuitum*, *M. gilvum*, *M. neoaurum*, *M. nonchromogenicum* e *M. vaccae*) têm procurado conhecer a existência de uma resposta imunitária a micobactérias do meio ambiente (51, 260, 271, 273).

QUADRO IX  
FREQUÊNCIA DE DOENÇA POR M.N.T., MICOBACTÉRIAS  
NÃO TUBERCULOSAS, EM DOENTES COM SIDA, NOS E.U.A.  
E NUM HOSPITAL FRANCÊS

E.U.A. 1979 - 1987 tt SIDA n = 41 349 M.N.T. 2 269 (5,5%)		Hosp. C.B., Paris, França 1983 - 1986 tt SIDA n = 316 M.N.T. 43 (13,6%)	
<i>M. avium Complex</i>	96,1 %	<i>M. avium intracellulare</i>	76,7 %
<i>M. kansasii</i>	2,9 %	<i>M. xenopi</i>	11,6 %
<i>M. gordonæ</i>	0,6 %	<i>M. kansasii</i>	7,0 %
<i>M. fortuitum</i>	0,3 %	<i>M. gordonæ</i>	1 estirpe
<i>M. chelonæ</i>	0,3 %	<i>M. fortuitum</i>	1 estirpe
		<i>M. chelonæ</i>	1 estirpe
		<i>M. aurum</i>	1 estirpe
		<i>M. simiæ</i>	1 estirpe
		<i>M. terræ</i>	1 estirpe

QUADRO X  
MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS NO MEIO AMBIENTE

Agente	Água						Animais domésticos
	Solo	Vegetação	Rio/lago	Mar	Piscina	Potável	
<i>M. avium</i>	+	+	-	+	-	+	Aves
<i>M. intracellulare</i>	+	+	+	+	-	+	Aves
<i>M. scrofulaceum</i>	+	+	+	+	-	+	Suínos
<i>M. kansasii</i>	-	+	+	-	+	+	Bovinos, suínos
<i>M. xenopi</i>	+	+	+	-	-	+	Suínos
<i>M. marinum</i>	-	+	+	+	+	-	Peixes*
<i>M. ulcerans</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. fortuitum</i>	+	+	+	+	+	-	Bovinos, suínos
<i>M. chelonæ</i>	-	+	+	+	-	-	Bovinos, suínos
<i>M. hæmophilum</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. simiæ</i>	-	-	-	-	-	+	-
<i>M. szulgai</i>	-	-	-	-	+	-	-
<i>M. paratuberculosis</i>	-	-	-	-	-	-	Bovinos, caprinos
<i>M. asiaticum</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. malmoense</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. shimoidei</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. gordonæ</i>	+	+	+	+	+	+	-
<i>M. terræ</i>	+	+	+	+	+	-	-
<i>M. triviale</i>	+	+	+	-	-	-	-
<i>M. smegmatis</i>	+	+	+	+	+	-	-
<i>M. nonchromogenicum</i>	+	+	+	-	-	-	-
<i>M. thermoresistibile</i>	+	-	-	-	-	-	-
<i>M. flavescens</i>	+	+	+	+	+	-	-

\* De aquário.

Se foi possível demonstrar uma relação qualitativa e quantitativa entre a presença de certas micobactérias no meio ambiente e a resposta a testes cutâneos a sensitinas dessas mesmas micobactérias, não se obtiveram correlações lineares entre uma dada espécie e respectiva

sensitina<sup>(273)</sup>; reacções imunitária cruzadas, entre espécies micobacterianas<sup>(60)</sup> e entre estas e outras bactérias como *Nocardia*, *Corynebacterium* e *Rhodococcus*, constatadas *in vitro*<sup>(241, 242)</sup>, têm sido confirmadas no terreno<sup>(260)</sup>; a existência de correlações entre a sensibilidade à tuberculina

QUADRO XI  
ESPÉCIES MICOBACTERIANAS ISOLADAS EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS

Na pele sem lesões*	Nas fezes**
<i>M. avium-intracellulare</i>	<i>M. avium-intracellulare</i>
<i>M. terræ</i>	<i>M. malmoense</i>
<i>M. simiæ</i>	<i>M. simiæ</i>
<i>M. gordonæ</i>	<i>M. gordonæ</i>
<i>M. scrofulaceum</i>	
<i>M. szulgai</i>	
<i>M. flavescens</i>	
<i>M. fortuitum</i>	
<i>Micobactérias não identificadas de crescimento lento e rápido</i>	

\* Micobactérias isoladas em 29 % (85/291) dos indivíduos estudados.

\*\* Micobactérias isoladas em 52 % (26/50) dos indivíduos estudados.

e a sensibilidade a outras sensinitas micobacterianas, sendo a eficácia da vacinação pelo BCG inversamente proporcional à presença de M.N.T. no meio ambiente, foi evidenciada<sup>(260, 273)</sup>; no entanto, a resposta cutânea à sensitina de uma dada micobactéria não possibilita, face à multiplicidade de reacções cruzadas possíveis, a afirmação de infecção por essa micobactéria.

A acuidade do problema da diferenciação de colonização de infecção acentua-se face ao conhecimento da frequência e da multiplicidade de espécies micobacterianas isoladas do Homem saudável, quer da pele íntegra<sup>(250)</sup>, quer das fezes<sup>(230)</sup> (Quadro XI).

A possibilidade de conhecer uma resposta antigénica específica a uma dada micobactéria, dependerá do conhecimento de antígenos específicos para as diferentes espécies micobacterianas, do seu isolamento e da sua produção.

#### 1.4 Infecções por micobactérias em Portugal

Documentos históricos permitem afirmar a existência em Portugal, no século XII, de casos

de lepra<sup>(261)</sup>. A epidemia acompanhou naturalmente a evolução da situação epidemiológica europeia, regredindo a partir dos séculos XV ou XVI. No início deste século, embora não existindo então recenseamento, os doentes leproso portugueses eram estimados em cerca de 500<sup>(99)</sup>. Muitos viviam integrados na população exercendo uma actividade profissional<sup>(100)</sup>.

Uma política isolacionista dos doentes, ditando o seu internamento coercivo, foi estabelecida por decreto-lei, criando, em 1947, uma estrutura centralizada para combate à lepra em Portugal. Esta política, instaurada entre nós em flagrante contraste com as políticas sanitárias não isolacionistas então já correntes noutros países da Europa, veio a ser abolida apenas em 1976, embora desde a década de 60 a sua aplicação, porque chocante e não justificada, fosse escassa.

Actualmente os doentes dependem dos Serviços de Saúde da área da sua residência, existindo uma estrutura central com funções normativas no domínio da metodologia diagnóstica, da classificação das formas clínicas, do seguimento dos doentes e rastreio dos seus contactos, e dos esquemas terapêuticos básicos a

adoptar, providenciando formação técnico-científica, e assegurando a vigilância epidemiológica, mantendo actualizado um ficheiro central dos doentes de Hansen.

A epidemia de lepra encontra-se, em Portugal, em fase de regressão acentuada, sendo escasos os novos casos — 13 em 1984, 23 em 1985, 16 em 1986, 17 em 1987 e 12 em 1988<sup>(222)</sup>. Assim, a taxa de incidência foi neste último ano de 0,12 casos por 100 000 habitantes. A prevalência observada foi, em 1988, de 15,2 casos por 100 000 habitantes. No entanto a importância da doença é menor ao analisarmos os dados de 1987, ano em que foram referidos 1925 doentes, verificamos que apenas 9 %, 150 doentes, eram considerados clinicamente activos<sup>(221)</sup>. Compreende-se assim a diminuição de 19 % observada no número total de doentes entre 1987 e 1988: indivíduos clinicamente inactivos há longos anos foram excluídos do Ficheiro Nacional de doentes de Hansen em consequência de uma visão actual do conceito de doença. A elevada idade média dos doentes, 61,2 anos, e a predominância de formas multibacilares, 77,6 %, são indicadores epidemiológicos da próxima extinção da epidemia, resultado da melhoria sócio-económica da população, da melhor cobertura sanitária, da terapêutica múltipla.

Esta situação é concordante com a observada nos outros Países europeus em que a lepra, ou já se extinguiu, ou ainda persiste com uma baixa incidência anual, como a Espanha, a Itália, a Grécia e a Irlanda.

Contrastante é a situação que se verifica no domínio da tuberculose. Em 1987, Portugal apresenta a taxa de incidência de tuberculose mais elevada de entre os Países europeus de que obtivemos dados, com 69,3 casos por 100 000 habitantes, um valor quatro vezes superior à taxa média europeia (Quadro III).

A hoje reconhecida ineficácia da vacinação pelo BCG na diminuição da transmissão da tuberculose<sup>(275)</sup>, não explica a situação. Se compararmos a Noruega (vacinação pelo BCG obrigatória), a Holanda (vacinação pelo BCG inexistente) e Portugal no Quadro III, vemos que na Holanda a redução da taxa de incidência foi elevada, de 159,3 por 100 000 em 1950 para 19,7 por 100 000 em 1970, na Noruega foi de 93,4 para 13,8 casos por 100 000, enquanto em Portugal a diminuição da taxa de incidência foi muito escassa.

Uma estrutura de cuidados de Saúde vertical, centralizada, dispondo de meios para lutar contra

uma doença cujos doentes foram longos anos legalmente apoiados, e apesar do esforço de tantos profissionais de Saúde, foi incapaz de controlar a tuberculose em Portugal.

As desigualdades sociais têm uma menor relevância na lepra do que na tuberculose, sendo a grave situação epidémica que se observa entre nós resultante dos desníveis económicos e sociais que hoje persistem entre Portugal e a restante Europa? As estruturas de Saúde têm sofrido de inadequação face a uma doença de elevada contagiosidade? A elevada incidência de alcoolismo persistente na sociedade portuguesa é um factor a considerar? Quaisquer que sejam as respostas, uma enorme acção resta a desenvolver a fim de modificar, melhorando, procurando controlar, a epidemia de tuberculose em Portugal.

Pouco se conhece da ecologia das micobactérias não tuberculosas entre nós.

Os primeiros isolamentos, de *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium phlei* e de *Mycobacterium murium*, publicados em 1962 por H.L. David e M.O. Ramalho<sup>(77)</sup>, vão de par com os progressos então efectuados nos domínios da definição de novas espécies e da metodologia para a sua identificação.

Os dados actualmente existentes são respeitantes, apenas, aos isolamentos em produtos de doentes, quer como agentes de doença, quer como contaminantes. O Laboratório de Tuberculose do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, do Porto, isolou e identificou 8 espécies de micobactérias não tuberculosas, num total de 240 estirpes correspondendo a 3,4 % do total dos isolamentos efectuados entre 1981 e 1985<sup>(223)</sup>. No mesmo período, o Laboratoire de la Tuberculose et des Mycobactéries do Institut Pasteur, em Paris, recebeu, para identificação, estirpes de diversos Laboratórios da região de Lisboa, de entre as quais 28,2 % eram micobactérias não tuberculosas, de 10 espécies diferentes (H.L. David, comunicação pessoal). Esta percentagem, mais elevada, é compreensível, dado que em muitos casos as estirpes enviadas correspondiam a suspeitas de micobactérias não tuberculosas.

Estes elementos, detalhados no Quadro XII, são insuficientes para um conhecimento mínimo da ecologia das micobactérias não tuberculosas no País.

Desde o fim do século passado muitos médicos e investigadores portugueses têm trabalhado em Micobacteriologia, constituindo a tuberculose e a sua clínica, o tema da maioria das publicações. Sem menosprezo para qualquer autor, permito-me salientar alguns trabalhos científicos.

No âmbito da terapêutica da tuberculose, dois trabalhos: um, o «ensaio sobre os princípios do tratamento da tuberculose pulmonar e da luta contra a tuberculose, em especial na sua aplicação ao meio português, baseado nos resultados do tratamento médico prolongado de 600 doentes...», de Mário de Alemquer<sup>(4)</sup>; outro, de repercussão internacional, sobre o uso da cortisona no tratamento de certas formas de tuberculose, da autoria de Fernando da Fonseca<sup>(107)</sup>.

No domínio da Bacteriologia, o trabalho de E. Carvalho, estabelecendo as relações matemáticas que permitem calcular, ao exame directo no microscópio óptico, o número total de bacilos existentes num esfregaço, bem como a correlação entre o número de bacilos observados e o número de colónias do crescimento em cultura, publicado em 1932<sup>(42)</sup>, é ainda hoje correntemente citado.

Na História da lepra um português tem um lugar destacado: Zeferino Falcão. O seu sentido

QUADRO XII

ESPÉCIES DE MICOBACTÉRIAS TUBERCULOSAS E NÃO TUBERCULOSAS ISOLADAS E IDENTIFICADAS NO INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DR. RICARDO JORGE, LABORATÓRIO DE TUBERCULOSE DO PORTO (Directora: Dra. M.F. Pereira), E ESPÉCIES ISOLADAS EM PORTUGAL EM DIVERSOS LABORATÓRIOS E ENVIADAS AO LABORATOIRE DE TUBERCULOSE ET DES MYCOBACTÉRIES DO INSTITUT PASTEUR, PARIS (Director: Prof. Dr. H.L. David), PARA IDENTIFICAÇÃO, DURANTE CINCO ANOS — 1981 A 1985

INSA, PORTO			INST. PASTEUR, PARIS		
	n	%		n	%
Total	7087		Total	227	
<i>M. tuberculosis</i>	6804	96,0	<i>M. tuberculosis</i>	162	71,4
BCG	43	0,6	<i>M. africanum</i>	1	0,4
<b>Micob. não Tub.</b>	240	3,4	<b>Micob. não Tub.</b>	64	28,2
<i>M. avium-intracell.</i>	29	12,0	<i>M. avium-intracell.</i>	1	1,6
<i>M. fortuitum</i>	67	27,9	<i>M. fortuitum</i>	18	28,1
<i>M. kansasii</i>	8	3,3			
<i>M. chelonæ</i>	10	4,1	<i>M. chelonæ</i>	4	6,3
<i>M. gordonæ</i>	29	12,0	<i>M. gordonæ</i>	19	29,7
«Radish» group	31	12,9	<i>M. terræ</i>	10	15,6
<i>M. aurum</i>	16	6,6			
<i>M. flavescens</i>	16	6,6	<i>M. marinum</i>	3	4,7
Não Classificadas	34	14,1	<i>M. xenopi</i>	1	1,6
			<i>M. scrofulaceum</i>	1	1,6
			<i>M. simiæ</i>	1	1,6
			<i>M. triviale</i>	1	1,6
			Escotocromogénicas de crescimento rápido	5	7,8

de observação clínica no estudo cuidado dos doentes leproso permitiu-lhe, no Congresso Internacional de Dermatologia que decorreu em Viena de 5 a 10 de Setembro de 1892, para além de uma comunicação sobre a lepra em Portugal<sup>(98)</sup>, afirmar que «o primeiro sintoma de lepra é a rinite, e que frequentemente a perfuração do septo nasal é o primeiro e único sintoma de doença»<sup>(264)</sup>.

Falcão fundamentou o conceito de transmissão aérea da lepra a partir da mucosa nasal dos doentes leproso.

## 2. Glicolípidos fenólicos

De entre as moléculas de superfície das micobactérias, que são apresentadas ao hospedeiro e presumivelmente por ele reconhecidas, as mais estudadas têm sido os lípidos. As micobactérias distinguem-se por produzirem compostos lipídicos únicos, que participam da estrutura e funções da parede e das membranas celulares<sup>(12, 13)</sup>.

De entre todos os lípidos micobacterianos, têm funções antigénicas os fosfolípidos de manose e os glicolípidos.

Os glicolípidos antigénicos conhecidos pertencem a três classes, os glicopeptidolípidos, os glicolípidos derivados da trealose e os glicolípidos fenólicos<sup>(31)</sup>.

Os glicopeptidolípidos têm um carácter imunogénico e antigénico; um possível papel protector para a sobrevivência da bactéria no interior da célula do hospedeiro, que seria ilustrado quer na imagem ultraestrutural por fibrilhas que rodeiam a bactéria e que se espessam quando da fagocitose por um macrófago<sup>(16, 89)</sup>, quer, segundo alguns autores, pela capacidade de serem receptores de micobacteriofagos<sup>(116, 127)</sup>, foi recentemente negado<sup>(234)</sup>.

Brennan<sup>(27, 28, 29)</sup> mostrou que os antigénios de superfície responsáveis pela serotipagem dos 31 serotipos do complexo MAIS (*Mycobacterium avium-intracellulare-scrofulaceum*), demonstrados por Schaeffer<sup>(256, 257)</sup>, são derivados do anteriormente denominado micosido C, são glicopeptidolípidos. Actualmente, é possível a identificação e a classificação de todos os membros do complexo MAIS, a partir das características físicas dos glicopeptidolípidos, seus constituintes, por cromatografia de camada fina<sup>(284)</sup>.

A disponibilidade de anticorpos monoclonais contra os epitopos, contra as unidades oligoglicosídicas específicas da espécie e do tipo, possibilitam a classificação de todas as culturas

de *M. avium*<sup>(27, 31, 54, 55, 193)</sup>, o que releva de particular interesse face à elevada incidência de infecções que actualmente se observam, em particular em doentes com SIDA<sup>(7, 141, 228)</sup>.

Os glicolípidos derivados da trealose são uma família composta pelo «cord factor», os sulfatidos e os lipooligosacarídeos.

O «cord factor», dimicolato de trealose, encontra-se em todas as micobactérias, é imunostimulante, indutor de granulomas<sup>(20)</sup>, e tem, quando purificado, capacidade antigénica, sendo inibidor da fosforilização oxidativa<sup>(12)</sup>.

Os sulfatidos, esteres de trealose 2-sulfato e ácidos ftioceránicos, são elementos da virulência das micobactérias, quer por potenciarem a acção tóxica do «cord factor», quer por inibirem a fusão fagossoma-lisossoma nos macrófagos hospedeiros.

Os lipooligosacarídeos com trealose encontrados em micobactérias, *M. smegmatis*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. gordonæ*, *M. xenopi*, *M. malmoense*, *M. szulgai*, têm uma porção osídica, de estrutura própria a cada espécie, com, capacidade antigénica específica<sup>(31)</sup>.

Actualmente, o mais importante dos grupos de glicolípidos é o composto pelos glicolípidos fenólicos (PGL). Anteriormente denominados de glicosidos do fenol-ftiocerol dimococerosato, os micosidos foram inicialmente descritos por D. W. Smith<sup>(266)</sup> em 1960 e por Gatambide-Ogdier em 1965<sup>(120)</sup>; a partir de *M. kansasii*, isolaram um glicolípido específico, o micosido A, determinaram a composição da cadeia glucídica e as ligações a um grupo fenólico por um oligoglicosil, bem como a composição do trisacarídeo: 2,4-di-O-metil-ramnopiranosido, 2-O-metilfucopiranosido, e 2-O-metil-ramnopiranosido.

No entanto, os PGL, definidos como sendo «glicolípidos específicos de tipo, de origem bacteriana»<sup>(266)</sup>, apenas voltaram a ser objecto de particular atenção a partir da descoberta de um glicolípido fenólico específico e com elevada antigenicidade de *M. lepræ*, por Hunter, Barrow e Brennan, em 1981<sup>(28, 142)</sup>.

A porção sacarídica deste PGL, denominado PGL-I, foi determinada como sendo um trisacarídeo característico, composto por 3,6-di-O-metil-D-glucopiranosose, 2,3-di-O-metil-L-ramnopiranosose e 3-O-metil-L-ramnopiranosose<sup>(29, 143)</sup>. Posteriormente, foram também descritos dois outros PGL menores de *M. lepræ*, denominados PGL-II e PGL-III, diferindo do PGL-I pela ausência de um grupo O-CH<sub>3</sub> no C-2 da penúltima ramnose, no PGL-II, e pela ausência de um grupo O-CH<sub>3</sub> em C-3 da glucose distal, no PGL-III<sup>(114, 144)</sup>. O PGL-I tem propriedades antigénicas e a possibilidade de

detecção de anticorpos anti-PGL no soro de doentes com lepra foi demonstrada<sup>(33, 57, 143)</sup>. No entanto, os métodos serológicos habituais revelaram-se inadequados face a esta molécula hidrofoba<sup>(142)</sup>, pelo que se recorreu à incorporação do PGL-I em liposomas<sup>(28)</sup> ou à adaptação do método E.L.I.S.A.<sup>(326)</sup>.

As propriedades antigénicas do PGL-I são inerentes à porção osídica do glicolípido fenólico, a qual foi, recentemente, obtida por síntese<sup>(114, 115)</sup>.

A atenção suscitada pelo PGL-I levou a um novo interesse pelos micosidos já conhecidos, e à procura de outros PGL específicos de outras micobactérias.

Puzo e colaboradores<sup>(108, 109)</sup> demonstraram, utilizando novas técnicas, que a porção sacarídica do micosido A, de *M. kansasii*, era um tetrasacarido e não um trisacarido como anteriormente descrito por MacLennon e colaboradores em 1961<sup>(189)</sup>, por Gastambier-Odier em 1970<sup>(120, 121, 122)</sup> e por Brennan e colaboradores em 1981<sup>(142, 143)</sup>.

O tetrasacarido tem como composição: 2,6-dideoxi-4-O-Me-D-arabinohexopiranosil; 2-O-Me-L-Fucopiranosido; 2-O-Me-L-ramnopiranosido; 2,4-di-O-Me-L-ramnopiranosido.

O micosido A; agora denominado de PGL-KI, revela-se como específico: um antisoro de coelho não reage com extractos de 23 outras espécies micobacterianas, reage com o extracto de *M. gastri*, e reage com 100% das estirpes de *M. kansasii* testadas<sup>(215, 216)</sup>.

O micosido G, isolado em 1965 a partir de *M. marinum*, apresenta um monosacarido, 3-O-metil-L-ramnose, na sua porção osídica<sup>(123, 253)</sup>. Cruoud e colaboradores mostraram que existem outros glicolípidos, sendo a fracção G 5 muito imunogénica para o coelho, e que, embora não existindo na estirpe padrão de *M. marinum*, o micosido G está presente em todas as estirpes estudadas, cujos extractos reagiram com o antisoro obtido no coelho<sup>(68)</sup>.

O micosido B, característico de *M. bovis*, foi isolado em 1957 por Smith e colaboradores e contém, à semelhança do micosido G, apenas um componente na sua fracção sacarídica, descrita como sendo 2-O-metil-ramnose<sup>(83, 266)</sup>. Recentemente, foi referido que o soro de animais infectados por *M. bovis* reagia com o micosido B (P.J. Brennan, comunicação pessoal), e Daffé redefiniu a estrutura do micosido B, afirmando-a como 2-O-metil-a-L-ramnosildacilfenol-ftiocerol<sup>(72)</sup>.

A partir da estirpe de *M. tuberculosis* denominada «Canetti», Daffé e colaboradores, em 1987, extraíram e identificaram um novo PGL, o qual foi denominado PGL-Tb-I<sup>(72)</sup>. A sua porção osídica é constituída por um trisacarido, composto por 2-O-metil-a-L-ramnose, ramnose e 2,3,4-tri-O-metil-fucose. De assinalar a existência de um açúcar comum ao do micosido B, lembrando a proximidade taxonómica destas duas espécies. Papa e colaboradores mostraram a especificidade do PGL-Tb-I, cujo anti-soro obtido no coelho, reagiu com todos os extractos de *M. tuberculosis* estudados, com excepção da estirpe padrão, H

### QUADRO XIII

#### ESTRUTURA QUÍMICA DOS GLICOLÍPIDOS FENÓLICOS MICOBACTERIANOS CONHECIDOS

Espécies	Glicolípidos fenólicos	
	CFT	Açúcares
<i>M. marinum</i>	+	3-O-Me-Rha
<i>M. bovis</i>	+	2-O-Me- L-Rha
<i>M. lepræ</i>	+	3-O-Me-Rha; 2,3-di-O-Me-Rha; 3,6-di-O-Me-Glc
<i>M. kansasii</i>	+	2-O-Me-Rha; 2,4-di-O-Me-Rha; 2-O-Me-4-O-Ac-Fuc; 2,6-dideoxihexose
<i>M. tuberculosis</i>	+	2-O-Me-Rha; Rha; 2,3,4-tri-O-Me-Fuc

CFT: dimicocerosato de fenolftiocerol.

Nota: *M. gastri* contém um PGL de estrutura semelhante à de *M. kansasii*.

37RV, e não reagiu com extractos de 18 outras espécies micobacterianas, tendo havido no entanto reacção com extractos de *M. bovis* BCG, *M. xenopi*, *M. flavescens*, *M. fallax* e *M. terræ* (217, 218), reacções que estudos recentes não confirmaram (Papa, F. e H.L. David, comunicação pessoal).

Já em 1988, Puzo e colaboradores confirmaram que *M. kansasii* e *M. gastri* produzem o mesmo PGL (292).

O Quadro XIII apresenta, de forma esquemática, os PGL conhecidos.

### 3. Material e métodos

#### 3.1 População

Foram objecto de estudo soros de doentes com lepra, com tuberculose, indivíduos saudáveis contactantes de doentes com lepra e indivíduos sem doença aparente, saudáveis.

##### 3.1.1 Doentes com lepra

Do Ficheiro Central de Doentes de Hansen, da Direcção Geral de Cuidados de Saúde Primários, DGCSP, foram constituídos, em 1986, quatro grupos de população compostos, respectivamente, por:

- indivíduos com formas multibacilares diagnosticados e tendo iniciado terapêutica há menos de 5 anos;
- indivíduos com formas multibacilares diagnosticados e tendo iniciado terapêutica há mais de 5 anos;
- indivíduos com formas paucibacilares diagnosticados e tendo iniciado terapêutica há menos de 5 anos;
- indivíduos com formas paucibacilares diagnosticados e tendo iniciado terapêutica há mais de 5 anos.

Consideraram-se formas multibacilares as formas de lepra classificadas como lepromatosas, LL, e borderline lepromatosa, BL, e como formas paucibacilares as formas tuberculoides, TT, borderline tuberculoides, BT e, de entre os doentes classificados como tendo uma forma indeterminada, I, os lepromino positivos.

De cada uma destas quatro populações foram constituídas duas amostras, por tiragem à sorte, utilizando uma tabela de números aleatórios, uma de 50 indivíduos, e uma segunda de 5 indivíduos,

sendo a primeira a amostra base e a segunda para substituição dos não respondentes.

Constituídas as amostras, foram contactados os responsáveis distritais dos doentes de Hansen a quem, uma vez informados dos objectivos do estudo e do apoio concedido ao mesmo pela DGCSP, foi solicitada a convocação dos doentes integrantes das amostras residindo no respectivo distrito. Uma calendarização foi estabelecida a nível nacional, o que nos permitiu estar presente junto do médico assistente quando da comparência do doente em resposta à convocação; informado o doente, foi-lhe solicitada a participação no estudo e a consequente colheita imediata de sangue. Em alguns distritos, os responsáveis pela doença de Hansen, para além de promoverem a convocação dos doentes, procederam às colheitas de sangue.

No respeitante à composição final dos grupos, os grupos dos doentes com lepra com formas multibacilares diagnosticados e tendo iniciado terapêutica há menos de 5 anos, L/M-5, e dos doentes com formas multibacilares diagnosticados e tendo iniciado terapêutica há mais de 5 anos, L/M+5, ficaram constituídos por 50 indivíduos cada; o grupo dos doentes com formas paucibacilares diagnosticados e tendo iniciado terapêutica há menos de 5 anos, L/P-5, por 41 e o grupo com formas paucibacilares diagnosticados e tendo iniciado terapêutica há mais de 5 anos, L/P+5, também por 41 doentes. Em relação a estes dois últimos grupos, apesar dos 5 doentes suplementares previstos para a substituição dos não respondentes, não foi possível obter os 50 doentes pretendidos. As não respostas às convocações (embora em múltiplos casos nos tenhamos deslocado à residência do doente) devem-se, em nosso entender, principalmente ao facto de serem doentes com formas minor da doença, sem sintomatologia, alguns antigos, e que recebendo a medicação pelo Correio, não valorizam a observação pelo médico assistente.

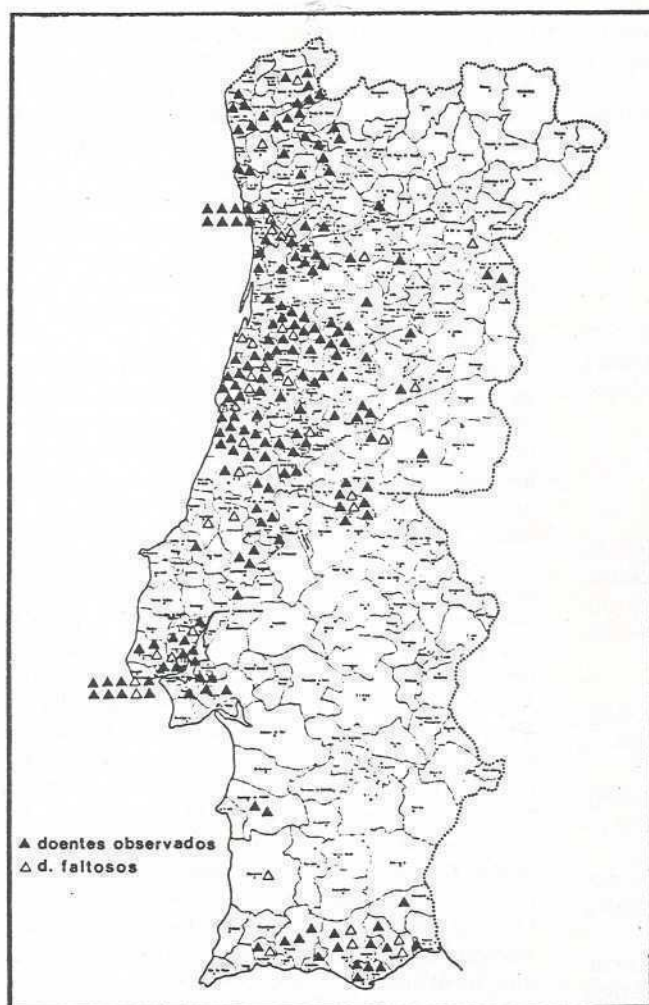
O mapa da Figura 3 mostra a distribuição a nível nacional dos doentes com lepra integrantes do estudo, o Quadro XIV apresenta a distribuição por sexos e grupos etários e o Quadro XV apresenta dados clínicos, bacteriológicos e a resposta à lepromina dos doentes.

##### 3.1.2 Contactantes de doentes com lepra

Foram definidos a priori dois grupos de contactantes: um, C-L/M-5, composto de 50 indivíduos,

FIGURA 3

LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA A NÍVEL NACIONAL DOS DOENTES COM LEpra INTEGRANTES DO ESTUDO, DOS OBSERVADOS E DOS NÃO RESPONDENTES



## QUADRO XIV

## DISTRIBUIÇÃO POR GRUPOS ETÁRIOS E POR SEXOS DOS DOENTES COM LEPROA INTEGRANDO OS GRUPOS L/M-5, L/M+5, L/P-5 E L/P+5

Idade	L/M-5 n = 50		L/M+5 n = 50		L/P-5 n = 41		L/P+5 n = 41	
	F	M	F	M	F	M	F	M
< 15	—	—	—	—	—	—	—	—
15-29	2	2	—	—	—	1	1	—
30-39	3	4	3	3	—	1	—	1
40-49	—	8	3	4	2	4	1	3
50-59	5	14	3	9	6	8	2	5
≥ 60	3	8	11	14	9	9	16	12
Total	14	36	20	30	17	24	20	21

## QUADRO XV

## CARACTERÍSTICAS DOS DOENTES DE HANSEN INTEGRANTES DOS GRUPOS L/M-5, L/M+5, L/P-5 E L/P+5 NO RESPEITANTE À SUA SITUAÇÃO CLÍNICA E BACTERIOLÓGICA, ACTIVOS E INACTIVOS, E À RESPOSTA AO TESTE DE LEPROMINA

Classif. de Jopling	n =	L/M-5		L/M+5		L/P-5			L/P+5			Total
		LL	BL	LL	BL	I	BT	TT	I	BT	TT	
		39	12	45	4	8	13	20	—	5	36	182
Activo		31	11	2	1	2	3	2	—	—	—	52
Inactivo		8	1	43	3	6	10	18	—	5	36	130
Lepromino												
Positivo		0	0	0	0	8	13	20	—	5	36	82
Negativo		39	12	45	4	0	0	0	—	0	0	100

habitando há pelo menos dois anos com um doente com uma forma multibacilar recente, integrante do grupo L/M-5; outro, C-L/P-5, composto de 50 indivíduos, habitando há pelo menos dois anos com um doente com uma forma paucibacilar recente, integrante do grupo L/P-5.

Para a constituição dos grupos de Contactantes, seguiu-se como metodologia o convite à

cultura, em curso de tratamento, (Tub); nenhum dos doentes se encontrava submetido ou tinha sido submetido a qualquer terapêutica imunossupressora ou com corticoterapia. Os doentes escolhidos encontram-se quer em regime ambulatório (S. de Doenças Pulmonares, Centro de Saúde do Lumiar, Consulta Externa do Serviço de Doenças Pulmonares do H. de Santa Maria,

**QUADRO XVI**  
**DISTRIBUIÇÃO POR GRUPOS ETÁRIOS E POR SEXOS DOS CONTACTANTES DOS DOENTES COM LEpra INTEGRANDO OS GRUPOS C-L/M-5 E C-L/P-5**

Idade	C-L/M-5		C-L/P-5	
	F	M	F	M
< 15	2	1	1	—
15-19	1	—	1	—
20-29	2	3	5	1
30-39	5	4	3	1
40-49	6	1	2	3
50-59	1	4	2	—
≥ 60	3	—	4	—
Total	20	13	18	6

participação no estudo aos acompanhantes dos doentes dos grupos L/M-5 e L/P-5, quando da observação destes, no caso de obedecerem aos critérios definidos, permitindo de imediato a colheita de sangue. Dado que muitos doentes se apresentaram à convocação não acompanhados, e também porque não foi fácil a sensibilização dos acompanhantes, os grupos ficaram constituídos por 33 indivíduos, grupo C/M-5 e por 24 indivíduos, o grupo C/P-5.

O Quadro XVI apresenta a composição por grupos etários e por sexos dos dois grupos de Contactantes de doentes com lepra.

### 3.1.3 Doentes com tuberculose

Constituído por 50 indivíduos, com formas de tuberculose confirmadas bacteriologicamente por

**QUADRO XVII**  
**DISTRIBUIÇÃO POR GRUPOS ETÁRIOS E POR SEXOS DOS DOENTES COM TUBERCULOSE INTEGRANDO O GRUPO TUB**

Idade	Tub n = 50	
	F	M
< 15	—	2
15-19	1	2
20-29	7	8
30-39	3	13
40-49	4	3
50-59	2	3
≥ 60	—	2
Total	17	33

em Lisboa), quer hospitalizados (Serviço de Doenças Pulmonares do H. de Pulido Valente, Serviço de Pediatria do H. de Santa Maria, em Lisboa e Serviço de Doenças Infecto-Contagiosas do H. de S. João, Porto); a escolha foi aleatória: por ordem de inscrição na Consulta, nos dias da nossa ida às Consultas Externas (sem informação prévia dos seus responsáveis), sendo os doentes convidados a participar no estudo e a permitir a imediata colheita de sangue (não houve qualquer escusa); pela integração no estudo dos doentes hospitalizados que obedeciam às condições necessárias, quando da nossa ida aos Serviços hospitalares referidos.

O Quadro XVII apresenta a distribuição por sexos e grupos etários dos doentes.

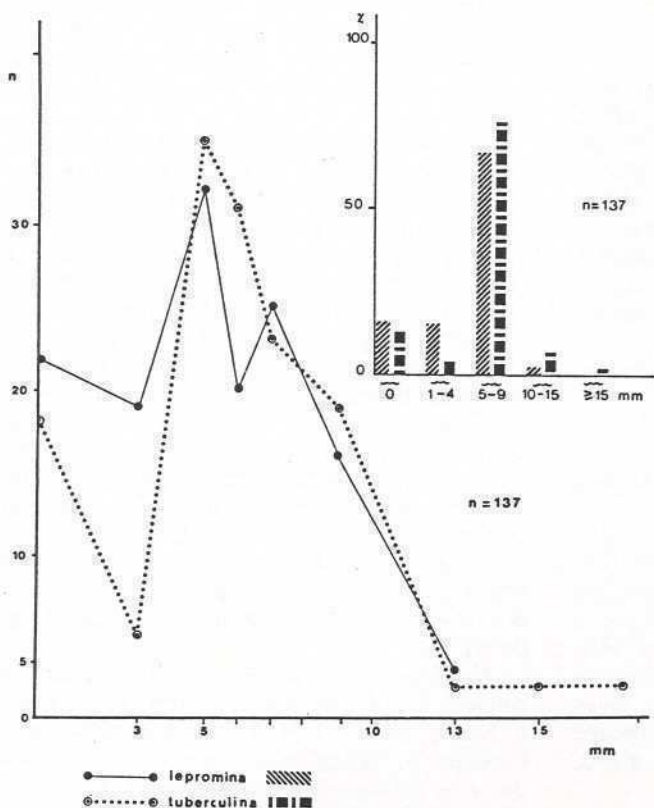
### 3.1.4 Indivíduos saudáveis, grupo testemunha

Definimos como indivíduos saudáveis (Test) aqueles que não referiam história de qualquer doença crônica-degenerativa, não apresentavam qualquer afecção aguda, não referiam tuberculose nos dois anos anteriores, nem tinham feito uma terapêutica antibiótica, imunossupressora ou corticoterapia

nos dois meses antecedentes à recolha de sangue. O grupo foi constituído por trabalhadores de Saúde, professores do Ensino Preparatório e por operários que responderam positivamente à nossa solicitação.

A todos os 137 indivíduos foi feita uma prova de tuberculina, com 5 U. de PPD (Lab. Berna, Suíça), com leitura às 48 horas, e uma prova de

**FIGURA 4**  
**RESPOSTAS ÀS PROVAS DE TUBERCULINA E DE LEPRIMINA OBSERVADAS NOS INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS INTEGRANTES DO GRUPO TEST. NÚMERO DE RESPOSTAS E PORCENTAGEM DE RESPOSTAS SEGUNDO A DIMENSÃO DAS REACÇÕES CUTÂNEAS**



QUADRO XVIII  
DISTRIBUIÇÃO POR GRUPOS  
ETÁRIOS E POR SEXOS DOS  
INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS INTE-  
GRANDO O GRUPO TEST

Idade	Test n = 137	
	F	M
< 15	—	—
15-19	—	—
20-29	12	7
30-39	21	25
40-49	31	19
50-59	8	10
≥ 60	2	2
Total	74	63

lepromina (Ministério da Saúde, Portugal), com leitura aos 21 dias, momento em que foi feita a colheita de sangue. Os critérios de leitura foram, respectivamente, o da American Thoracic Society<sup>(5)</sup>, para o Mantoux, e o expresso por Ridley e Jopling<sup>(244)</sup> para a prova de lepromina. Os respectivos resultados, mostrando a resposta imunitária celular do grupo dos indivíduos saudáveis no momento da sua participação no estudo, apresentam-se na Figura 4.

O Quadro XVIII apresenta a população por grupos etários e por sexos.

### 3.1.5 Colheita, transporte e conservação dos soros

O sangue, colhido por punção venosa, foi conservado a 4°C, em caixa frigorífica até ao Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge; a centrifugação e obtenção do soro não ocorreu para além de oito dias após a colheita; cada soro foi dividido em dois tubos, sendo um deles congelado a 20°C negativos, e o outro, tratado com azido de sódio, 1/1000, e conservado a 4°C.

### 3.2 Antígenios

O PGL-I, de *M. lepræ*, foi fornecido por R. J. W. Rees, (IMMLEP) após solicitação à Organização

Mundial da Saúde; os Micosidos B e G, e o PGL-K-I, respectivamente extraídos e purificados a partir das estirpes de *M. bovis* BCG CIPT-14-004-0001, *M. marinum* CIPT 14-012-0006 e *M. kansasii* CIPT-14-011-0001 (=ATCC12478) por F. Papa, foram-nos gentilmente cedidos por H. L. David (Service de la Tuberculose et des Mycobactéries, Institut Pasteur, Paris, França); o PGL-Tb-I, de *M. tuberculosis*, extraído a partir das estirpes Canetti CIPT 14-001-00059, 00060, 00061 e 00062<sup>(71)</sup>, foi-nos oferecido por M. Daffé e Colegas (Centre de Recherche de Biochimie et de Génétiques Cellulaires du C.N.R.S., Toulouse, França).

### 3.3 Metodologia Laboratorial

Utilizamos a técnica denominada E.L.I.S.A., Enzyme-linked immunosorbent assay, por ser correntemente utilizada para afirmar a presença de anticorpos no soro, quer em biologia clínica, quer em investigação, dado ser uma técnica simples, rápida, pouco dispendiosa, sensível e quantitativa<sup>(95, 291)</sup>.

Esta técnica já tinha sido anteriormente utilizada por diferentes autores para o PGL-I; o problema maior que punha era resultante da elevada apolaridade do glicolípido fenólico, que dificulta a sua aderência à placa. Três métodos foram seguidos: o da utilização de um solvente, na sequência dos trabalhos de Reggiardo, Vasquez e Schnaper<sup>(237)</sup> com outros lípidos micobacterianos, seja cloroformio/metanol (2:1 por volume) (Brett e col.<sup>(33)</sup>) seja o hexano, (Hunter, Fujiwara e Brennan<sup>(143)</sup>); o da deacetilação, usado por Young e Buchanan<sup>(326)</sup>, procurando obter uma melhor polaridade do antígeno; e o da sonicação do PGL, após suspensão em tampão carbonato-bicarbonato (Cho e col.<sup>(57)</sup>).

Face aos resultados expressos por estes e outros autores<sup>(194, 255, 323)</sup>, optámos pela solução dos diferentes PGL em hexano, na concentração de 5 µg/ml.

No respeitante à diluição do soro, 1/250, e à concentração de antígeno a utilizar, para o PGL-I, 125 ng, para o PGL-K-I, o micosido G, e o micosido B, 250 ng cada, seguimos os valores descritos na literatura por diferentes autores<sup>(57, 194, 215, 326)</sup>. Para o PGL-Tb-I, a ser usado pela primeira vez, efectuamos testes E.L.I.S.A., com a metodologia adiante descrita em pormenor, usando, com uma mesma concentração de antígeno, uma série de crescentes diluições de um

soro seleccionado, e com uma mesma concentração do soro seleccionado, crescentes quantidades de antigénio. A diluição óptima do soro revelou-se ser de 1/250, e a quantidade ideal de antigénio de 250 ng de PGL-Tb-I<sup>(281)</sup>.

Assim, os testes E.L.I.S.A. foram efectuados como segue:

- 1 — os PGL, foram dissolvidos em hexano, nas concentrações atrás referidas e colocadas nos poços das placas (Luxlon, de CML, Nemours, França), que seccaram a 37 °C durante 12 horas;
- 2 — a saturação foi feita com solução de albumina sérica bovina (BSA) em tampão salino de fosfato (PBS) a 5 %, 100µl por poço, sendo as placas cobertas com folha aderente (Flow Lab., E.U.A.), durante duas horas, a 37 °C;
- 3 — após quatro lavagens com PBS, 100µl de soro diluído a 1/250 em PBS foi colocado em cada poço, e mantido, sob folha aderente, a 37 °C, durante 2 horas;
- 4 — depois de 4 novas lavagens com PBS, foi introduzido em cada poço, 100µl de conjugado, imunoglobulina M anti-humana de cabra, conjugada com β-galactosidase, diluída a 1/1000 em PBS, com pH 7.4, conforme as instruções do fabricante (Lab. Biosis, Compiègne, França), que se manteve durante duas horas, a 37 °C, sob folha aderente;
- 5 — feitas 4 novas lavagens com PBS, foi adicionado a cada poço 100µl de substrato [orto-nitrofenil β-galactopiranoside (Merck), 0,8 µg/ml, e β-mercaptoetanol, 6 µl/ml, dissolvidos em tampão (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1 M, pH 7, MgSO<sub>4</sub> 1 mM, MnSO<sub>4</sub> 2 mM, Mg titriplex 2 mM)], permanecendo as placas, sob folha aderente, 2 horas a 37 °C;
- 6 — a leitura foi então feita, num espectrofotómetro a 414 nm (Titertek Multiscan, Lab. Flow, E.U.A.).  
O valor retido da leitura óptica, Δ414, foi a diferença entre o resultado da leitura observado num poço com antigénio e a observada para o mesmo soro num poço sem antigénio, a multiplicar pelo resultado da razão de 1.0 pelo valor da leitura do testemunho de coloração positivo.  
O teste E.L.I.S.A. foi feito em duplicado para cada soro e cada um dos 5 anti-

génios. Optámos, sistematicamente, pelo pelo menor dos valores obtidos. Nos casos, pouco frequentes, de disparidade entre os dois resultados observados para um dado soro e um determinado antigénio foi feito um terceiro teste.

### 3.4 Estatística

Os cálculos estatísticos foram feitos utilizando o programa Statworks (Data Metrics Inc., Philadelphia, U.S.A.) em Apple Macintosh.

## 4. Resultados

### 4.1 Resposta aos antigénios homólogos

#### 4.1.1 Nos doentes com lepra

A definição de um limiar de positividade para o teste E.L.I.S.A. utilizando como antigénio o PGL-I nas condições técnicas atrás referidas, foi obtido pela comparação das respostas imunogénicas do grupo testemunha e do grupo dos doentes multibacilares com diagnóstico há menos de 5 anos, L/M-5. A Figura 5 apresenta os resultados obtidos, distinguindo-se com clareza duas populações distintas; foi assim determinado como limiar de positividade o valor de Δ414 0,100.

A Figura 6 permite visualizar o conjunto de resultados obtidos nos quatro grupos de doentes com lepra, L/M-5, L/M+5, L/P-5 e L/P+5 comparados com os do grupo testemunha Test; a média e o desvio padrão, a positividade e a negatividade, a sensibilidade e a especificidade observadas em cada grupo são detalhadas no Quadro XIX.

Uma primeira leitura evidencia um valor médio superior ao limiar de positividade nos grupos L/M-5, L/M+5 e L/P-5, observando-se uma forte resposta antigénica no grupo L/M-5, cerca de três vezes e meia superior ao valor limite de positividade; é também clara a menor resposta imunitária ao antigénio PGL-I dos doentes integrando o grupo L/P-5, quando comparada com a dos grupos multibacilares, com um valor médio igual a cerca de 50 % do menor daqueles, se bem que ainda positivo.

Estes três grupos apresentam valores médios significativamente diferentes do ponto de vista estatístico dos obtidos no grupo Test; já no grupo

QUADRO XIX

MÉDIA E DESVIO PADRÃO, POSITIVIDADE ( $\Delta 414 \geq 0,100$ ) E NEGATIVIDADE ( $\Delta 414 < 0,100$ ), SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE, OBSERVADOS EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM Ig M AO ANTIGÊNIO PGL-I NOS SOROS DOS DOENTES DOS GRUPOS L/M-5, L/M+5, L/P-5 E L/P+5, E NOS SOROS DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST

PGL-I Teste E.L.I.S.A.	L/M-5 n = 50	L/M+5 n = 50	L/P-5 n = 41	L/P+5 n = 41	Test n = 137
$\Delta 414$ média	0,354 <sup>a</sup>	0,265 <sup>b</sup>	0,142 <sup>c</sup>	0,053 <sup>d</sup>	0,0452 <sup>e</sup>
d. padrão	0,302	0,283	0,223	0,076	0,0611
Positivo/negativo	48/2	29/21	15/26	8/33	13/124
Sensibilidade	96,0 %	58,0 %	36,6 %	19,5 %	
Especificidade	90,5 %	90,5 %	90,5 %	90,5 %	

<sup>a, b e c</sup> — Diferenças estatisticamente significativas em relação a <sup>e</sup> (Teste de Student,  $s = 0,000$ ,  $s = 0,000$  e  $s = 0,000$ ); <sup>d</sup> não difere estatisticamente de <sup>e</sup> (T. de Student,  $s = 0,516$ ).

L/P+5 foi obtida uma média de resposta que é nitidamente negativa, aproximadamente 50 % do limite de positividade, e que não difere estatisticamente de forma significativa do valor do grupo Test.

A leitura dos resultados obtidos, caso a caso, e expressa em casos com resposta positiva e casos com resposta negativa ao teste E.L.I.S.A., mostra uma diferente clivagem entre os quatro grupos de doentes leprosos. Assim, apenas nos grupos multibacilares se observou uma maioria de resultados positivos, contrariamente aos grupos paucibacilares; mau grado apresentar um valor médio de resultados positivo, no grupo L/P-5 menos de metade dos doentes têm uma resposta positiva. Os valores de sensibilidade e de especificidade, apresentados no Quadro XIX, evidenciam a valorização das respostas positivas e negativas, tendo em conta os resultados do grupo testemunha e a importância dos resultados falsamente positivos nele observados.

Salienta-se a elevada sensibilidade observada no teste, quando efectuado em doentes de lepra com formas multibacilares recentes.

A situação clínica dos doentes integrando cada um dos grupos multibacilares, L/M-5 e L/M+5 e paucibacilares, L/P-5 e L/P+5 não é semelhante:

- a) por integrarem, como referido em Material e Métodos, indivíduos com formas clínicas diferentes de lepra, segundo a classifica-

ção de Jopling, doentes LL, do polo lepromatoso e doentes BL, borderline lepromatosos, nos grupos L/M-5 e L/M+5 e formas BB, borderline puras, I, indeterminadas, BT, borderline tuberculoideas, e TT, polares tuberculoideas, nos grupos L/P-5 e L/P+5;

- b) por os grupos dos doentes multibacilares e paucibacilares integrarem doentes considerados clinicamente activos e outros como inactivos, classificação que nas formas multibacilares corresponde à afirmação bacteriológica da presença de bacilos de Hansen no muco nasal e/ou no exsudado de lesões cutâneas, e nas formas paucibacilares ao critério do médico responsável como resultado da avaliação das manifestações clínicas da doença;
- c) por haver doentes submetidos a diferentes regimes terapêuticos, basicamente doentes em terapêutica múltipla, DDS+CLF ou DDS+CLF+RIF, em monoterapia, DDS, e doentes apenas em observação, sem terapêutica.

Os resultados observados segundo as formas clínicas integrantes da classificação de Jopling, atrás referidas em a), são presentes no Quadro XX. Salienta-se a mais forte resposta antigénica observada nas formas multibacilares, LL e BL, e a ausência de uma diferença estatisticamente significativa entre resultados obtidos nos soros

FIGURA 5  
RESPOSTA ANTIGÊNICA EM Ig M, EM TESTE E.L.I.S.A.,  
OBSERVADA NO SORO DOS DOENTES DE LEPROSA INTE-  
GRANDO O GRUPO L/M-5 E NOS SOROS DOS INDIVÍDUOS  
DO GRUPO TEST, AO PGL-I

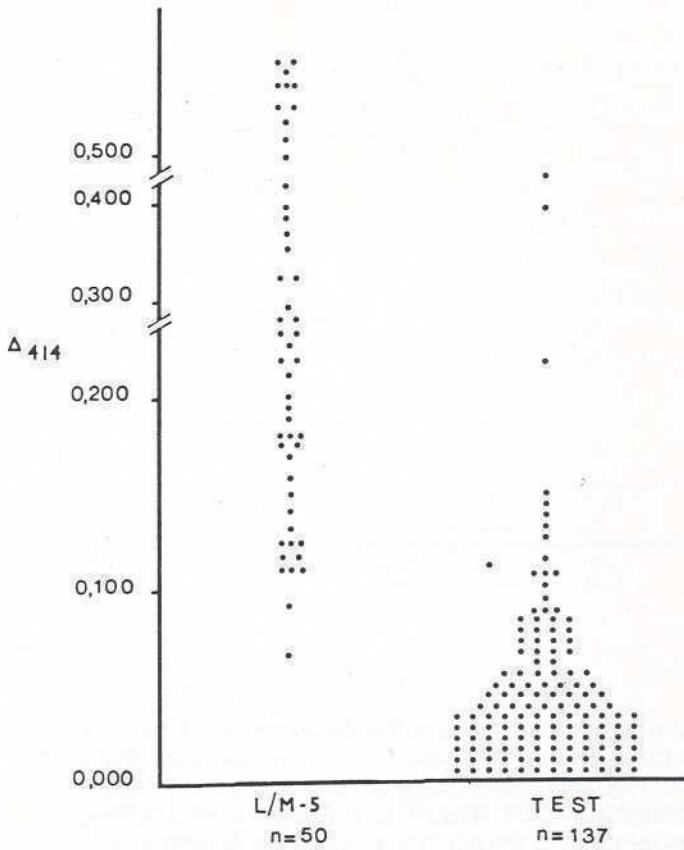
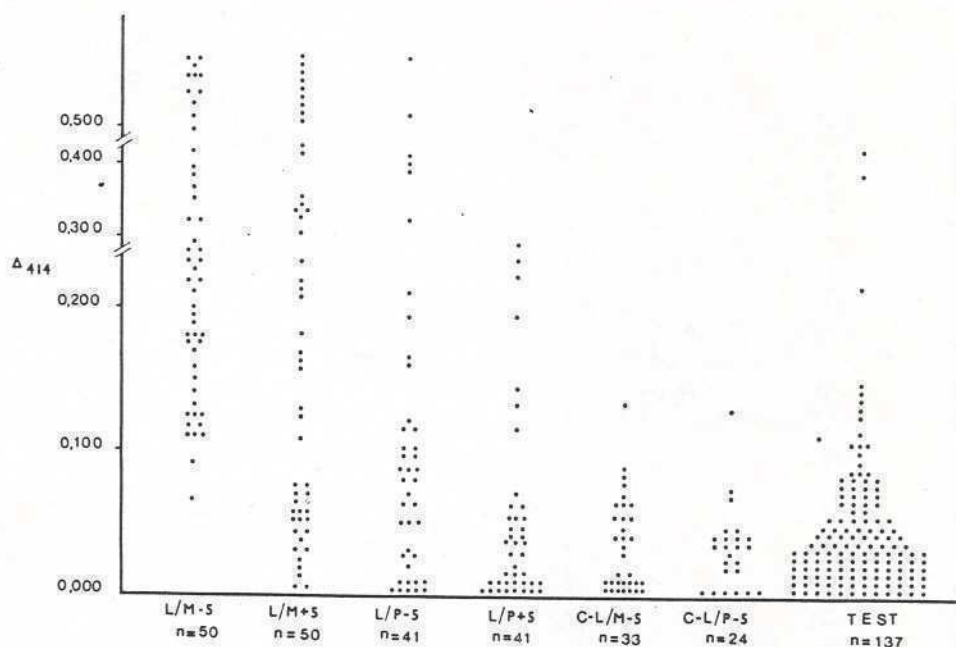


FIGURA 6  
RESPOSTA ANTIGÊNICA EM Ig M, EM TESTE E.L.I.S.A., OBSERVADA NO SORO DOS DOENTES DE LEpra INTEGRANDO OS GRUPOS L/M-5, L/M+5, L/P-5 E L/P+5 E NOS SOROS DOS INDIVÍDUOS DO GRUPO TEST, AO PGL-I



QUADRO XX

MÉDIA E DESVIO PADRÃO, POSITIVIDADE ( $\Delta 414 \geq 0,100$ ) E NEGATIVIDADE ( $\Delta 414 < 0,100$ ), SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE, OBSERVADOS EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM Ig M AO ANTIGÊNIO PGL-I NOS SOROS DOS DOENTES DE HANSEN CLASSIFICADOS, SEGUNDO A CLASSIFICAÇÃO DE RIDLEY E JOPLING, COM FORMAS DE LEpra LEpromatosa, LL, BORDERLINE LEpromatosa, BL, INDETERMINADA, I, BORDERLINE TUBERCULOIDE, BT, E TUBERCULOIDE, TT, EM COMPARAÇÃO COM O GRUPO TESTEMUNHA, TEST.

PGL I Teste E.L.I.S.A.	LL n = 84	BL n = 16	I n = 8	BT n = 18	TT n = 56	Test n = 137
$\Delta 414$ média	0,303 <sup>a</sup>	0,348 <sup>b</sup>	0,129 <sup>c</sup>	0,189 <sup>d</sup>	0,063 <sup>e</sup>	0,045 <sup>f</sup>
d. padrão	0,293	0,336	0,222	0,285	0,0087	0,061
Positivo/negativo	63/21	13/3	3/5	8/10	12/44	13/124
Sensibilidade	75,0 %	81,3 %	37,5 %	44,4 %	21,4 %	
Especificidade	90,5 %	90,5 %	90,5 %	90,5 %	90,5 %	

a, b, c e d — Diferenças estatisticamente significativas em relação a f (Teste de Student, s = 0,000 e s = 0,000; s = 0,003 e s = 0,000); e não difere estatisticamente de f (Teste de Student, s = 0,105).

FIGURA 7  
RESPOSTA SEROLÓGICA AO PGL-I (Ig M) EM RELAÇÃO COM O ESPECTRO IMUNOLÓGICO DA LEPRO (ESQUEMA DE RIDLEY E JOPLING). VALORES MÉDIOS DE  $\Delta 414$

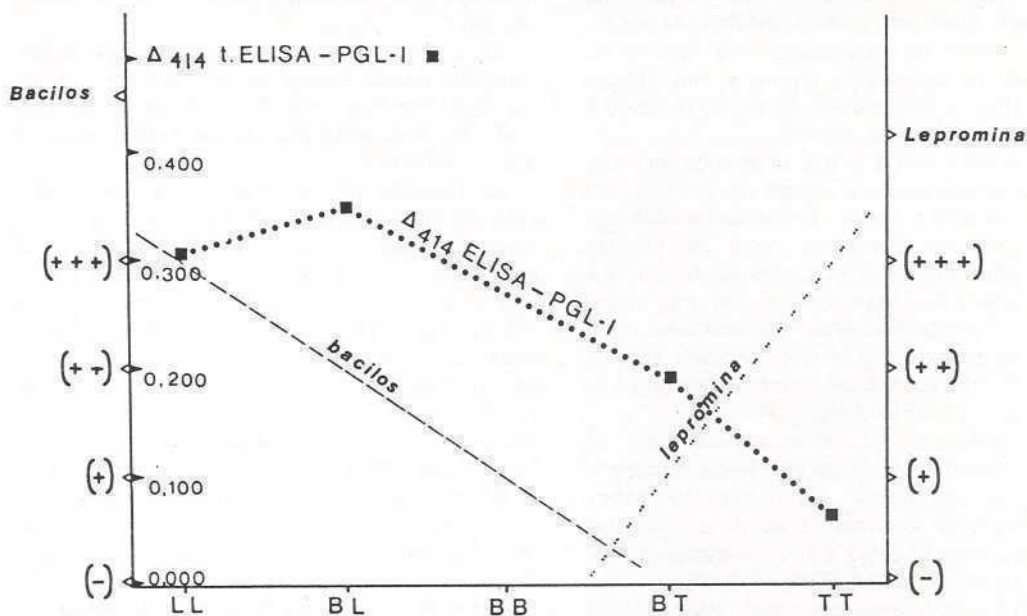
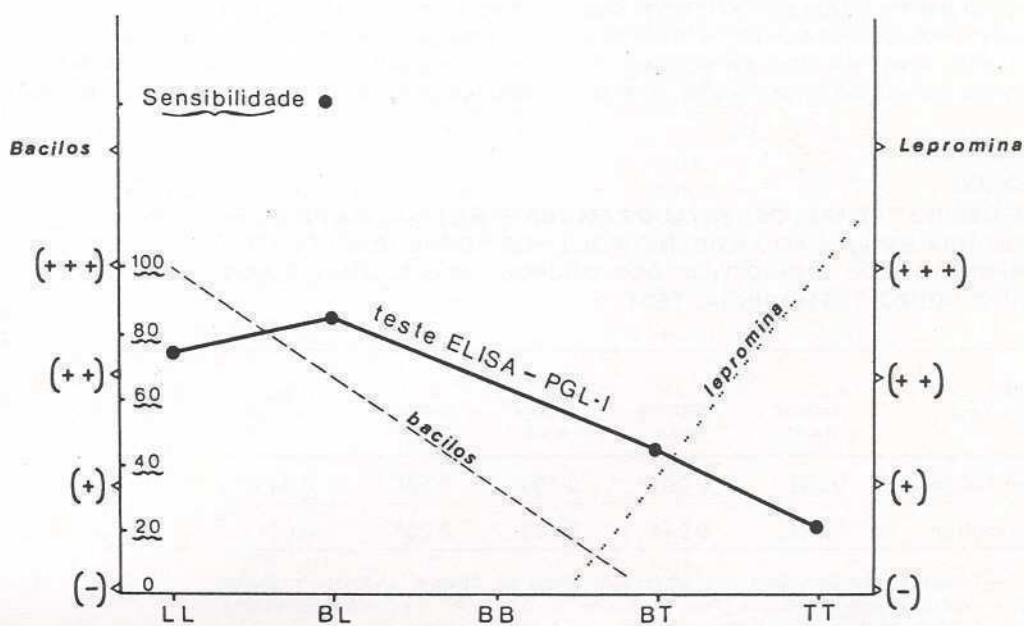


FIGURA 8  
RESPOSTA SEROLÓGICA AO PGL-I (Ig M) EM RELAÇÃO COM O ESPECTRO IMUNOLÓGICO DA LEPRO (ESQUEMA DE RIDLEY E JOPLING). VALORES DE SENSIBILIDADE



dos doentes com uma forma tuberculoide polar, TT, e os obtidos no grupo Test dos indivíduos saudáveis.

As Figuras 7 e 8 apresentam a resposta serológica, quer em valores médios de  $\Delta 414$ , Figura 7, quer no respeitante aos valores de sensibilidade, calculados, Figura 8, em relação com o espectro imunológico da lepra, segundo o diagrama de Ridley e Jopling.

Tendo em conta a forma de doença, multibacilar e paucibacilar, e o tempo de evolução da doença, recente e tardia, procurou-se conhecer a existência de diferenças entre os doentes considerados activos e os inactivos. Assim, nos grupos L/M-5 e L/M+5 verificou-se não haver diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos activos e dos inactivos (com a reserva devida ao reduzido efectivo do grupo L/M+5 activo) (Quadro XXI).

A inexistência de casos activos entre os doentes integrantes do grupo L/P+5 apenas permite saber da ausência de uma diferença estatisticamente significativa entre as respostas antigénicas dos doentes activos e inactivos integrantes do grupo L/P-5 (Quadro XXII).

Se tivermos apenas em conta, *grosso modo*, a forma de doença, isto é, multibacilares e paucibacilares, não valorizando o tempo de diagnóstico, e compararmos os resultados dos indivíduos com doença em actividade face aos com doença considerada sem actividade, verificamos, como mostra o Quadro XXIII, haver uma forte resposta dos doentes activos multibacilares, que se traduz, aliás, por uma sensibilidade de 100 %, dado serem positivos nestes doentes

todos os resultados obtidos. Observa-se que é significativa estatisticamente a diferença entre os resultados dos activos face aos inactivos, quer no grupo dos multibacilares, quer no dos paucibacilares.

O Quadro XXII mostra os valores da sensibilidade, especificidade, valor predictivo de um resultado positivo e de um resultado negativo e a eficiência do teste quando aplicado aos quatro grupos referidos.

O interesse último de um teste diagnóstico, seja de diagnóstico clínico seja de diagnóstico epidemiológico, de rastreio, é o de distinguir os indivíduos doentes dos saudáveis, estejam ou não infectados. O grupo dos doentes activos, independentemente da forma de lepra que apresentam, prefigura um verdadeiro grupo doente, em condições de necessidade de diagnóstico. O teste E.L.I.S.A. utilizando o antigénio PGL-I no diagnóstico de indivíduos com lepra em actividade, quer com formas paucibacilares quer multibacilares, é objectivado nos valores da sensibilidade, 98 %, de especificidade, 90,5 %, do valor predictivo de um resultado positivo, 79,4 %, e negativo, 99,2 %, e da eficiência global do teste, 92,6 %, que o Quadro XXIV apresenta.

O estudo das respostas falsamente positivas, observadas no grupo testemunha, permite-nos afirmar que este antigénio não diferencia entre os indivíduos saudáveis os infectados, lepromino reactivos, dos não infectados, lepromino negativos, como mostra o Quadro XXV.

Uma possível diminuição da resposta antigénica, decorrente da idade, não se observa nos doentes de lepra estudados, quer nos multibacila-

#### QUADRO XXI

MÉDIA E DESVIO PADRÃO, OBSERVADOS EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM Ig M AO ANTIGÉNIO PGL-I NOS SOROS DOS DOENTES DE HANSEN ACTIVOS E INACTIVOS DOS GRUPOS L/M-5 E L/M+5 E NOS SOROS DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST

PGL-I Teste E.L.I.S.A.	L/M-5		L/M+5		Test n = 137
	Activos n = 41	Inactivos n = 9	Activos n = 3	Inactivos n = 47	
$\Delta 414$ média	0,382 <sup>a</sup>	0,287 <sup>b</sup>	0,730 <sup>c</sup>	0,226 <sup>d</sup>	0,045 <sup>e</sup>
d. padrão	0,321	0,234	0,093	0,263	0,061

<sup>a</sup> versus <sup>b</sup> — Diferença estatisticamente não significativa (Teste de Student,  $s = 0,410$ ); <sup>c</sup> versus <sup>d</sup> — diferença estatisticamente significativa (Teste de Student,  $s = 0,002$ ); <sup>a</sup>, <sup>b</sup>, <sup>c</sup> e <sup>d</sup> significativamente diferentes de <sup>e</sup> (Teste de Student,  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ).

## QUADRO XXII

MÉDIA E DESVIO PADRÃO, OBSERVADOS EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM Ig M AO ANTIGÊNIO PGL-I NOS SOROS DOS DOENTES DE HANSEN ACTIVOS E INACTIVOS DOS GRUPOS L/P-5 E L/P+5 E NOS SOROS DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST

PGL-I Teste E.L.I.S.A.	L/P-5		L/P+5		Test n = 137
	Activos n = 7	Inactivos n = 34	Activos n = 0	Inactivos n = 41	
$\Delta$ 414 média	0,229 <sup>a</sup>	0,124 <sup>b</sup>	—	0,053 <sup>c</sup>	0,045 <sup>d</sup>
d. padrão	0,155	0,232	—	0,076	0,061

<sup>a</sup> versus <sup>b</sup> — diferença estatisticamente não significativa (Teste de Student,  $s = 0,262$ ); <sup>b</sup> versus <sup>d</sup> — diferença estatisticamente não significativa (Teste de Student,  $s = 0,068$ ); <sup>a</sup> versus <sup>d</sup>, <sup>b</sup> versus <sup>d</sup>, <sup>c</sup> versus <sup>d</sup> — diferenças estatisticamente significativas (Teste de Student,  $s = 0,000$ ;  $s = 0,001$ ;  $s = 0,000$ ); <sup>c</sup> versus <sup>d</sup> — diferença estatisticamente não significativa (Teste de Student,  $s = 0,516$ ).

## QUADRO XXIII

MÉDIA E DESVIO PADRÃO, POSITIVIDADE ( $\Delta$  414  $\geq$  0,100) E NEGATIVIDADE ( $\Delta$  414  $<$  0,100), SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE, VALOR PREDITIVO DE UM RESULTADO POSITIVO, VALOR PREDITIVO DE UM RESULTADO NEGATIVO E EFICIÊNCIA GLOBAL, OBSERVADOS EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM Ig M AO ANTIGÊNIO PGL-I NOS SOROS DOS DOENTES DOS GRUPOS L/M-5, L/M+5, L/P-5 E L/P+5, E NOS SOROS DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST

PGL-I Teste E.L.I.S.A.	Multibacilares (LL+BL)		Paucibacilares (BT+TT)		Test n = 137
	Activos n = 44	Inactivos n = 56	Activos n = 7	Inactivos n = 75	
$\Delta$ 414 média	0,405 <sup>a</sup>	0,236 <sup>b</sup>	0,229 <sup>c</sup>	0,085 <sup>d</sup>	0,045 <sup>e</sup>
d. padrão	0,323	0,257	0,155	0,168	0,061
Positivo/Negativo	44/0	32/24	6/1	17/58	13/124
Sensibilidade	100,0 %	57,1 %	85,7 %	29,3 %	
Especificidade	90,5 %	90,5 %	90,5 %	90,5 %	
Valor Pred. R. Posit.	75,9 %	71,1 %	35,0 %	53,6 %	
Valor Pred. R. Negat.	100,0 %	83,8 %	78,5 %	68,1 %	
Eficiência	92,8 %	80,8 %	73,6 %	67,1 %	

<sup>a</sup>, <sup>b</sup>, <sup>c</sup>, <sup>e</sup>, <sup>d</sup> — Diferenças estatisticamente significativas em relação a <sup>e</sup> (Teste de Student,  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ; e  $s = 0,014$ ). <sup>a</sup> significativamente diferente de <sup>b</sup> (Teste de Student,  $s = 0,004$ ) e <sup>c</sup> de <sup>d</sup> (Teste de Student,  $s = 0,033$ ).

QUADRO XXIV

MÉDIA E DESVIO PADRÃO, POSITIVIDADE ( $\Delta 414 \geq 0,100$ ) E NEGATIVIDADE ( $\Delta 414 < 0,100$ ), SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE, VALOR PREDICTIVO DE UM RESULTADO POSITIVO, VALOR PREDICTIVO DE UM RESULTADO NEGATIVO E EFICIÊNCIA GLOBAL, OBSERVADOS EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM Ig M AO ANTIGÊNIO PGL-I NOS SOROS DOS DOENTES DE HANSEN CONSIDERADOS ACTIVOS E INACTIVOS, INDEPENDENTEMENTE DA SUA CONDIÇÃO DE MULTIBACILARES E DE PAUCIBACILARES, E NOS SOROS DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST

PGL-I Teste E.L.I.S.A.	ACTIVOS	INACTIVOS	Test n = 137
	Multi e Paucibac. n = 51	Multi e Paucibac. n = 131	
$\Delta 414$ média	0,381 <sup>a</sup>	0,149 <sup>b</sup>	0,045 <sup>c</sup>
d. padrão	0,310	0,223	0,061
Positivo/Negativo	50/1	49/82	13/124
Sensibilidade	98,0 %		
Especificidade	90,5 %		
Valor Pred. R. Posit.	79,4 %		
Valor Pred. R. Negat.	99,2 %		
Eficiência	92,6 %		

<sup>a</sup> versus <sup>b</sup>, <sup>a</sup> versus <sup>c</sup>, <sup>b</sup> versus <sup>c</sup> — Diferenças estatisticamente significativas (Teste de Student,  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ).

res, quer nos paucibacilares, clinicamente activos ou inactivos (Quadro XXVI).

Igualmente, a condição feminina ou masculina não se apresenta responsável por qualquer diferença de intensidade de resposta nestes doentes (Quadro XXVII).

Nada é possível concluir sobre o provável papel da terapêutica nos resultados obtidos, dado que todos os doentes se encontravam sob medicação, sendo esta sempre múltipla nos doentes activos, independentemente da forma clínica.

#### 4.1.2 Nos contactantes de doentes com lepra

Os dois grupos de indivíduos aparentemente saudáveis contactantes de doentes de Hansen com formas recentes, C-L/M-5 e C-L/P-5, apresentam uma resposta antigénica, em Ig M, ao antigénio PGL-I, no teste E.L.I.S.A., semelhante à observada no grupo testemunha. O Quadro XXVIII documenta os resultados obtidos.

## QUADRO XXV

RESPOSTA À LEPROMINA DOS INDIVÍDUOS INTEGRANTES DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST, EM RELAÇÃO COM A RESPOSTA ANTIGÉNICA EM Ig M DOS RESPECTIVOS SOROS, EM TESTE E.L.I.S.A., AO ANTIGÉNIO PGL-I

PGL-I E.L.I.S.A.	Reacção à lepromina		Total
	reactivos ≥ 5 mm	não reactivos < 5 mm	
POSITIVO Δ 414 ≥ 0,100	9	4	13
NEGATIVO Δ 414 < 0,100	85	39	124
Total	94	43	137

Não se observa uma diferença estatisticamente significativa entre os resultados no teste E.L.I.S.A. dos indivíduos reactivos e dos não reactivos (T. de Student:  $s = 0,604$ ).

## QUADRO XXVI

MÉDIA E DESVIO PADRÃO OBSERVADOS EM TESTE E.L.I.S.A. NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM Ig M AO ANTIGÉNIO PGL-I NOS SOROS DOS DOENTES DE HANSEN DOS GRUPOS MULTIBACILARES, L/M-5 E L/M+5, E PAUCIBACILARES, L/P-5 E L/P+5, COM MENOS E MAIS DE 60 ANOS, ACTIVOS E INACTIVOS

PGL-I Teste E.L.I.S.A. Idade	Multibacilares (LL+BL)				Paucibacilares (BT+TT)			
	Activos		Inactivos		Activos		Inactivos	
	< 60 n=34	≥ 60 n=10	< 60 n=32	≥ 60 n=24	< 60 n=34	≥ 60 n=4	< 60 n=33	≥ 60 n=42
Δ 414 μ	0,436 <sup>a</sup>	0,329 <sup>b</sup>	0,263 <sup>c</sup>	0,263 <sup>d</sup>	0,091 <sup>e</sup>	0,333 <sup>f</sup>	0,091 <sup>g</sup>	0,106 <sup>h</sup>
d. padrão	0,337	0,265	0,276	0,276	0,036	0,118	0,132	0,232

Não se observam diferenças estatisticamente significativas entre <sup>a</sup> e <sup>b</sup>, <sup>c</sup> e <sup>d</sup>, <sup>e</sup> e <sup>g</sup>, <sup>e</sup> e <sup>h</sup> (Teste de Student,  $s = 0,359$ ;  $s = 0,539$ ; e  $s = 0,745$ ).

QUADRO XXVII

MÉDIA E DESVIO PADRÃO OBSERVADOS EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM Ig M AO ANTIGÊNIO PGL-I NOS SOROS DOS DOENTES DE HANSEN DOS GRUPOS MULTIBACILARES, L/M-5 E L/M+5, E PAUCIBACILARES, L/P-5 E L/P+5, ACTIVOS E INACTIVOS, SEGUNDO O SEXO

PGL-I Teste E.L.I.S.A.	Multibacilares (LL+BL)				Paucibacilares (BT+TT)			
	Activos		Inactivos		Activos		Inactivos	
	Masc. n=31	Fem. n=13	Masc. n=35	Fem. n=21	Masc. n=3	Fem. n=4	Masc. n=42	Fem. n=33
$\Delta$ 414 $\mu$	0,404 <sup>a</sup>	0,433 <sup>b</sup>	0,225 <sup>c</sup>	0,261 <sup>d</sup>	0,300 <sup>e</sup>	0,175 <sup>f</sup>	0,102 <sup>g</sup>	0,058 <sup>h</sup>
d. padrão	0,337	0,297	0,239	0,292	0,121	0,72	0,172	0,072

<sup>a</sup> versus <sup>b</sup>, <sup>c</sup> versus <sup>d</sup>, <sup>e</sup> versus <sup>f</sup>, <sup>g</sup> versus <sup>h</sup> — diferenças estatisticamente não significativas (Teste de Student,  $s = 0,790$ ;  $s = 0,623$ ;  $s = 0,334$  e  $s = 0,281$ ).

QUADRO XXVIII

MÉDIA E DESVIO PADRÃO, POSITIVIDADE ( $\Delta$  414  $\geq$  0,100) E NEGATIVIDADE ( $\Delta$  414  $<$  0,100), EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM Ig M AO ANTIGÊNIO PGL-I NOS SOROS DOS CONTACTANTES DOS DOENTES DO GRUPO L/M-5, GRUPO C-L/M-5, E NOS DO GRUPO L/P-5, GRUPO C-L//P-5, COMPARADOS AOS DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST, L/P-5 E L/P+5

PGL-I Teste E.L.I.S.A.	C-L/M-5 n = 33	C-L/P-5 n = 245	TEST n = 137	L/P-5 n = 41	L/P+5 n = 41
$\Delta$ 414 média	0,033 <sup>a</sup>	0,034 <sup>b</sup>	0,045 <sup>c</sup>	0,142 <sup>d</sup>	0,053 <sup>e</sup>
d. padrão	0,035	0,029	0,061	0,223	0,076
Positivo/negativo	2/31	1/23	13/124	15/26	8/33

<sup>a</sup> versus <sup>b</sup>, <sup>a</sup> versus <sup>c</sup>, <sup>e</sup> versus <sup>b</sup>, <sup>e</sup> versus <sup>c</sup> — Diferenças estatisticamente não significativas (Teste de Kolmogorov-Smirnov,  $s = 0,187$ ;  $s = 0,241$ ;  $s = 0,147$ ); <sup>a</sup> versus <sup>d</sup> e <sup>c</sup> versus <sup>d</sup> — diferenças estatisticamente não significativas (Teste de Kolmogorov-Smirnov,  $s = 0,294$   $s = 0,198$ ); <sup>a</sup> versus <sup>e</sup>, <sup>e</sup> versus <sup>e</sup> — Diferenças estatisticamente significativas (Teste de Kolmogorov-Smirnov,  $s = 0,034$ ;  $s = 0,015$ );

#### 4.1.3 Nos doentes com tuberculose

O teste E.L.I.S.A. para conhecer a resposta imunitária ao PGL-Tb-I, em Ig M, efectuado no soro dos doentes com tuberculose, grupo Tub, e nos indivíduos saudáveis do grupo Test, revelou duas populações distintas, como mostra a Figura 9. O limiar de positividade definido foi de  $\Delta 414 = 0,100$ .

Considerando este limiar, 49 dos 50 doentes do grupo Tub apresentaram uma resposta antigénica positiva; 13 dos 137 indivíduos saudáveis apresentaram também um valor de  $\Delta 414 > 0,100$ , resultados classificados de falsos positivos.

A média de valores observados nos dois grupos, os desvios padrão, a sensibilidade, de 98 %, a especificidade, de 90,5 %, os valores predictivos de um resultado positivo e negativo, e a eficiência global do teste, 92,5 %, detalham-se no Quadro XXIX.

#### QUADRO XXIX

**MÉDIA E DESVIO PADRÃO, POSITIVIDADE ( $\Delta 414 \geq 0,00$ ) E NEGATIVIDADE ( $\Delta 414 < 0,100$ ), VALOR PREDICTIVO DE UM RESULTADO POSITIVO E DE UM RESULTADO NEGATIVO, OBSERVADOS EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM Ig M AO ANTIGÉNIO PGL-Tb-I NOS SOROS DOS DOENTES TUBERCULOSOS, TUB, E NOS SOROS DOS INDIVÍDUOS DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST**

PGL-Tb-I Teste E.L.I.S.A.	Tub n = 50	Test n = 137
$\Delta 414$ média	0,213 <sup>a</sup>	0,0448 <sup>b</sup>
d. padrão	0,136	0,0508
Positivo/negativo	49/1	13/124
Sensibilidade	98,0 %	
Especificidade	90,5 %	
Valor Pred. R. Posit.	79,0 %	
Valor Pred. R. Neg.	99,2 %	
Eficiência	92,5 %	

<sup>a</sup> versus <sup>b</sup> — Diferença estatisticamente significativa (Teste de Student,  $s = 0,000$ )

O sexo masculino ou feminino dos doentes não significa, no grupo estudado, um factor de variação da resposta antigénica, em Ig M, ao PGL-Tb-I (Quadro XXX).

No sentido de avaliar se a reactividade à tuberculina estava correlacionada com as respostas obtidas, procurou-se verificar se os indivíduos do grupo Test, tuberculino reactivos, apresentavam uma resposta ao teste E.L.I.S.A. significativamente diferente da dos indivíduos não reactivos, o que não se observou (Quadro XXXI).

#### QUADRO XXX

**MÉDIA E DESVIO PADRÃO, OBSERVADOS NOS DOENTES TUBERCULOSOS, GRUPO TUB, SEGUNDO OS SEXOS, NA RESPOSTA ANTIGÉNICA EM Ig M DOS RESPECTIVOS SOROS, EM TESTE E.L.I.S.A., AO ANTIGÉNIO PGL-Tb-I.**

PGL-Tb-I Teste E.L.I.S.A.	Masc. n = 33	Femin. n = 17	Total n = 50
$\Delta 414$ média	0,212 <sup>a</sup>	0,215 <sup>b</sup>	0,213
d. padrão	0,130	0,150	0,136

Não se observa uma diferença estatisticamente significativa entre <sup>a</sup> e <sup>b</sup> (Teste de Student,  $s = 0,961$ ).

#### QUADRO XXXI

**RESPOSTA À TUBERCULINA DOS INDIVÍDUOS INTEGRANTES DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST, EM RELAÇÃO COM A RESPOSTA ANTIGÉNICA EM Ig M DOS RESPECTIVOS SOROS, EM TESTE E.L.I.S.A., AO ANTIGÉNIO PGL-Tb-I**

PGL-Tb-I E.L.I.S.A.	Reacção à tuberculina		
	Reactivos $\geq 5$ mm	Não reactivos < 5 mm	
POSITIVO $\Delta 414 \geq 0,100$	9	4	13
NEGATIVO $\Delta 414 < 0,100$	105	19	124
TOTAL	114	23	137

Não se observa uma diferença estatisticamente significativa entre os resultados no teste E.L.I.S.A. dos indivíduos reactivos e dos não reactivos (Teste de Student,  $s = 0,448$ ).

#### 4.2 Resposta aos antígenos heterólogos

No sentido de averiguar da possível presença de anticorpos contra antígenos PGL heterólogos, no soro dos doentes dos diferentes grupos, de a comparar com a resposta imunogénica aos antígenos homólogos, atrás apresentada, e a fim de conhecer da presença de anticorpos contra todos os PGL conhecidos no soro dos indivíduos saudáveis, a presença de anticorpos IgM contra os PGL-K-I, micosido G, micosido B e PGL-Tb-I foi estudada nos grupos de doentes com lepra, L/M-5, L/M+5, L/P-5 e L/P+5, a de anticorpos IgM contra os PGL-I, PGL-K-I, micosido G e micosido B nos doentes com tuberculose, grupo Tub, e a de anticorpos IgM contra os PGL-K-I, micosido G

e micosido B no soro dos indivíduos saudáveis de grupo testemunha, Test.

Todas as populações reagem, embora com diferente intensidade, a todos os antígenos utilizados.

As Figuras 10 e 11, em que se comparam a respostas aos 5 antígenos no soro dos doentes com lepra multibacilar integrantes dos grupos L/M-5 e L/M+5, mostram uma mais forte resposta ao antígeno homólogo, PGL-I, que aos heterólogos, sendo evidente que estes também provocam uma nítida resposta imunogénica.

Nas Figuras 12 e 13, respeitantes aos doentes com lepra paucibacilar dos grupos L/P-5 e L/P+5, evidencia-se que, embora respondendo a todos os antígenos, homólogo e heterólogos, no soro dos

FIGURA 10  
RESPOSTA ANTIGÉNICA EM IgM, EM TESTE E.L.I.S.A., OBSERVADA NO SORO DOS DOENTES DE LEPRA INTEGRANDO O GRUPO L/M-5 AO PGL HOMÓLOGO, PGL-I, E AOS PGL's HETERÓLOGOS MIC. G, PGL-K-I, MIC. B E PGL-Tb-I

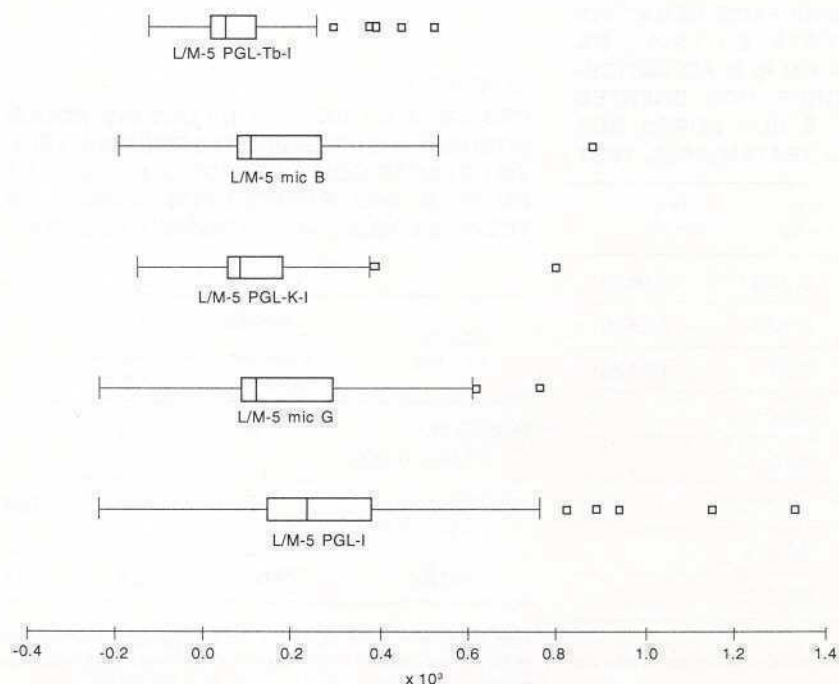


FIGURA 11

RESPOSTA ANTIGÊNICA EM IgM, EM TESTE E.L.I.S.A., OBSERVADA NO SORO DOS DOENTES DE LEPROSA INTEGRANDO O GRUPO L/M+5 AO PGL HOMÓLOGO, PGL-I, E AOS PGL's HETERÓLOGOS MIC. G, PGL-K-I, MIC. B E PGL-Tb-I

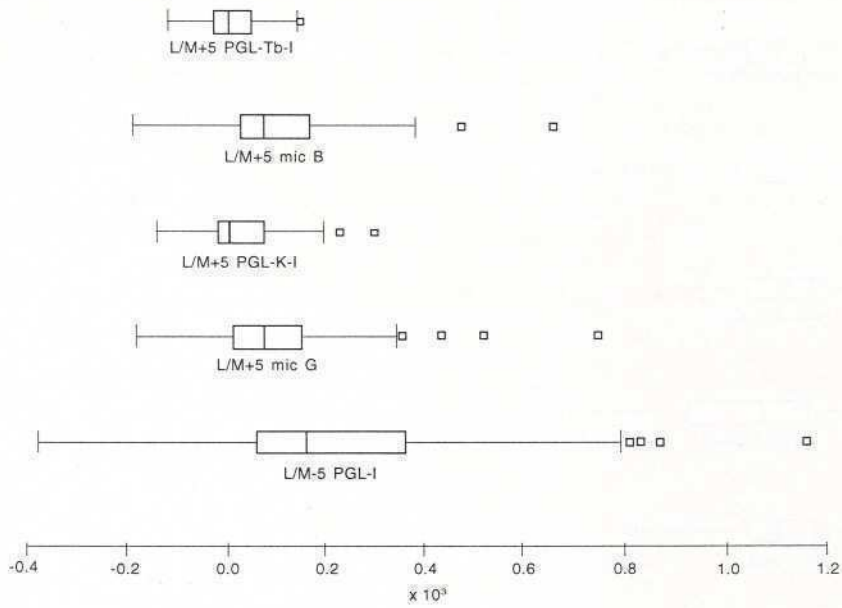


FIGURA 12

RESPOSTA ANTIGÊNICA EM IgM, EM TESTE E.L.I.S.A., OBSERVADA NO SORO DOS DOENTES DE LEPROSA INTEGRANDO O GRUPO L/P-5 AO PGL HOMÓLOGO, PGL-I, E AOS PGL's HETERÓLOGOS MIC. G, PGL-K-I, MIC. B E PGL-Tb-I

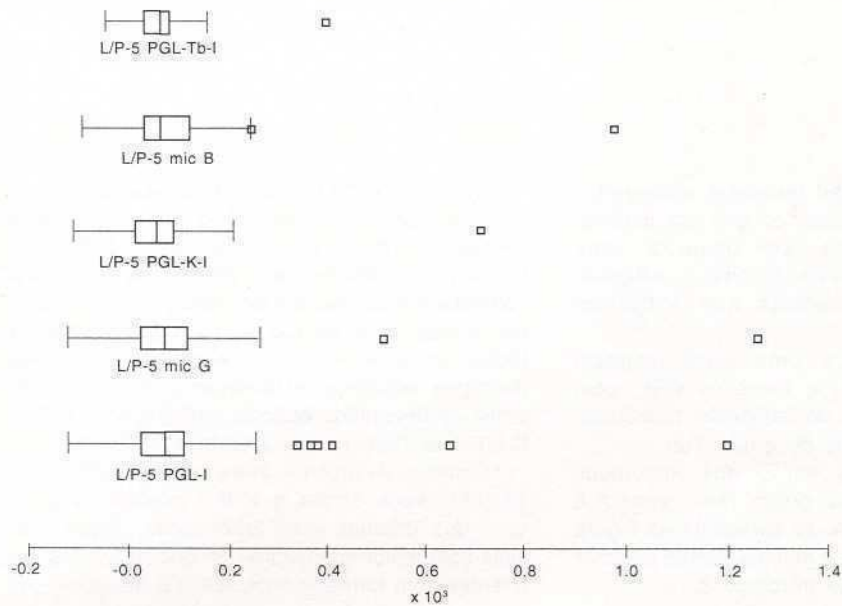
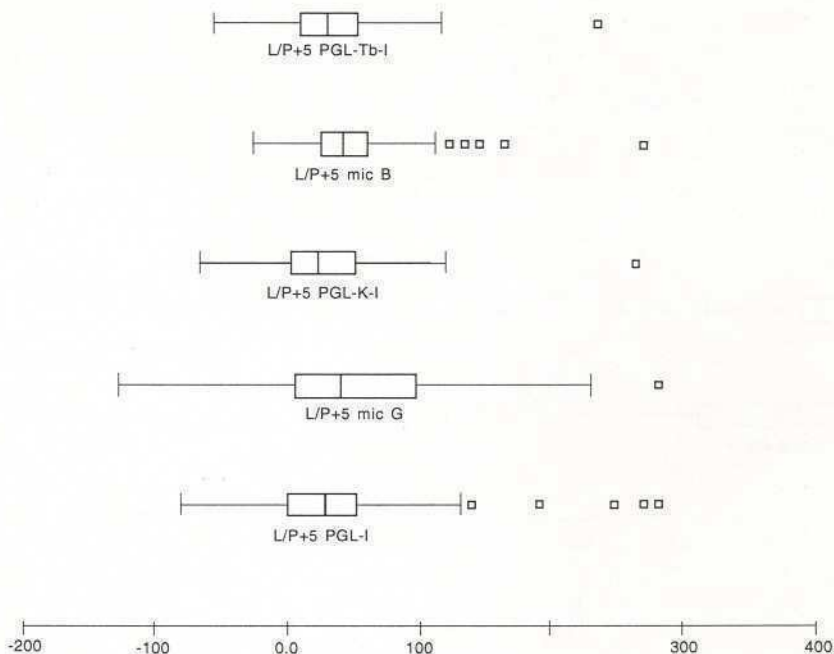


FIGURA 13

RESPOSTA ANTIGÉNICA EM IgM, EM TESTE E.L.I.S.A., OBSERVADA NO SORO DOS DOENTES DE LEpra INTEGRANDO O GRUPO L/P+5 AO PGL HOMÓLOGO, PGL-I, E AOS PGL's HETERÓLOGOS MIC. G, PGL-K-I, MIC. B E PGL-Tb-I



doentes destes grupos as respostas observadas são globalmente mais fracas do que nos doentes multibacilares, e não se observa uma preponderância da resposta ao PGL-I, antígeno homólogo, face às respostas aos antígenos heterólogos.

A Figura 14 mostra uma clara resposta antigénica, generalizada, a todos os PGL, com escassa predominância do antígeno homólogo, nos doentes tuberculosos do grupo Tub.

De igual modo os soros dos indivíduos saudáveis, integrantes do grupo Test, reagem a todos os antígenos, como se apresenta na Figura 15; no entanto a resposta é mínima, sendo de notar que a mais intensa é ao micosido B.

No Quadro XXXII apresentam-se os valores obtidos com os cinco antígenos glicolípidos fenólicos no grupo testemunha, Test, e comparam-se com os obtidos nos grupos de indivíduos contactantes de doentes de Hansen, C-L/M-5 e C-L/P-5; para além de todos os grupos reagirem a todos os antígenos, evidencia-se não haver nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os resultados obtidos nos grupos C-L/M-5, C-L/P-5 e Test, no respeitante a cada PGL.

Como graficamente atrás apresentamos, Fig. 14, anticorpos contra o PGL-I encontram-se no soro dos doentes com tuberculose, grupo Tub, aliás com maior intensidade do que nos soros dos doentes com formas paucibacilares de lepra, L/P-

FIGURA 14

RESPOSTA ANTIGÊNICA EM IgM, EM TESTE E.L.I.S.A., OBSERVADA NO SORO DOS DOENTES COM TUBERCULOSE INTEGRANDO O GRUPO TUB AO PGL HOMÓLOGO, PGL-Tb-I, E AOS PGL'S HETERÓLOGOS MIC. G, PGL-K-I, MIC. B E PGL-I

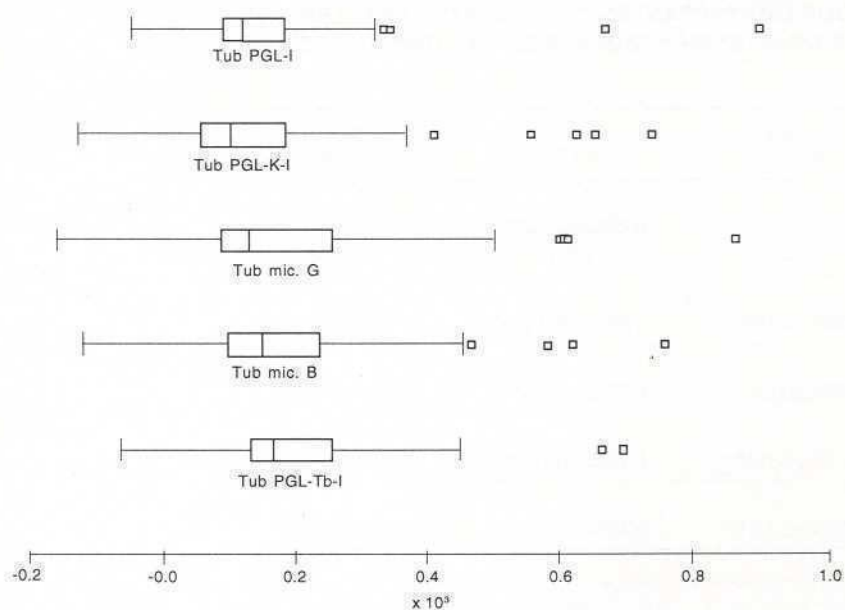
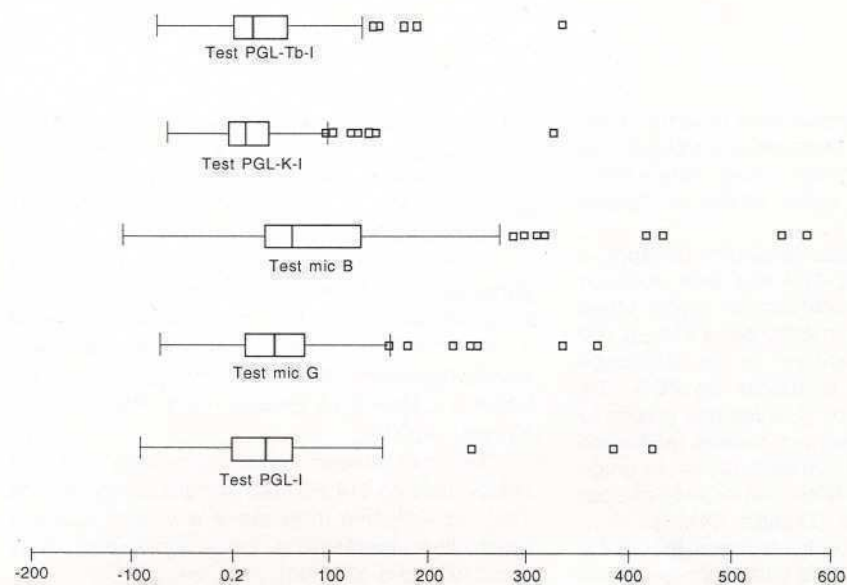


FIGURA 15

RESPOSTA ANTIGÊNICA EM IgM, EM TESTE E.L.I.S.A., OBSERVADA NO SORO DOS INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS INTEGRANDO O GRUPO TEST AOS PGL'S PGL-I, MIC. G, PGL-K-I, MIC. B E PGL-Tb-I



QUADRO XXXII

MÉDIA E DESVIO PADRÃO, POSITIVIDADE ( $\Delta 414 \geq 0,100$ ) E NEGATIVIDADE ( $\Delta 414 < 0,100$ ), EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM IgM AOS ANTIGÉNIOS PGL-Tb-I, MICOSIDO B, MICOSIDO G, PGL-K-I E PGL-I NOS SOROS DOS CONTACTANTES DOS DOENTES COM LEPRA, GRUPOS C-L/M-5, E C-L/P-5, COMPARADOS AOS DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST.

Teste E.L.I.S.A.	C-L/M-5 n = 33	C-L/P-5 n = 24	Test n = 137
PGL-Tb-I $\Delta 414 \mu$ ; d.p. Posit./Neg.	0,032; $\pm$ 0,031 <sup>a</sup> 1/33	0,033; $\pm$ 0,025 <sup>a1</sup> 0/24	0,045; $\pm$ 0,051 <sup>a2</sup> 13/124
mic. B $\Delta 414 \mu$ ; d.p.	0,063; $\pm$ 0,056 <sup>b</sup>	0,091; $\pm$ 0,117 <sup>b1</sup>	0,101; $\pm$ 0,101 <sup>b2</sup>
mic. G $\Delta 414 \mu$ ; d.p.	0,054; $\pm$ 0,051 <sup>c</sup>	0,057; $\pm$ 0,051 <sup>c1</sup>	0,059; $\pm$ 0,064 <sup>c2</sup>
PGL-K-I $\Delta 414 \mu$ ; d.p.	0,031; $\pm$ 0,037 <sup>d</sup>	0,034; $\pm$ 0,033 <sup>d1</sup>	0,045; $\pm$ 0,044 <sup>d2</sup>
PGL-I $\Delta 414 \mu$ ; d.p.	0,033; $\pm$ 0,035 <sup>e</sup>	0,034; $\pm$ 0,029 <sup>e1</sup>	0,045; $\pm$ 0,061 <sup>e2</sup>

Não se observam diferenças estatisticamente significativas: <sup>a</sup> versus <sup>a1</sup>, <sup>a</sup> versus <sup>a2</sup>, <sup>a1</sup> versus <sup>a2</sup> (Kolmogorov-Smirnov,  $s = 0,263$ ;  $s = 0,174$ ;  $s = 0,235$ ); <sup>b</sup> versus <sup>b1</sup>, <sup>b</sup> versus <sup>b2</sup>, <sup>b1</sup> versus <sup>b2</sup> (Kolmogorov-Smirnov,  $s = 0,311$ ;  $s = 0,090$ ;  $s = 0,190$ ); <sup>c</sup> versus <sup>c1</sup>, <sup>c</sup> versus <sup>c2</sup>, <sup>c1</sup> versus <sup>c2</sup> (Kolmogorov-Smirnov,  $s = 0,240$ ;  $s = 0,259$ ;  $s = 0,313$ ); <sup>d</sup> versus <sup>d1</sup>, <sup>d</sup> versus <sup>d2</sup>, <sup>d1</sup> versus <sup>d2</sup> (Kolmogorov-Smirnov,  $s = 0,301$ ;  $s = 0,198$ ;  $s = 0,218$ ); <sup>e</sup> versus <sup>e1</sup>, <sup>e</sup> versus <sup>e2</sup>, <sup>e1</sup> versus <sup>e2</sup> (Kolmogorov-Smirnov,  $s = 0,187$ ;  $s = 0,241$ ;  $s = 0,147$ ).

5 e L/P+5. No entanto, a hipotética utilidade deste antígeno heterólogo no diagnóstico serológico da tuberculose não aparece como viável, dada a baixa sensibilidade registada, como mostra o Quadro XXXIII.

Também no diagnóstico serológico da lepra, o antígeno heterólogo PGL-Tb-I não teria qualquer utilidade, malgrado os doentes do grupo L/M-5 apresentarem um valor médio de  $\Delta 414 \geq 0,100$  superior ao limiar positivo, a sensibilidade observada neste grupo é apenas de 36%. De salientar o facto de que os doentes dos grupos L/M+5, L/P-5 e L/P+5 apresentam valores médios de reactividade ao PGL-Tb I semelhantes ao do grupo Test, e significativamente diferentes dos observados nos grupos L/M-5 e Tub (Quadro XXXIV).

Também os antígenos heterólogos PGL-K-I e micosido G, que reagem com todas as populações

estudadas, reagem mais fortemente com os grupos Tub e L/M-5, com valores médios significativamente diferentes dos observados nos outros quatro grupos, L/M+5, L/P-5, L/P+5 e Test (Quadros XXXV e XXXVI).

O antígeno heterólogo micosido B apresenta a particularidade de reagir em todos os grupos, com excepção do grupo L/P+5, com valores médios de  $\Delta 414 \geq 0,100$ , se bem que a reacção seja significativamente diferente entre os grupos Tub, L/M-5 e L/M+5 e os grupos P/L-5, P/L+5 e Test (Quadro XXXVII).

Não se observa uma correlação entre a positividade ( $\Delta 414 \geq 0,100$ ) no grupo testemunha Test, ao antígeno micosido B e a reactividade à tuberculina apresentada pelos indivíduos deste grupo (Quadro XXXVIII).

## QUADRO XXXIII

MÉDIA E DESVIO PADRÃO, POSITIVIDADE ( $\Delta 414 \geq 0,100$ ) E NEGATIVIDADE ( $\Delta 414 < 0,100$ ), SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE OBSERVADAS, EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM IgM AO ANTIGÊNIO PGL-I NOS SOROS DOS DOENTES TUBERCULOSOS, TUB, DOS DOENTES DE HANSEN, GRUPOS L/M-5, L/M+5, L/P-5, E L/P+5, E DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST.

PGL-I E.L.I.S.A.	Tub n = 50	L/M-5 n = 50	L/M+5 n = 50	L/P-5 n = 41	L/P+5 n = 41	Test n = 137
$\Delta 414 \mu$	0,174 <sup>a</sup>	0,354 <sup>b</sup>	0,265 <sup>c</sup>	0,142 <sup>d</sup>	0,053 <sup>e</sup>	0,045 <sup>f</sup>
d. padrão	0,151	0,302	0,283	0,223	0,076	0,061
Positivo/negativo	39/11	48/2	29/21	15/26	7/34	13/124
Sensibilidade	78 %	96 %	58 %	37 %	17 %	
Especificidade	91 %	91 %	91 %	91 %	91 %	

<sup>a</sup> versus <sup>b</sup>, e <sup>a</sup> versus <sup>f</sup> — Diferenças significativamente diferentes (Teste de Student,  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ).

## QUADRO XXXIV

MÉDIA E DESVIO PADRÃO, POSITIVIDADE ( $\Delta 414 \geq 0,100$ ) E NEGATIVIDADE ( $\Delta 414 < 0,100$ ), SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE OBSERVADAS, EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM IgM AO ANTIGÊNIO PGL-Tb-I NOS SOROS DOS DOENTES TUBERCULOSOS, GRUPO TUB, DOS DOENTES DE HANSEN, GRUPOS L/M-5, L/M+5, L/P-5, E L/P+5, E DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST.

PGL-Tb-I E.L.I.S.A.	Tub n = 50	L/M-5 n = 50	L/M+5 n = 50	L/P-5 n = 41	L/P+5 n = 41	Test n = 137
$\Delta 414 \mu$	0,213 <sup>a</sup>	0,112 <sup>b</sup>	0,041 <sup>c</sup>	0,061 <sup>d</sup>	0,042 <sup>e</sup>	0,045 <sup>f</sup>
d. padrão	0,136	0,122	0,044	0,065	0,044	0,051
Positivo/negativo	49/1	18/32	5/45	3/38	2/39	13/124
Sensibilidade	98 %	36 %	11 %	7 %	5 %	
Especificidade	91 %	91 %	91 %	91 %	91 %	

<sup>a</sup> versus <sup>b</sup>, e <sup>b</sup> versus <sup>f</sup> — Diferenças significativamente diferentes (Teste de Student,  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ); <sup>a</sup> versus <sup>c</sup>, <sup>d</sup> e <sup>e</sup> diferenças significativamente diferentes (Teste de Student,  $s = 0,000$ ;  $s = 0,002$ ;  $s = 0,000$ ); <sup>b</sup> versus <sup>c</sup>, <sup>d</sup> e <sup>e</sup> diferenças significativamente diferentes (Teste de Student,  $s = 0,000$ ;  $s = 0,015$ ;  $s = 0,000$ ); <sup>f</sup> versus <sup>c</sup>, <sup>d</sup> e <sup>e</sup> diferenças não significativamente diferentes (Teste de Student,  $s = 0,605$ ;  $s = 0,106$ ;  $s = 0,719$ ).

QUADRO XXXV

MÉDIA E DESVIO PADRÃO, POSITIVIDADE ( $\Delta 414 \geq 0,100$ ) E NEGATIVIDADE ( $\Delta 414 < 0,100$ ), SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE OBSERVADAS, EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM IgM AO ANTIGÊNIO PGL-K-I NOS SOROS DOS DOENTES TUBERCULOSOS, GRUPO TUB, DOS DOENTES DE HANSEN, GRUPOS L/M-5, L/M+5, L/P-5, E L/P+5, E DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST.

PGL-K-I E.L.I.S.A.	Tub n = 50	L/M-5 n = 50	L/M+5 n = 50	L/P-5 n = 41	L/P+5 n = 41	Test n = 137
$\Delta 414 \mu$	0,169 <sup>a</sup>	0,138 <sup>b</sup>	0,052 <sup>c</sup>	0,072 <sup>d</sup>	0,034 <sup>e</sup>	0,028 <sup>f</sup>
d. padrão	0,170	0,137	0,068	0,114	0,046	0,044
Positivo/negativo	27/23	24/26	10/40	9/32	2/39	8/129
Sensibilidade	54 %	48 %	20 %	22 %	49 %	
Especificidade	94 %	94 %	94 %	94 %	94 %	

<sup>a</sup> versus <sup>b</sup> diferença não significativamente diferente (Teste de Student,  $s = 0,325$ ); <sup>a</sup> versus <sup>c</sup>, <sup>d</sup>, <sup>e</sup> e <sup>f</sup> diferenças significativamente diferentes (Teste de Student,  $s = 0,002$ ;  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ); <sup>b</sup> versus <sup>c</sup>, <sup>d</sup>, <sup>e</sup>, <sup>f</sup> diferenças significativamente diferentes (Teste de Student,  $s = 0,000$ ;  $s = 0,015$ ;  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ); <sup>f</sup> versus <sup>c</sup>, <sup>e</sup> e <sup>d</sup> diferenças significativamente diferentes (Teste de Student,  $s = 0,005$ ;  $s = 0,000$ ); <sup>f</sup> versus <sup>e</sup> diferença não significativamente diferente (Teste de Student,  $s = 0,469$ ).

QUADRO XXXVI

MÉDIA E DESVIO PADRÃO, POSITIVIDADE ( $\Delta 414 \geq 0,100$ ) E NEGATIVIDADE ( $\Delta 414 < 0,100$ ), SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE OBSERVADAS, EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM IgM AO ANTIGÊNIO MICOSIDO G NOS SOROS DOS DOENTES TUBERCULOSOS, GRUPO TUB, DOS DOENTES DE HANSEN, GRUPOS L/M-5, L/M+5, L/P-5, E L/P+5, E DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST.

MICOSIDO G E.L.I.S.A.	Tub n = 50	L/M-5 n = 50	L/M+5 n = 50	L/P-5 n = 41	L/P+5 n = 41	Test n = 137
$\Delta 414 \mu$	0,191 <sup>a</sup>	0,206 <sup>b</sup>	0,115 <sup>c</sup>	0,117 <sup>d</sup>	0,054 <sup>e</sup>	0,059 <sup>f</sup>
d. padrão	0,165	0,173	0,144	0,208	0,059	0,064
Positivo/negativo	40/10	32/18	21/29	15/25	8/33	23/114
Sensibilidade	80,0 %	64,0 %	42,0 %	36,6 %	19,5 %	
Especificidade	83,0 %	83,0 %	83,0 %	83,0 %	83,0 %	

<sup>a</sup> versus <sup>b</sup> diferença não significativamente diferente (Teste de Student,  $s = 0,811$ ); <sup>a</sup> versus <sup>c</sup>, <sup>d</sup>, <sup>e</sup> e <sup>f</sup> diferenças significativamente diferentes (Teste de Student,  $s = 0,002$ ;  $s = 0,015$ ;  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ); <sup>b</sup> versus <sup>c</sup>, <sup>d</sup>, <sup>e</sup>, <sup>f</sup> diferenças significativamente diferentes (Teste de Student,  $s = 0,006$ ;  $s = 0,030$ ;  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ); <sup>f</sup> versus <sup>c</sup>, <sup>e</sup> e <sup>d</sup> diferenças significativamente diferentes (Teste de Student,  $s = 0,000$ ;  $s = 0,005$ ); <sup>f</sup> versus <sup>e</sup> diferença não significativamente diferente (Teste de Student,  $s = 0,624$ ).

## QUADRO XXXVII

MÉDIA E DESVIO PADRÃO, POSITIVIDADE ( $\Delta 414 \geq 0,100$ ) E NEGATIVIDADE ( $\Delta 414 < 0,100$ ), SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE OBSERVADAS, EM TESTE E.L.I.S.A., NA RESPOSTA IMUNITÁRIA EM IgM AO ANTIGÉNIO MICOSIDO B NOS SOROS DOS DOENTES TUBERCULOSOS, GRUPO TUB, DOS DOENTES DE HANSEN, GRUPOS L/M-5, L/M+5, L/P-5, E L/P+5, E DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST.

MICOSIDO B E.L.I.S.A.	Tub n = 50	L/M-5 n = 50	L/M+5 n = 50	L/P-5 n = 41	L/P+5 n = 41	Test n = 137
$\Delta 414 \mu$	0,201 <sup>a</sup>	0,184 <sup>b</sup>	0,131 <sup>c</sup>	0,102 <sup>d</sup>	0,057 <sup>e</sup>	0,101 <sup>f</sup>
d. padrão	0,152	0,167	0,132	0,154	0,055	0,101
Positivo/negativo	37/13	32/18	24/26	14/27	6/35	48/89
Sensibilidade	74,0 %	64,0 %	48,0 %	51,8 %	14,6 %	
Especificidade	65,0 %	65,0 %	65,0 %	65,0 %	65,0 %	

<sup>a</sup> versus <sup>b</sup> diferença não significativamente diferente (Teste de Student,  $s = 0,594$ ); <sup>a</sup> versus <sup>c</sup>, <sup>d</sup>, <sup>e</sup> e <sup>f</sup> diferenças significativamente diferentes (Teste de Student,  $s = 0,015$ ;  $s = 0,003$ ;  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ); <sup>b</sup> versus <sup>c</sup> diferença não significativamente diferente (Teste de Student,  $s = 0,081$ ); <sup>b</sup> versus <sup>d</sup>, <sup>e</sup> e <sup>f</sup> diferenças significativamente diferentes (Teste de Student,  $s = 0,018$ ;  $s = 0,000$ ;  $s = 0,000$ ).

## QUADRO XXXVIII

RESPOSTA À TUBERCULINA DOS INDIVÍDUOS INTEGRANTES DO GRUPO TESTEMUNHA, TEST, EM RELAÇÃO COM A RESPOSTA ANTIGÉNICA EM IgM DOS RESPECTIVOS SOROS, EM TESTE E.L.I.S.A., AO ANTIGÉNIO MICOSIDO B

MICOSIDO B E.L.I.S.A.	Reacção à tuberculina		Total
	reactivos $\geq 5$ mm	não reactivos <5 mm	
POSITIVO $\Delta 414 \geq 0,100$	38	10	48
NEGATIVO $\Delta 414 < 0,100$	76	13	89
Total	114	23	137

Não se observa uma diferença estatisticamente significativa entre os resultados no teste E.L.I.S.A. dos indivíduos reactivos e dos não reactivos (Teste de Student:  $s = 0,140$ ).

## 5. Discussão

A obtenção de métodos possibilitando o diagnóstico precoce de situações de doença é um objectivo perseguido por médicos, investigadores e cientistas desde há longo tempo, na perspectiva de que, uma atitude terapêutica será de tanto maior eficácia quanto menor fôr o desenvolvimento do quadro patológico.

No domínio das doenças transmissíveis, acresce que uma terapêutica eficaz interrompe a contagiosidade do doente, de onde a relevância em termos de Saúde da Comunidade de um diagnóstico precoce.

Um melhor conhecimento da história natural das doenças transmissíveis permite hoje diferenciar, para algumas, as situações de infecção das de doença, bem como afirmar que, para uns agentes, situações de infecção não são sinónimo de contagiosidade, que só ocorrerá após a eclosão da doença (por exemplo, a infecção tuberculosa), enquanto para outros infecção é sinónimo de risco de contagiosidade (como nas infecções pelo vírus HIV). Em consequência, um método de diagnóstico precoce deverá, em alguns casos, possibilitar a distinção entre situações de infecção e de doença (tuberculose), e noutros afirmar a infecção (HIV).

Um teste de diagnóstico precoce, de rastreio, tem particular interesse em doenças de elevada incidência, e também em doenças de baixa incidência mas muita gravidade, desde que se conheçam medidas e ou terapêuticas eficazes para evitar a progressão da doença no indivíduo e/ou na Comunidade<sup>(117)</sup>. No entanto, resultados positivos do teste não constituem, em geral, razão para a instituição de uma terapêutica, dado não permitirem, *per si*, a afirmação de um diagnóstico definitivo.

De entre as qualidades próprias a um teste de rastreio — uma boa validade interna (qualidade de selecção, de observação, de comparação e de discriminação) e uma boa validade externa (reprodutibilidade, rendimento, exactidão)<sup>(246)</sup> — é de acentuar a necessidade, própria a este tipo de testes, de possuírem uma elevada sensibilidade, condição particularmente importante no caso das doenças transmissíveis, principalmente por duas ordens de razões:

- a) uma elevada sensibilidade permite detectar a quase totalidade dos casos existentes na população em estudo, e logo, após a confirmação dos diagnósticos, o seu subsequente tratamento, não persistindo casos desconhecidos em evolução;

- b) uma elevada sensibilidade viabiliza, em consequência de a), a diminuição da contagiosidade, possibilitando, eventualmente, perspectivar o controlo da doença na Comunidade.

Uma baixa sensibilidade conduz à não detecção de um certo número de casos, negligenciando-se deste modo um determinado número de indivíduos que, mantendo-se doentes, perenizam a doença na Comunidade. Infelizmente, a uma elevada sensibilidade de um teste corresponde com frequência, uma baixa especificidade, e vice-versa. Um teste de diagnóstico precoce e de rastreio, se deve possuir uma sensibilidade elevada, superior a 85 %, não deverá, em princípio, ter uma especificidade inferior a 80 %. Se a especificidade fôr baixa, o elevado número de falsos positivos que se observarão, embora não tendo consequências para os indivíduos, representam um problema a nível de custos, dada a multiplicação de exames médicos e de testes para obtenção de um diagnóstico clínico, de certeza, que não são confirmativos<sup>(153, 192)</sup>.

Na lepra e na tuberculose, doenças de elevada incidência, graves, cuja história natural é bem conhecida, tratáveis, quer individualmente quer numa perspectiva comunitária, logo controláveis, e em que o tratamento no estado pré-sintomático reduzirá a morbilidade e a mortalidade, bem como, e de forma determinante, a contagiosidade, a existência de testes de diagnóstico precoce será de enorme importância.

Muitos investigadores procuraram obter testes serológicos para o diagnóstico da lepra e da tuberculose, utilizando as técnicas de laboratório conhecidas na sua época: um teste de aglutinação foi apresentado em 1893, por Arloing e Courment<sup>(10, 11)</sup>; apenas 16 anos após a descoberta por Koch do bacilo da tuberculose; testes de fixação de complemento foram utilizados por Besredka, 1911<sup>(22)</sup>; Harris e Lanford, 1913<sup>(138)</sup>; Coulthard, 1923<sup>(65)</sup>; e Frind, 1924<sup>(111)</sup>, com diferentes antigénios para o diagnóstico da tuberculose, e por Eitner, 1906<sup>(93)</sup>; Frugoni, 1909<sup>(113)</sup>; Witebsky, 1931<sup>(319)</sup> e Brants, 1932<sup>(26)</sup>, entre outros, na perspectiva de diagnosticar serologicamente as diferentes formas de lepra; os testes de hemoaglutinação foram um passo importante na metodologia do diagnóstico serológico, sendo utilizados primeiro para a tuberculose por Middlebrook e Dubos, em 1948<sup>(197)</sup>, no que foram seguidos, com diferentes antigénios por Boyden, 1958<sup>(25)</sup>, Spangberg, 1959<sup>(269)</sup>, Takahashi, Fujita e Sasaki, 1961<sup>(277)</sup>, Freedman e

colaboradores, 1966<sup>(110)</sup>, e Daniel e Baum, 1968<sup>(75)</sup>, tendo sido também utilizados por vários investigadores nos seus esforços para obter um diagnóstico fiável da lepra, como Jagannath e Jengupta, 1951<sup>(150)</sup>, Levine e colaboradores, 1952<sup>(181)</sup>, e Aono, 1953<sup>(9)</sup>; no domínio da lepra, o teste de Rubino, 1926, basicamente uma reacção de sedimentação, foi utilizado até há poucos anos se bem que tendo uma muito baixa especificidade<sup>(247)</sup>.

Com o progresso do conhecimento em imunologia, procurou-se evidenciar e, se possível, quantificar as reacções antigénio-anticorpo: por difusão em gel / Burrell e Rheins, 1956, 1959<sup>(40, 239)</sup>, Navalkar e colaboradores, 1964, 1971<sup>(210, 211)</sup>, Myrvang e colaboradores, 1974<sup>(206)</sup>, Stanford e colaboradores, 1975<sup>(270)</sup>, e Caldwell e colaboradores, 1979<sup>(41)</sup>, no caso da lepra e Parlett e Youmans, 1964<sup>(219)</sup>, Norlin e colaboradores, 1966<sup>(12)</sup>, no campo da tuberculose; postas em evidência por imunofluorescência indirecta — Morris, 1961<sup>(203)</sup>, Abe e colaboradores, 1971, 1976, 1980<sup>(1, 2, 3)</sup>, Bharadwaj e colaboradores, 1981<sup>(23)</sup>, na lepra, Toussaint e colaboradores, 1969<sup>(283)</sup>, Nassau e Merrick, 1970<sup>(207)</sup>, na tuberculose; por imuno-electroforese — Kronval e colaboradores, 1975<sup>(167)</sup>, Harboe e colaboradores, 1976, 1977<sup>(133, 134)</sup>, na lepra, e Raffel, 1961<sup>(232)</sup>, na tuberculose; por testes de radio-imunidade — Harboe e colaboradores, 1978, 1981<sup>(135, 136)</sup>, Melson e colaboradores, 1978<sup>(195)</sup>, na lepra, e Minden e Farr, 1969<sup>(200)</sup>, Nassau e colaboradores 1975<sup>(208)</sup>, na tuberculose; por aglutinação em latex — Zykov e colaboradores, 1967<sup>(331)</sup>, Dietz e colaboradores, 1967<sup>(84)</sup>, Duboczy e White, 1969<sup>(91)</sup>, para a tuberculose; e, nos últimos anos, correndo ao método E.L.I.S.A., quer na tuberculose — Nassau e colaboradores, 1976<sup>(209)</sup>, Grange e colaboradores, 1980, 1982<sup>(128, 129)</sup>, Kardjito e colaboradores, 1982<sup>(157)</sup>, Garcia-Ortegoza, 1982<sup>(118)</sup>, Jagannath, 1983<sup>(151)</sup>, Benjamin e colaboradores, 1984<sup>(21)</sup>, Kiran e colaboradores, 1985<sup>(164)</sup>, quer na lepra — Stanford e colaboradores, 1980<sup>(272)</sup>, Samuel e Adiga, 1984<sup>(251)</sup>, Chakinis e colaboradores, 1984<sup>(47)</sup> e Estrada-Garcia, 1984<sup>(96)</sup>, entre outros.

Todos os testes serológicos referidos foram concebidos para possibilitar o diagnóstico definitivo da tuberculose ou da lepra. Nenhum apresentou um grau de qualidade — especialmente quanto à sensibilidade e à especificidade, suficiente para ser correntemente utilizado na prática laboratorial. A causa comum desta longa série de inêxitos prende-se, fundamentalmente, com as características dos antigénios usados: nenhum dos autores

referidos utilizou como antigénio uma substância purificada, de composição quimicamente definida. Em consequência, a multiplicação de reacções cruzadas não podia ser objecto de uma explicação cientificamente demonstrável, a comprovação de que os antigénios eram únicos e específicos de *M. tuberculosis* ou de *M. lepræ* era inviável. Sendo sabido que *M. tuberculosis* e *M. lepræ* partilham entre si, com outras micobactérias e também com as Nocardias, Corinebactérias e Rhodococcus determinantes antigénicos<sup>(49, 60, 241, 242)</sup>, o uso de extractos, filtrados, produtos de sonicação, não possibilita afirmar que os produtos antigénicos obtidos sejam característicos da espécie, de onde a multiplicidade de resultados falsos positivos ou a baixa sensibilidade, em geral, observados.

Reggiardo<sup>(236, 237, 238)</sup>, foi o primeiro investigador a utilizar antigénios purificados, de composição química conhecida, definida, (glicolípido micobacteriano de *M. bovis* — glicolípido não fosforado, fosfatidilinositol diaminosido e fosfatidilinositol pentamansido), no diagnóstico da tuberculose.

A descoberta por Brennan e colaboradores de um glicolípido fenólico, PGL-I, bioquimicamente único e imunologicamente específico, de *M. lepræ*<sup>(28, 30, 142, 143, 144, 220)</sup>, perspectivou um novo capítulo no serodiagnóstico da lepra.

Sendo conhecido que nos doentes com lepra os níveis de anticorpos variavam consoante a forma clínica da doença<sup>(206, 289)</sup>, e ao longo da terapêutica<sup>(235, 289)</sup>, sabendo-se da presença de anticorpos anti-glicolípido no soro de doentes de lepra<sup>(220)</sup>, e presumindo-se que o glicolípido fenólico isolado por Brennan a partir de bacilos de *M. lepræ* extraídos do armadilha, apresentava uma constituição quimicamente semelhante à do glicolípido fenólico isolado nos tecidos de doentes lepromatosos, o que posteriormente se confirmou<sup>(149, 325)</sup>, procurou-se verificar a possibilidade de o PGL-I ser utilizado no diagnóstico das diferentes formas de lepra, da presença de anticorpos anti-PGL-I em doentes com outras doenças por micobactérias, bem como da sua utilidade como indicador da evolução da resposta terapêutica.

Os primeiros estudos serológicos efectuados, Brett e colaboradores, 1983<sup>(33)</sup>, Cho, Brennan e colaboradores, 1983<sup>(57)</sup>, Young e Buchannan, 1983<sup>(326)</sup>, mostram uma forte resposta antigénica ao PGL-I nos doentes lepromatosos, uma resposta pobre nos doentes com formas tuberculoides e borderline tuberculoides, e uma resposta diminuída no indivíduo com tuberculose e nos indivíduos saudáveis, sem doença aparente. Evidenciou-se a

correlação entre a resposta antigénica anti-PGL-I observada — predominantemente da sub-classe de imunoglobulinas IgM, o que foi posteriormente confirmado por Young e colaboradores<sup>(327, 328)</sup> — e as formas e a gravidade da doença<sup>(8, 187, 255)</sup>, assim como a diminuição da resposta antigénica nos doentes sujeitos a tratamento<sup>(57)</sup>, mais tarde repetidamente verificada<sup>(14, 182, 183, 199)</sup>. Observou-se e quantificou-se a antigenémia nas formas multibacilares<sup>(59)</sup>. As características hidrofóbicas de PGL-I levaram à síntese e produção de neoglicoproteínas hidrofílicas ligadas à porção trissacarídica específica do PGL-I<sup>(52, 53, 57, 58, 114, 115)</sup>, bem como a esforços no sentido de normalização da técnica laboratorial<sup>(194, 252)</sup>, bem como à sua simplificação — «spot» testes<sup>(156, 329)</sup>.

Vários estudos em populações de áreas de elevada incidência e prevalência de lepra têm sido efectuados<sup>(39, 106, 119, 125)</sup>. Se bem que os resultados observados com o antígeno PGL-I sejam claramente superiores aos obtidos com outros antígenos micobacterianos, não específicos<sup>(85, 86)</sup>, de todos ressalta um desencorajante baixo nível de resposta em doentes com formas paucibacilares assim como nos contactantes, não possibilitando nestes dois grupos o diagnóstico de formas sub-clínicas da doença. A parte do nosso estudo respeitante à avaliação da resposta antigénica ao PGL-I no soro dos doentes com lepra teve como principais objectivos:

- a) verificar as técnicas e os resultados obtidos por outros investigadores;
- b) aprofundar o conhecimento respeitante à resposta antigénica segundo a situação clínica, condição bacilar e actividade da doença, tirando proveito da população de doentes leprosos portugueses, população bem estudada clinicamente e registada em ficheiro actualizado anualmente;
- c) permitir valorizar a resposta imunológica obtida com o PGL-I, comparando-a às respostas obtidas com os glicolípidos fenólicos heterólogos, razão que nos levou a utilizar o PGL-I nativo e não deacetilado, nem o antígeno sintetizado.

Os resultados obtidos são globalmente semelhantes aos referidos na literatura que atrás citámos, independentemente da forma de PGL-I utilizado pelos diferentes autores.

Algumas considerações sobre estes resultados:

- a) A condição de multibacilar não é por si mandatória de uma serologia positiva;
- b) Também a condição de paucibacilar não significa uma resposta serológica negativa;
- c) A serologia não permite fazer a distinção das formas clínicas, LL, BL, I, BT e TT;
- d) A condição de doente activo, independentemente da forma clínica, quer nos doentes multibacilares quer nos paucibacilares, afirmada pelo médico do doente e baseada em critérios clínicos e bacteriológicos, correspondeu em todos os casos, com uma excepção, a uma positividade serológica;
- e) Não obstante o referido nos pontos anteriores, pode verificar-se que existe uma correlação global entre as formas clínicas da lepra segundo a classificação de Ridley e Jopling, a intensidade da resposta serológica ao antígeno PGL-I observada e a consequente sensibilidade do teste; assim, um doente com um elevado índice bacteriológico e uma lepromina negativa deverá ter uma resposta antigénica intensa, enquanto no polo oposto, a uma bacteriologia negativa e uma lepromina positiva corresponderá uma resposta antigénica não significativa;
- f) No entanto, uma lepromina negativa não é sinónimo de uma serologia positiva nem a uma lepromina positiva corresponderá obrigatoriamente uma serologia negativa;
- g) Tendo em conta que os doentes considerados clinicamente activos se encontravam todos sob terapêutica tripla (rifampicina, etambutol, DDS), há mais de três meses, e, em consequência, não excretando bacilos viáveis<sup>(262)</sup>, uma resposta serológica positiva não pode ser considerada como indicativa da contagiosidade de um doente.

Os contactantes dos doentes de lepra constituem o grupo de maior risco de contrair a doença. Numa área de elevada prevalência de lepra os cohabitantes dos doentes paucibacilares ocorrem num risco de doença duas vezes superior ao da população em geral e os contactantes dos doentes multibacilares correm um risco cinco a dez vezes superior ao da população geral<sup>(88, 104, 233)</sup>. Daqui, a evidência de os contactantes, pela maior probabilidade de detecção de casos de doença, serem a primeira população a rastrear. No entanto, a

avaliação da eficiência de um teste de rastreio nesta população encontra um obstáculo maior: o longo período de incubação da lepra, que pode variar de 1 a 4, 9 ou mais anos, consoante a forma clínica<sup>(103, 131, 172, 177, 258)</sup>, dificulta sobremaneira a afirmação de uma situação de doença face a um quadro de infecção subclínica, único modo de confirmar ou infirmar a positividade de um resultado serológico, dado obrigar a prolongar no tempo, de forma inviável para a sua prossecução, a maioria dos estudos.

No nosso estudo a esta dificuldade acresce a baixa incidência e a baixa prevalência da lepra em Portugal, em concomitância com a boa qualidade do seguimento médico dos doentes, permitindo uma não contagiosidade mantida, e com o rastreio, por exame clínico periódico, dos contactantes próximos dos doentes.

Podemos, no entanto, tirar ilações dos resultados que obtivemos; a comparação dos valores médios de resposta imunológica ao antigénio PGL-I observados nos grupos contactantes e no grupo testemunha de indivíduos saudáveis ao não apresentar diferenças significativas indicia o baixo risco dos contactantes de doentes de lepra estudados de contrair a doença, risco próximo ao da população em geral. Ao observarmos comparações semelhantes, efectuadas noutros estudos, em regiões de elevada prevalência de lepra, verificamos valores médios de resposta imunológica ao PGL-I, claramente superiores nos contactantes face à população, como na Etiópia, 56 % contra 33 %<sup>(196)</sup>, no México, 23 % e 5 %<sup>(37)</sup>, no Sri-Lanka, 33 % e 9 %<sup>(37)</sup>, na Polinésia, 12,8 % e 4,5 %<sup>(48)</sup> e nas Filipinas, 11,2 % nos contactantes contra 1,7 % na população em geral<sup>(87)</sup>.

Esta semelhança entre a resposta imunológica ao PGL-I, observada no soro dos indivíduos contactantes dos doentes de lepra e os indivíduos saudáveis integrando o grupo testemunha, não se limita a este glicolípido fenólico; também são aproximados os valores das densidades ópticas médias obtidas no teste E.L.I.S.A., no respeitante aos antigénios PGL-Tb-I, micosidos B e G e PGL-K-I, o que reforça a noção de similaridade entre estes grupos.

Estes antigénios, heterólogos para os doentes de lepra, provocam respostas serológicas intensas nos doentes dos grupos multibacilares, e de menor intensidade no grupo de doentes paucibacilares L/P-5, reacções significativamente diferentes das observadas no grupo testemunha; observa-se assim uma graduação de intensidade de resposta aos antigénios heterólogos decrescente das formas

multibacilares para as paucibacilares e, de entre estas, das recentes para as tardias. Sendo os antigénios quimicamente definidos e, em princípio, específicos das espécies micobacterianas de que foram isolados, como explicar esta resposta antigénica que, aliás, também se observa no soro dos doentes tuberculosos com os respectivos antigénios heterólogos, PGL-I, micosidos B e G e PGL-K-I, com uma intensidade semelhante à constatada nas formas multibacilares recentes dos doentes de lepra?

Podemos questionar a especificidade dos glicolípidos fenólicos.

Se bem que Brennan e colaboradores refiram que um antisoro de coelho contra o PGL-I reage contra 7 dos 31 serotipos do serocomplexo *M. avium* - *M. intracellulare* - *M. scrofulaceum* e não reage contra *M. kansasii* e *M. bovis*<sup>(57)</sup>, Brett assinala reacções cruzadas entre um antisoro de coelho contra o PGL-I e os glicolípidos de *M. kansasii*, PGL-K-I e de *M. bovis*, micosido B<sup>(34)</sup>.

O PGL-Tb-I apresenta também uma elevada especificidade: um antisoro de coelho contra o PGL-Tb-I não reage contra nenhum dos outros glicolípidos fenólicos PGL-I, micosidos B e G e PGL-K-I, não reage contra extractos de clorofórmio/metanol de 18 outras estirpes de micobactérias<sup>(217)</sup>, e também não reage contra extractos de *M. bovis* BCG, de *M. xenopi*, de *M. flavescens*, de *M. fallax* e de *M. terræ*, contrariamente ao anteriormente descrito<sup>(217)</sup> (Papa, comunicação pessoal); embora extraído da estirpe Canetti, de *M. tuberculosis*, reagiu igualmente contra extractos de 18 outras estirpes *M. tuberculosis* provenientes de doentes<sup>(218)</sup>. Saliente-se não se observar reacção contra a estirpe padrão, H37Rv (ATCC27294)<sup>(218)</sup>.

A especificidade do PGL-K-I também está demonstrada; extractos de 22 espécies micobacterianas não reagiram contra um antisoro de coelho contra o PGL-K-I, contrariamente a extractos de 50 estirpes de *M. kansasii* e ao extracto de *M. gastri*<sup>(216)</sup>, espécie que se verificou produzir um glicolípido fenólico de composição e estrutura semelhantes ao PGL-K-I<sup>(292)</sup>.

O micosido G, específico de *M. marinum*, não se apresenta imunogénico para o coelho<sup>(68)</sup>.

Face a estes elementos não parece possível explicar as fortes reacções aos antigénios heterólogos por parte dos soros dos doentes com formas multibacilares de lepra e dos doentes com tuberculose, sendo de excluir a possibilidade de reacções cruzadas entre os diferentes glicolípidos fenólicos.

Poder-se-ia supor que as reacções observadas fossem resultado de uma resposta imunológica,

contra produtos intermediários do metabolismo ou produtos de degradação dos glicolípidos fenólicos; no entanto, esta hipótese não colhe no caso do PGL-K-I, de estrutura completamente diferente da do PGL-I e do PGL-Tb-I.

Restam duas outras hipóteses, baseadas no grande número de micobactérias do meio ambiente, com as quais o Homem contacta frequentemente, e que o podem, eventualmente, imunizar, como se mostrou nalguns casos atrás assinalados. Acresce que, para os diferentes glicolípidos fenólicos, no estudo da sua respectiva especificidade, como referimos, apenas cerca de 20 espécies foram estudadas na perspectiva da existência de reacções cruzadas, o que representa uma margem de incógnita elevada quanto às cerca de 35 espécies não estudadas. Poder-se-á assim especular, que haverá lugar a outras reacções cruzadas para além das referidas com *M. gastri* e alguns serotipos de *M. avium*.

Poder-se-ia, deste modo, dar lugar a reacções cruzadas por partilha dos epitopos com micobactérias do meio ambiente, ou supor que, nas formas activas de tuberculose e de lepra, as micobactérias circulantes agiriam como adjuvantes relançando uma resposta imunitária fruto de anterior contacto com micobactérias do meio ambiente.

A questão mantém-se em aberto, sem uma resposta concludente.

Em qualquer caso, as baixas sensibilidades e especificidades observadas com os glicolípidos fenólicos heterólogos não permitem supor o seu uso no diagnóstico da tuberculose ou da lepra.

A resposta imunológica observada nos doentes tuberculosos, face ao antigénio PGL-I, apresenta valores mais elevados que não têm paralelo na literatura; a maioria dos autores refere respostas imunológicas nulas ou com valores pouco significativos (33, 35, 57, 58, 326), dentro dos respectivos parâmetros de positividade. Pensamos que os nossos resultados, se podem, em parte, ser devidos aos relativamente baixos limiares de positividade adoptados, não traduzem problemas técnicos, dada a reciprocidade observada entre os doentes de tuberculose e os de lepra com formas multibacilares, bem como o facto de ocorrerem com todos os antigénios heterólogos de cada grupo. A hipótese da influência imunitária das micobactérias do meio ambiente, pode ser de novo levantada; embora na população testemunha a curva de respostas à prova de tuberculina não seja perfeitamente compatível com a de regiões de elevada prevalência de micobactérias não tuberculosas (51), a variedade de estirpes de micobactérias não

tuberculosas isoladas em doentes portugueses, como atrás referimos, poderá intervir como elemento a considerar na explicação da baixa percentagem de indivíduos tuberculino positivos observada, num país de vacinação obrigatória pelo BCG, e que mantém elevadas taxas de incidência e de prevalência de tuberculose.

A vacinação pelo BCG poderá ser suposta como responsável pelos valores de resposta imunológica ao antigénio micosido B, obtidos nos indivíduos do grupo testemunha, valores globais mais elevados, e significativamente diferentes, dos observados com os outros antigénios.

O desenvolvimento de novas tecnologias para o diagnóstico e prevenção da tuberculose é um dos objectivos prioritários para que programas de controlo da tuberculose possam ser eficazes (6, 19, 46, 322). Actualmente estima-se em 3 a 4 milhões o número anual de novos casos de tuberculose, igual número de novos casos de infecção tuberculosa, e calcula-se que a tuberculose seja responsável por 2 a 3 milhões de mortes por ano (322). A situação epidemiológica modifica-se, no sentido do agravamento, nos países desenvolvidos, em grupos de risco precisos, como os idosos, os alcoólicos, os drogados e os indivíduos infectados pelo vírus HIV (43, 45, 322), e nos países em desenvolvimento, a lenta baixa do risco de infecção confronta-se aos ineficazes programas de luta, às resistências medicamentosas e, em muitos deles, à enorme epidemia pelo vírus HIV (17, 180).

Estima-se que nos países em desenvolvimento 50 % dos doentes não sejam objecto de diagnóstico clínico (322), de onde um enorme reservatório de indivíduos contagiantes, não detectados.

Correntemente a prevenção baseia-se na vacinação das crianças pelo BCG, de suposto interesse na prevenção das formas graves dos jovens (meningite e tuberculose miliar) (278, 311), mas claramente ineficaz no corte da cadeia de transmissão, na limitação da contagiosidade (224), no diagnóstico precoce e no tratamento dos casos detectados. Os métodos de diagnóstico precoce utilizados são a radiologia, que tem uma sensibilidade de 12 a 24 % (279) e o exame directo de produtos do doente, que terá uma sensibilidade entre 40 a 60 % (79).

Apesar do elevado número de exames directos efectuados nos indivíduos clinicamente suspeitos de tuberculose (em geral menos de 5 % dos exames directos dos produtos enviados aos laboratórios são positivos), apenas 40 a 60 % dos doentes são detectados por exame directo (um exame directo é positivo desde que haja 10<sup>4</sup>

bacilos por ml, sendo que há formas graves com expectoração negativa), sendo mais 30 a 50 % detectados por cultura e havendo 2 a 3 % de casos de tuberculose negativos ao exame directo e à cultura (79, 279). Este quadro agrava-se nos casos de tuberculose não pulmonar, em que a confirmação bacteriológica é rara.

Cada caso de tuberculose diagnosticado, em geral, formas abertas reveladoras de uma longa evolução e logo de arrastada contagiosidade, representa um enorme esforço desenvolvido em meios humanos e materiais; é evidente a inadequação dos meios disponíveis para o diagnóstico precoce da tuberculose.

Se alguns progressos foram obtidos no respeitante à identificação das micobactérias isoladas, reduzindo o tempo de identificação da espécie — sistema radiométrico, Bactec (70, 198, 245), e sondas de ácido nucleico (124, 205), quer os esforços efectuados no domínio do diagnóstico rápido dos produtos dos doentes por sondas de ADN (130), quer no domínio do diagnóstico serológico (76, 243), têm-se revelado pouco frutuozos, em nosso entender, por duas razões principais: a primeira resulta da utilização de antígenos quimicamente não definidos, ou, no caso de o serem, de serem antígenos proteicos, de especificidade em relação à espécie *M. tuberculosis* dificilmente observável (243); a segunda decorre da procura de valores de especificidade próximos de 100 %, o que, se é fundamental para afirmar um diagnóstico, não o é para o rastreio. Embora na perspectiva de um teste de diagnóstico definitivo, salientem-se os resultados de Daniel e colaboradores conseguidos com o antígeno 5 de *M. tuberculosis*, o qual, embora contenha epitopos não específicos de par com outros específicos (243), permitiu obter uma especificidade de 100 % e sensibilidades de 89 % e de 64 % (15, 188).

O teste de rastreio, de diagnóstico precoce, ideal, deverá distinguir as situações de infecção das de doença, antes da aparição de sintomatologia clínica, deverá ser positivo nos casos de doença paucibacilar, casos em que o exame directo dos produtos do doente é negativo, e, claro, nos casos de doença excretora de bacilos. Deverá ser um teste que não tenha reacções cruzadas, não só com outras infecções ou doenças micobacterianas, mas também com outras situações de doença correntes nos países em desenvolvimento, como, por exemplo, a malária. Deverá ser suficientemente sensível para detectar a doença, independentemente das variações de produção de anticorpos que ocorrem ao longo da doença, que

se sabe ser variável, embora existam importantes lacunas no conhecimento da patogenese da tuberculose (6).

Os resultados obtidos com o antígeno PGL-Tb-I permitem supor a sua utilidade no diagnóstico precoce da tuberculose.

Verifica-se uma boa sensibilidade de 98 % e uma especificidade de 90,5 %, um valor predictivo de um resultado positivo de 79 %, um valor predictivo de um resultado negativo de 99,2 % e uma eficiência global do teste de 92,5 %. O teste é discriminatório da infecção da doença, não positivando nos casos de infecção, mesmo nos indivíduos com fortes reacções tuberculino-positivas.

De entre os indivíduos saudáveis do grupo testemunha, que apresentaram resultados positivos à serologia, resultados falsos positivos, (até ao presente momento, 18 meses após a colheita do sangue, nenhum dos indivíduos saudáveis com resultados positivos desenvolveu uma tuberculose, pelo que se confirma a condição de falsos positivos), salienta-se que quatro tinham sofrido 4 a 6 vacinações pelo BCG, e um quinto tinha sido vacinado há menos de 6 meses antes da colheita de sangue. No entanto, podemos afirmar que a vacinação pelo BCG, quando efectuada há mais longo tempo e desde que não se verifiquem situações anormais de repetição de vacinação, parece não afectar o resultado da serologia, dado que, independentemente da idade, 72 dos indivíduos deste grupo eram funcionários públicos, e muitos, certamente, vacinados pelo menos uma vez pelo BCG.

Estamos perante um teste de diagnóstico serológico que utiliza, como antígeno, uma substância quimicamente definida, o PGL-Tb-I, específica de *M. tuberculosis*, não dispendioso nem tecnicamente difícil, permitindo a realização de um grande número de testes num curto período de tempo, que foi estudado para além dos doentes de tuberculose, num amplo grupo testemunha, não objecto de critérios de selecção constringentes (ao qual se poderá juntar os indivíduos dos grupos contactantes dos doentes leprosos) revelando um baixo número de reacções cruzadas, um número reduzido de casos falsos positivos. O valor predictivo de um resultado negativo, que nos dá uma estimativa da real ausência de doença, ao apresentar um valor elevado, (em cada 1000 indivíduos com respostas serológicas negativas, 992 são-no certamente), permite-nos a tranquilidade de sabermos que um escasso número de casos de doença permanecerá na Comunidade, não pondo em causa

um possível programa de controlo da tuberculose, o que, aliado ao já referido, o permite afirmar como um teste promissor para o diagnóstico precoce, para o rastreio da tuberculose.

No entanto, após este primeiro estudo serológico com o antígeno PGL-Tb-I, algumas das condições próprias de um bom teste de rastreio e necessárias para a sua utilização corrente, ainda não estão preenchidas.

Um resultado positivo a um teste de rastreio não deverá dar lugar ao início de terapêutica, que deverá ocorrer apenas após um diagnóstico definitivo, o qual, presentemente, depende da demonstração da presença de bacilos de *M. tuberculosis* nos produtos do doente. Na tuberculose, nos 40 a 60 % de casos de exame directo negativo o processo cultural é lento, 4 a 6 semanas, intervalo de tempo em certas situações incompatível com a necessidade de iniciar uma terapêutica, de que é exemplo primeiro a meningite tuberculosa.

Na meningite tuberculosa em que somente 37 % dos primeiros exames directos do líquido cefalo-raquídeo são positivos e apenas 52 % dos casos apresentam culturas positivas<sup>(163)</sup>, a decisão terapêutica é urgente e continua, ainda, a ser resultado da conjugação de elementos indiciadores da doença, apesar dos trabalhos de diversos autores, sem resultados concludentes, procurando obter um teste serológico ou no líquido cefalo-raquídeo (LCR), para afirmação do diagnóstico — entre outros a pesquisa de anticorpos anti-micobacterianos<sup>(64, 139)</sup> e de antígenos micobacterianos<sup>(155)</sup> no LCR, de adenosino deaminase<sup>(225, 240)</sup> e de produtos bioquímicos micobacterianos no LCR<sup>(36, 191)</sup>. A resposta a um teste serológico de rastreio poderá ser mais um elemento útil na decisão que possibilitará iniciar uma terapêutica específica.

No respeitante ao teste ELISA com o antígeno PGL-Tb-I, esta hipótese foi confrontada pelos resultados do estudo preliminar que efectuámos, e em que os 10 doentes com meningite tuberculosa apresentaram resultados positivos no teste serológico<sup>(282)</sup>.

No entanto, o ideal será a disponibilidade de testes serológicos de diagnóstico definitivo, com uma especificidade de 100 %, que permitam, em sequência, confirmar ou infirmar, num curto período de tempo, a resposta positiva a um teste de rastreio. Não só haverá evidentes vantagens no caso da meningite tuberculosa, mas também para o doente de tuberculose pulmonar, que iniciará em 40 a 60 % dos casos a sua terapêutica 4 a 6 semanas mais cedo; são igualmente enormes as vantagens para a Saúde da Comunidade, pelo encurtamento do período de contagiosidade.

O isolamento de sulfolípidos característicos de *M. tuberculosis*, com comprovadas propriedades antigénicas<sup>(73)</sup>, e que revelaram em teste E.L.I.S.A., nos estudos serológicos preliminares, uma elevada especificidade<sup>(67)</sup> permite otimizar as perspectivas do desenvolvimento do diagnóstico serológico de rastreio e definitivo da tuberculose.

## 6. Conclusões

Sendo o diagnóstico precoce da lepra e da tuberculose um objectivo maior de investigação, na medida em que possibilitará novas vias aos programas de prevenção e rastreio destas duas endemias, o diagnóstico serológico parece ser, pela sua facilidade técnica, pela sua reprodutibilidade e pelo seu baixo custo, o método de eleição para detectar a resposta imunitária humana face ao *M. tuberculosis* e ao *M. lepræ*.

Sendo a obtenção de antígenos quimicamente definidos e característicos das espécies micobacterianas um elemento básico para o diagnóstico serológico, o isolamento dos glicolípidos fenólicos de *M. lepræ*, PGL-I, e de *M. tuberculosis*, PGL-Tb-I, tornam exequível a efectivação de testes de diagnóstico serológico.

Os resultados obtidos com o PGL-I, mostram a aptidão do teste E.L.I.S.A. com este antígeno para assinalar a quase totalidade dos doentes com formas multibacilares e paucibacilares activas de lepra, sensibilidade 98 %, a maioria das formas multibacilares inactivas, sensibilidade 57,1 %, e a sua incapacidade para assinalar os casos de formas paucibacilares inactivas.

O teste serológico com o PGL-Tb-I permite o diagnóstico serológico da quase totalidade dos casos de tuberculose activa, sensibilidade 98 %. O valor predictivo de um resultado negativo, 99,2 % e a especificidade observada, 90,5 %, indicam-no como teste de rastreio. O teste distingue os casos de doença dos de infecção, sendo negativo para estes, e não está correlacionado com a vacinação pelo BCG.

Quer os doentes leprosos multibacilares activos quer os doentes tuberculosos reagem intensamente aos respectivos antígenos heterólogos. Quando do rastreio da tuberculose ou da lepra, uma resposta positiva deverá exigir o diagnóstico clínico e laboratorial diferencial das duas afecções micobacterianas e, eventualmente, situações agudas de doença por outras micobactérias.

A população saudável, bem como as formas paucibacilares inactivas de lepra, reagem mínima-

mente aos glicolípídeos fenólicos, mostrando que a haver reacções serológicas cruzadas com as micobactérias do meio ambiente estas ocorrem apenas no caso da existência de uma situação activa de doença.

É nosso entender que, apesar do número ainda demasiado elevado de factores não objectiváveis, que intervêm no domínio da serologia das micobacterioses, resultantes, principalmente, do grande número de espécies micobacterianas existentes no meio ambiente, o recurso a antígenos não proteicos característicos das espécies, é, no presente, a mais plausível hipótese de obtenção de testes serológicos de rastreio ou de diagnóstico serológico precoce para a lepra, a tuberculose e outras doenças por micobactérias.

Novos estudos deverão ter lugar, principalmente para afirmar ou infirmar a presença de anticorpos nas fases pré-clínicas da tuberculose, para avaliar a evolução da produção de anticorpos ao longo do curso natural da doença e sob terapêutica, a fim conhecer a relação entre a imunodeficiência decorrente da infecção pelo vírus HIV e a capacidade produtora de anticorpos anti-PGL-Tb-I, estudos que deverão ter lugar em países desenvolvidos e em países em desenvolvimento com elevadas taxas de incidência e de prevalência de tuberculose, de lepra, e de múltiplas outras afecções, tais como parasitoses, malária, tripanosomíase ou cisticercíase, a fim de verificar a variabilidade dos valores de sensibilidade e de especificidade por nós obtidos, decorrendo das condições ambientais afectando a imunidade humana.

## BIBLIOGRAFIA

1. ABE, M.; MINAGAWA, F.; YOSHINO, Y.; SASAKI, N. — Application of immunofluorescence to the studies on humoral and cellular antibodies in leprosy. *Int. J. Lepr.*, 39, 1971, 93-94.
2. ABE, M.; IZUMU, S.; SAITO, T.; MATHUR, S. K. — Early diagnosis of leprosy by indirect immunofluorescence. *Lepr. Índia*, 48, 1976, 272-276.
3. ABE, M.; MINAGAWA, F.; YOSHINO, Y.; OZAWA, T.; SAKAWA, K.; SAITO, T. — Fluorescent leprosy antibody absorption (FLA-ABS) test for detecting subclinical infection with *Mycobacterium lepræ*. *Int. J. Lepr.*, 48, 1980, 109-119.
4. ALEMQUER, M. — Sobre o tratamento da tuberculose pulmonar. *Dissertação à Fac. Med. de Lisboa para o título de Prof. Agregado. Ed. M. de Alemquer*, Lisboa, 1957.
5. AMERICAN LUNG ASSOCIATION — Diagnostic methods for tuberculosis. In: *Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis*. New York, American Lung Association, 1973.
6. AMERICAN THORACIC SOCIETY COMMITTEE ON PRIORITIES FOR TUBERCULOSIS RESEARCH — Future research in tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 138, 1988, 1327-1329.
7. AMERICAN THORACIC SOCIETY — Mycobacterioses and the acquired immunodeficiency syndrome. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136, 1987, 492-496.
8. ANDREOLI, A.; BRETT, S. J.; DRAPER, P.; PAYNE, S. N.; ROOK, G.A.W. — Changes in circulating antibody levels to the major phenolic glycolipid during erythema nodosum leprosum in leprosy patients. *Int. J. Lepr.*, 53, 1985, 211-217.
9. AONO, G. — A hemolytic reaction of erythrocytes sensitized with tuberculin and components extracted from leprosy nodules. *Tohoku J. Exp. Med.*, 57, 1953, 311-316.
10. ARLOING, S. — Agglutination de bacille de la tuberculose vrai. *CR Acad. Sci.*, Paris, 126, 1898, 1398-1400.
11. ARLOING, S.; COURMONT, P. — De l'obtention des cultures du bacille de Koch à l'étude du phénomène de l'agglutination par le sérum sanguin des tuberculeux. *CR Acad. Sci.*, Paris, 127, 1898, 312-315.
12. ASSELINEAU, C.; ASSELINEAU, J. — Waxes, mycosides and related compounds. In: *The Mycobacteria: a sourcebook*. Kubica, G. P.; Wayne, L. G., editors. New York, M. Dekker, Inc., 1984.
13. ASSELINEAU, C.; DAFFE, M.; DAVID, H. L.; LANEELLE, M. A.; RASTOGI, N. — Lipids as taxonomic markers for bacteria derived from leprosy infections. *Acta Leprol.*, 95, 1984, 121-127.
14. BACH, M.-A.; WALLACH, D.; FLAGEUL, B.; HOFFEBBACH, A.; COTTENOT, F. Antibodies to phenolic glycolipid-1 and to whole *Mycobacterium lepræ* in leprosy patients: evolution during therapy. *Int. J. Lepr.*, 54, 1986, 256-267.
15. BALESTRINO, E. A.; DANIEL, T. M.; DE LATINI, M. D. S.; LATINI, O. A.; MA, Y.; SCOCOZZA, J. B. — Serodiagnosis of pulmonary tuberculosis in Argentina by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of Ig G antibody to *Mycobacterium tuberculosis* antigen 5 and tuberculin purified derivative. *Bull. World Health Organ.*, 62, 1984, 755-761.
16. BARKSDALE, L.; KIM, K.-S. — *Mycobacterium*. *Bacteriol. Rev.*, 41, 1977, 217-234.
17. BARNES, P. F. — The influence of epidemiologic factors on drug resistance rates in tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136, 1987, 325-328.
18. BATES, J. H. — Transmission, pathogenesis, pathology and clinical manifestations of tuberculosis. In: *The Mycobacteria: a sourcebook*. Kubica, G. P.; Wayne, L. G., editors. New York, M. Dekker, Inc., 1984.
19. BATES, J.; BRENNAN, P. J.; DOUGLAS, G. W.; FEELEY, J. C.; GLASSROTH, J.; KHONE, D. E.; MARTIN, W. J.; WAYNE, L. G.; ZEISS, C. R. — Pittsfield Conference: Improvements in the diagnosis of tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 134, 1986, 401-423.
20. BEKIERKUNST, A.; LEVIJ, I. S.; YARKONI, E.; VILKAS, E. ADAM, A.; LEDERER, E. — Granuloma formation induced in mice by chemically defined mycobacterial fractions. *J. Bacteriol.*, 100, 1969, 95-102.

21. BENJAMIN, R. G.; DEBANNE, S. M.; MA, Y.; DANIEL, T. M. — Evaluation of mycobacterial antigens in an enzyme-linked-immunosorbent assay (ELISA) for the serodiagnosis of tuberculosis. *J. Med. Microbiol.*, 18, 1984, 187-195.
22. BESREDKA, A. — Ueber die Fixationsreaktion bei Tuberkulose, der Meerschweinchen, Kaninchen und Menschen. *Z. Immun. Forsch.*, 21, 1914, 77-84.
23. BHARADWAJ, V. P.; RAMU, F.; DESIKAN, K. V. — Fluorescent leprosy antibody absorption (FLA-ABS) test for early serodiagnosis of leprosy. *Lepr. Índia*, 53, 1981, 518-524.
24. BLAKE, L. A.; BURTON, C. W.; LARY, C. H.; TODD IV, J. R. — Environmental nonhuman sources of leprosy. *Rev. Infect. Dis.*, 9, 1987, 562-577.
25. BOYDEN, S. V. — The immunological response to antigens of the tubercle bacillus: some experimental aspects. *Progr. Allergy*, 5, 1958, 149-153.
26. BRANTS, J. — Komplementbindungsreaktion mit dem Tuberkulose-antigen von Witebsky, Klingenstein und Khun bei Lepra. *Dermatol. Wochenschr.*, 47, 1932, 1688-1691.
27. BRENNAN, P. J.; GOREN, M. B. — Structural studies on the type-specific antigens and lipids of the *Mycobacterium avium* — *Mycobacterium intracellulare* — *Mycobacterium scrofulaceum* complex. *J. Biol. Chem.*, 254, 1979, 4205-4211.
28. BRENNAN, P. J.; BARROW, W. W. — Evidence for species-specific lipid antigens in *Mycobacterium leprae*. *Int. J. Lepr.*, 48, 1980, 382-387.
29. BRENNAN, P. J.; ASPINALL, G. O.; NAM SHIN, J. E. — Structure of the specific oligosaccharide from the glycopeptidolipid antigens and serovars in the *Mycobacterium avium* — *Mycobacterium intracellulare* — *Mycobacterium scrofulaceum* complex. *J. Biol. Chem.*, 256, 1981, 6817-6822.
30. BRENNAN, P. J. — The phthiocerol-containing surface lipids of *M. leprae* — a perspective of past and present work. *Int. J. Lepr.*, 51, 1983, 387-396.
31. BRENNAN, P. J. — New-found glycolipid antigens of Mycobacteria. In: *Microbiology - 1984*. Leive, L.; Schlessinger, D., American Society for Microbiology, 1984.
32. BRENNAN, P. J. — Structure of Mycobacteria: recent developments in defining cell wall carbohydrates and proteins. *Rev. Infect. Dis.*, 11, Suppl 2, 1989, 420-430.
33. BRETT, S. J.; DRAPER, P.; PAYNE, S. N.; REES, R. J. W. — Serological activity of a characteristic phenolic glycolipid from *Mycobacterium leprae* in sera from patients with leprosy and tuberculosis. *Clin. Exp. Immunol.*, 52, 1983, 271-279.
34. BRETT, S. J.; PAYNE, S. N.; DRAPER, P.; GIGG, R. — Analysis of the major antigenic determinants of the characteristic phenolic glycolipid from *Mycobacterium leprae*. *Clin. Exp. Immunol.*, 1984, 89-96.
35. BRETT, S. J.; PAYNE, S. N.; GIGG, J.; BURGESS, P.; GIGG, R. — Use of synthetic glycoconjugates containing the *Mycobacterium leprae* specific and immunodominant epitope of phenolic glycolipid I in the serology of leprosy. *Clin. Exp. Immunol.*, 64, 1986, 476-483.
36. BROOKS, J. B.; CHOUDHARY, G.; CRAVEN, R. B.; ALLEY, C. C.; LIDDLE, J. A.; EDMAN, D. C. e CONERSE, J. D. — Electron capture gas chromatography detection and mass spectrum identification of 3-(2'-ketoheptyl)indoline in spinal fluids of patients with tuberculous meningitis. *J. Clin. Microbiol.*, 5, 1977, 625-628.
37. BUCHANAN, T. M.; DISSANAYAKE, S.; YOUNG, D. B.; MILLER, R. A.; ACEDO, J. R.; HARNISH, J. P.; KHANOLKAR, S. R.; ESTRADA-PARRA, S. — Evaluation of the significance of antibodies to phenolic glycolipid of *Mycobacterium leprae* in leprosy patients and their contacts. *Int. J. Lepr.*, 51, 1983, 658-659.
38. BULLA, A. — A worldwide review of officially reported tuberculosis mortality and morbidity (1967-1971-1977). *Bull. Int. Union Tuberc.*, 56, 1981, 122-128.
39. BURGESS, P. J.; FINE, P. E. M.; PONNIGHAUS, J. M.; DRAPER, C. — Serological tests in leprosy. The sensitivity, specificity and predictive value of ELISA tests based on phenolic glycolipid antigens, and the implications for their use in epidemiological studies. *Epidemiol Infecta*, 101, 1988, 159-171.
40. BURREL, R. G.; RHEINS, M. S. — Antigenic analysis of lepromin by agar-diffusion. *Int. J. Lepr.*, 25, 1957, 223-229.
41. CALDWELL, H. D.; KIRCHHEIMER, W. F.; BUCHANAN, T. — Identification of a *Mycobacterium leprae* specific protein antigen(s) and its possible application for serodiagnosis of leprosy. *Int. J. Lepr.*, 47, 1979, 177-483.
42. CARVALHO, E. — Was leistest die mikroskopische Untersuchung, das Kulturverfahren und der Tierversuch bei der Ermittlung kleinster Tuberkelbazillenmengen im Untersuchungsmaterial? *Zeitschrift für Tuberkulose und Erkrankungen der Thoraxorgane*, 63, 1932, 305.
43. CAUTHEN, G. M.; PIO, A.; ten DAM, H. G. — Annual risk of tuberculosis infection. Doc. WHO/TB/88.154, World Health Organization, Geneva, 1988.
44. CDC — Tuberculosis in the World. U S Public Health Services, Center Diseases Control, Atlanta, 1976.
45. CDC — *M. tuberculosis*: editorial note. *MMWR*, 38, 1989, 263-264.
46. CDC — A strategic plan for the elimination of tuberculosis in the United States. *MMWR*, 38, 1989, 269-272.
47. CHAKINIS, C.; SCOLLARD, D.; NELSON, K. — Antibodies to *Mycobacterium leprae* detected by enzyme-linked (ELISA) and radio (RIA) immunoassay: comparison among families with leprosy patients. *Acta Leprol.*, 2 1984, 387-394.
48. CHANTEAU, S.; CARTEL, J.-L.; GUIDI, C.; PLICHART, R.; BACH, M.-A. — Seroepidemiological study on 724 household contacts of leprosy patients in French Polynesia using disaccharide-octyl-BSA as antigen. *Int. J. Lepr.*, 55, 1987, 626-632.
49. CHAPARAS, S. D.; BROWN, T. M.; HYMAN, I. S. — Antigenic relationships of various mycobacterial species with *Mycobacterium tuberculosis*. *Am. Rev. Respir. Dis.* 117, 1091-1097.
50. CHAPARAS, S. D. — The immunology of mycobacterial infections. *CRC Crit. Rev. Microbiol.*, 1982, 139-197.

51. CHAPARAS, S. D. — Immunologically based diagnostic tests with tuberculin and other mycobacterial antigens. In: *The Mycobacteria: a sourcebook*. Kubica, G.; Wayne, L. G., editors, New York, M. Dekker, Inc., 1984.
52. CHATTERJEE, D.; DOUGLAS, J. T.; CHO, S.-N.; REA, H.; GELBER, R. H.; ASPINALL, G. O.; BRENNAN, P. J. — Synthesis of neoglycoconjugates containing the 3,6-di-O-methyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl epitope and their use in serodiagnosis of leprosy. *Glycoconj. J.*, 2, 1985, 187-208.
53. CHATTERJEE, D.; CHO, S.-N.; BRENNAN, P. J.; ASPINALL, G. O. — Chemical synthesis and seroreactivity in leprosy of O-(3,6-di-O-methyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl) - (1-9) - oxynona-noyl-bovine serum albumine — the leprosy-specific natural disaccharide-octyl-neoglycoprotein. *Carbohydr. Res.*, 156, 1986, 39-56.
54. CHATTERJEE, D.; ASPINALL, G. O.; BRENNAN, P. J. — The presence of novel glycuronic acid-containing, type specific glycolipid antigens within *Mycobacterium* spp: revision of earlier structures. *J. Biol. Chem.*, 262, 1987, 3528-3533.
55. CHATTERJEE, D.; BOZIC, C.; ASPINALL, G. O.; BRENNAN, P. J. — Glucuronic acid- and branched-containing glycolipid antigens of *Mycobacterium avium*. *J. Biol. Chem.*, 263, 1988, 4092-4097.
56. CHIODINI, R. J. — Crohn's disease and the mycobacterioses: a review and comparison of two diseases entities. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2, 1989, 90-117.
57. CHO, S.-N.; YANAGIHARA, L.; HUNTER, S. W.; GELBER, R. H.; BRENNAN, P. J. — Serological specificity of phenolic glycolipid I from *Mycobacterium leprae* and use in serodiagnosis of leprosy. *Infect. Immun.*, 41, 1983, 1077-1083.
58. CHO, S.-N.; FUJIWARA, T.; HUNTER, S. W.; REA, T. H.; GELBER, R. H.; BRENNAN, P. J. — Use of an artificial antigen containing the 3,6-di-O-methyl- $\beta$ -glucopyranosyl epitope for the serodiagnosis of leprosy. *J. Infect. Dis.*, 150, 1984, 311-322.
59. CHO, S.-N.; HUNTER, S. W.; GELBER, R. H.; REA, T. H.; BRENNAN, P. J. — Quantification of the phenolic glycolipid of *Mycobacterium leprae* and relevance to glycolipid antigenemia in leprosy. *J. Infect. Dis.*, 153, 1986, 560-569.
60. CLOSS, O.; MSHANA, R. N.; HARBOE, M. — Antigenic analysis of *Mycobacterium leprae*. *Scand. J. Immunol.*, 9, 1979, 297-302.
61. COLLINS, C. H.; GRANGE, J. M.; YATES, M. D. — Unusual opportunist mycobacteria. *Med. Lab. Sciences*, 43, 1986, 262-268.
62. COMSTOCK, G. W. — Frost revisited: the modern epidemiology of tuberculosis. *Am. J. Epidemiol.*, 101, 1975, 363-382.
63. CONVIT, J.; ARANZAZU, N.; ULRICH, M.; ZUNIGA, M.; ARAGON, M. E.; ALVARADO, J.; REYES, O. — Investigations related to the development of a leprosy vaccine. *Int. J. Lepr.*, 51, 1983, 531-539.
64. COOVADIA, Y. M.; DAWOOD, A.; ELLIS, M. E.; COOVADIA, H. M.; DANIEL, T. M. — Evaluation of adenosine deaminase activity and antibody to *Mycobacterium tuberculosis* antigen 5 in cerebrospinal fluid and the radioactive bromide partition test for the early diagnosis of tuberculous meningitis. *Arch. Dis. Child.*, 61, 1986, 428-435.
65. COULTHARD, H. L. — The complement fixation test in tuberculosis. *J. Pathol. Bacteriol.*, 26, 1923, 350-354.
66. CRELLIN, A. M.; OWEN, J. R. — Disseminated *Mycobacterium malmoense* infection. *Br. Med. J.*, 289, 1984, 374.
67. CRUAUD, PH.; BERLIE, C.; TORGAL-GARCIA, J.; PAPA, F. e DAVID, H. L. — Human Ig G antibodies immunoreacting with specific sulfolipids from *Mycobacterium tuberculosis*. *Zbl. Bakt. Hyg.*, 71, 1989, (em impressão).
68. CRUAUD, P.; PAPA, F.; LASZLO, A.; DAVID, H. L.; DAFTE, M. — Specificity and antigenicity of mycoside G and other glycolipids from *M. marinum*. *Acta Leprol.*, 7, S 1, 1989, 94-97.
69. CRUICKSHANK, D. B. — Bacteriology of tuberculosis. Em: *Modern practice of tuberculosis*. Sellors, T. H.; Linvingstone, J. L., editors, London, Butterworth, 1952.
70. CUMMINGS, D. M.; RISTROPH, D.; CAMARGO, E. E.; LARSON, S. M.; WAGNER JR., H. N. — Radiometric detection of the metabolic activity of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Nucl. Med.*, 16, 1975, 1189-1191.
71. DAFTE, M.; LACAVE, C.; LANEELLE, M.-A.; LANEELLE, G. — Structure of the major triglycosyl phenolphthiocerol of *Mycobacterium tuberculosis* (strain Canetti). *Eur. J. Biochem.*, 167, 1987, 144-160.
72. DAFTE, M.; LANEELLE, M.-A.; LACAVE, C.; LANEELLE, G. — Monoglycosyldiacetylphenol — phthiocerol of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis*. *Biochim. Biophys. Acta*, 958, 1988, 443-449.
73. DAFTE, M.; PAPA, F.; LASZLO, A.; DAVID, H. L. — Glycolipids of recent clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*: chemical characterization and immunoreactivity. *J. Gen. Microbiol.*, 135, 1989, (in press).
74. DAILLOUX, M.; HARTEMANN, P.; BEUREY, J. — Study on the relationship between isolation of mycobacteria and classical microbiological and chemical indicators of water quality in swimming pools. *Zbl. Bakt. Hyg.*, B 171, 1980, 473-486.
75. DANIEL, T. M.; BAUM, G. L. — The immunoglobulin response to tuberculosis. I. Molecular characterization of hemagglutinating antibody to tuberculopolysaccharide in sera from patients with tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 98, 1968, 677-680.
76. DANIEL, T. M.; DEBANNE, S. M. — The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am. Rev. Respir. Dis.* 135, 1987, 1137-1151.
77. DAVID, H. L.; RAMALHO, M. O. — Contribuição ao estudo da taxonomia do género *Mycobacterium*. *J. Soc. Ciênc. Méd.*, Lisboa, 126, 1962, 549-582.
78. DAVID, H. L. — *Sensitivity and specificity of acid-fast microscopy*. U S Department of Health, Education and Welfare, Public Health Services, Center for Diseases Control, Atlanta, 1973.
79. DAVID, H. L. — *Bacteriology of mycobacterioses*. U. S Department of Health, Education and Welfare, Public Health Services, Communicable Diseases Center, Atlanta.

80. DAVID, H. L.; LEVY-FREBAULT, V.; FEUILLET, A.; GRANDY, J. — Mycobacteria identified in the Pasteur Institut (Paris) during 1978-1984. In: *Mycobacteria of Clinical Interest*. Casal, M. editor. Amsterdam, Elsevier, BV, 1986.
81. DAVID, H. L.; RASTOGI, N. — Recent advances in the bacteriology of *Mycobacterium leprae*. Em: *Mycobacteria of Clinical Interest*. Casal, M. editor. Amsterdam, Elsevier, BV, 1986.
82. DAVID, H. L.; LEVY-FREBAULT, V.; THOREL, M.-F. — Characterization of distinct layers of the *Mycobacterium avium* envelope in respect of their composition by fatty acids, proteins. *Zbl. Bakt. Hyg. A* 268, 1988, 193-208.
83. DEMARTEAU-GINSBURG, H.; LEDERER, E. — Sur la structure chimique du mycoside B. *Biochim. Biophys. Acta*, 70, 1963, 442-451.
84. DIETZ, T. M.; MAXWELL, K. W.; ROBBINS, J. L.; MARCUS, S. — Use of latex particles in serology of tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 95, 1967, 638-642.
85. DOUGLAS, J. T.; NAKA, S. O.; LEE, J. W. — Development of an ELISA for detection of antibody in leprosy. *Int. J. Lepr.* 52, 1984, 19-25.
86. DOUGLAS, J. T.; WORTH, R. M. — Field evaluation of an ELISA to detect antibody in leprosy patients and their contacts. *Int. J. Lepr.*, 52, 1984, 26-33.
87. DOUGLAS, J. T.; CELONA, R. V.; ABALOS, R. M.; MADA RANG, M. G.; FAJARDO, T. — Serological reactivity and early detection of leprosy among contacts of lepromatous patients in Cebu, the Philippines. *Int. J. Lepr.*, 55, 1987, 718-720.
88. DOULL, D. A. — The epidemiology of leprosy. Present Status and problems. *Int. J. Lepr.*, 30, 1962, 48-66.
89. DRAPER, P. — The mycosid capsule of *Mycobacterium avium* 357. *J. Gen. Microbiol.*, 83, 1974, 431.
90. DRAPER, P. — The anatomy of mycobacteria. In: The biology of the mycobacteria. Ratledge, C.; Stanford, J., editors. London, Academic Press 1982.
91. DUBOCZY, B. O.; WHITE, F. C. — Further studies with the direct latex agglutination test in tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 100, 1969, 364-371.
92. EDWARDS, D.; KIRKPATRICK, C. H. — The immunology of mycobacterial disease. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 134, 1986, 1062-1071.
93. EITNER, E. — Ueber den Nachweis von Antikörpern im Serum eines Leprakranken mittels Komplementablenkung. *Wien. Klin. Wochenschr.*, 19, 1906, 1555-1557.
94. ENGERS, H. D.; BLOOM, B. R.; MEHRA, V.; BRITTON, W.; BUCHANAN, T. M.; KHANOLKAR, S. K.; YOUNG, D. B.; CLOSS, O.; GILLIS, T.; HARBOE, M.; IVANYI, J.; KOLK, A. H. J.; SHEPARD, C. C. — Results of a World Health Organization sponsored workshop on monoclonal antibodies to *Mycobacterium leprae*. *Infect. Immun.*, 48, 1985, 603-605.
95. ENGVALL, E.; PERLMANN, P. — Enzyme-linked-immunosorbent assay, ELISA. III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. *J. Immunol.*, 109, 1972, 129-135.
96. ESTRADA-GARCIA, I.; QUESADA-PASCUAL, F.; ARGUMENTO, L. S.; ROMO, L. F.; ESTRADA-PARRA, S.; BUCHANAN, T. M. — The early serodiagnosis of leprosy. I. The use of counterimmunoelectrophoresis and enzyme-linked immunosorbent assay. *Rev. Latinoam. Microbiol.*, 26, 1984, 267-272.
97. FAGET, G. H. — The promin treatment of leprosy: a progress report. *U. S. Public Health Rep*, 58, 1943, 1729-1741.
98. FALCAO, Z. — Contribution à l'étude de la lèpre en Portugal. Verhandlugen des II Internationalen Dermatologen Congresses. Wien.
99. FALCAO, Z. — La distribution de la lèpre en Portugal, l'hérédité et la contagion comme facteurs étiologiques; mesure pour combatre l'extension et la dissémination de la lèpre. In: *Mitteilungen und Verhandlungen der internationalen wissenschaftlichen Lepra — Konferenz*. Verlag von August Hirschwald, Berlin, 1898.
100. FALCAO, Z. — A lepra em Portugal. *A Med. Contemp.*, 18, 1900, 143-146.
101. FALKINHAM III, J. O.; PARKER, B. C.; GRUFT, H. — Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 121, 1980, 931-937.
102. FEENSTRA, P.; TEDLA, T. — A broader scope for leprosy control. *World Health Forum*, 9, 1988, 53-58.
103. FELDMAN, R. A. — Leprosy surveillance in United States 1949-1970. Abstract no *Int. J. Lepr.*, 41, 598.
104. FELDMAN, R. A.; STURDIVANT, M. — Leprosy in Louisiana, 1855-1970. An epidemiologic study of longterm trends. *Am. J. Epidemiol.*, 103, 1975, 303-310.
105. FINE, P. E. M. — Leprosy: the epidemiology of a slow bacterium. *Epidemiol. Rev.*, 4, 1982, 161-188.
106. FINE, P. E. M.; PONNIGHAUS, J. M.; BURGESS, P.; CLARKSON, J. A.; DRAPER, C. C. — Seroepidemiological studies of leprosy in Northern Malawi based on an enzyme-linked immunosorbent assay using synthetic glycoconjugate antigen. *Int. J. Lepr.*, 56, 1988, 243-254.
107. FONSECA, F.; SOUSA, C. P. — Tuberculose e cortisona. *Clinica Contemporanea*, 6, 1952, 1.
108. FOURNIE, J.-J.; RIVIERE, M.; PUZO, G. — Structural elucidation of the major phenolic glycolipid from *Mycobacterium kansasii*. II Evidence for tetrasaccharide structure of oligosaccharide moiety. *J. Biol. Chem.*, 262, 1987, 3180-3184.
109. FOURNIE, J.-J.; RIVIERE, M.; PAPA, F.; PUZO, G. — Structural elucidation of the major phenolic glycolipid from *Mycobacterium kansasii*. II Presence of a novel dideohexose. *J. Biol. Chem.*, 262, 1987, 3180-3184.
110. FREEDMAN, S. O.; DOLOVICH, J.; TURCOTTE, R.; SAULT, F. — Circulating Ig G (7S) hemagglutinins in tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 94, 1966, 896-899.
111. FRIED, B. M. — Besredka's tuberculosis antigen and the complement-fixation reaction (report on 1199 tuberculous and non-tuberculous patients). *Am. Rev. Respir. Dis.* 19, 1924, 112-116.

112. FROST, W. H. — How much control of tuberculosis? *Am. J. Public Health*, 27, 1937, 759-766.
113. FRUGONI, C.; PISANI, S. — Vielfache Bindungseigenschaften des komplementes einiger Sera (Leprakranker) und ihre Bedeutung. *Berl. Klin. Wochenschr.*, 46, 1909, 1530-1532.
114. FUJIWARA, T.; HUNTER, S. W.; CHO, S.-N.; ASPINALL, G. O.; BRENNAN, P. J. — Chemical synthesis and serology of disaccharides and trisaccharides of phenolic glycolipid antigens from the leprosy bacillus and preparation of a disaccharide protein conjugate for serodiagnosis of leprosy. *Infect. Immun.*, 43, 1984, 245-252.
115. FUJIWARA, T.; IZUMI, S. — The synthesis of the trisaccharide related to the phenolic glycolipid of *Mycobacterium leprae* and preparation of sugar-protein conjugate. *Int. J. Lepr.*, 54, 1986, 727-729.
116. FURUCHI, A.; TOKUNAGNA, T. — Nature of the receptor substance of *Mycobacterium smegmatis* for D4 bacteriophage adsorption. *J. Bacteriol.*, 111, 1972, 404-411.
117. GALLEN, R. S.; GAMBINO, R. S. — Beyond normality. In: *The value and efficiency of medical diagnoses*. New York, J. Wiley.
118. GARCIA-ORTIGOZA, E.; GUTIERREZ-VELAZQUEZ, A. — Diagnostico de la tuberculosis pulmonar cronica por el metodo de inmunoensayo enzimatico (ELISA). *Rev. Latinoam. Microbiol.*, 24, 1982, 193-204.
119. GARRAUD, O.; RIBIERRE, O.; BACH, M.-A. — A follow up of T-cell subsets and of anti-*M. leprae* antibody titer as measured by the FLA-ABS test in melanesian leprosy patients under polychemotherapy. *Int. J. Lepr.*, 54, 1986, 38-45.
120. GASTAMBIDE-ODIER, M.; SARDA, P.; LEDERER, E. — Structure des aglycones des mycosides A et B. *Tetrahedron Letters*, 35, 1965, 3135-3143.
121. GASTAMBIDE-ODIER, M.; SARDA, P. — Contribution à l'étude de la structure et de la biosynthèse de glycolipides spécifiques isolés de mycobactéries: les mycosides A et B. *Pneumologie*, 142, 1970, 241-255.
122. GASTAMBIDE-ODIER, M.; VILLE, C. — Désoxysucres isolés du mycoside A. *Bull. Soc. Chim Biol.*, 52, 1972, 679-693.
123. GASTAMBIDE-ODIER, M. — Variantes de mycosides caractérisées par des résidus glycosidiques substitués par des chaînes acyles. Nature des mycosides G'. *Eur. J. Biochem.*, 33, 1973, 81-86.
124. GONZALEZ, R.; HANNA, B. A. — Evaluation of Gen-Probe DNA hybridization systems for the identification of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium-intracellulare*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 8, 1987, 69-77.
125. GONZALEZ-ABREU, E.; GONZALEZ, A. — Seroreactivity against *Mycobacterium leprae* phenolic glycolipid I in *Mycobacteria* infected or stimulated groups of individuals. *Lepr. Rev.*, 58, 1987, 149-154.
126. GOOD, R. C. — Opportunistic pathogens in the genus *Mycobacterium*. *Annu. Rev. Microbiol.*, 39, 1985, 347-369.
127. GOREN, M. B.; McCLATCHY, J. K.; MARTENS, B.; BROKL, O. — Mycosides C: behavior as receptor site substance for mycobacteriophage D4. *J. Virol.*, 9, 1972, 999-1003.
128. GRANGE, J. M.; GIBSON, J.; BATTY, A.; KARDJITO, T. — The specificity of the humoral immune response to soluble mycobacterial antigens in tuberculosis. *Tubercle*, 61, 1980, 153-156.
129. GRANGE, J. M.; KARDJITO, T. — Serological tests for tuberculosis: can the problem of low specificity be overcome? *Indian J. Chest. Dis.*, 24, 1982, 108-117.
130. GRANGE, J. M. — The rapid diagnosis of paucibacillary tuberculosis. *Tubercle*, 70, 1989, 1-4.
131. GUPTA, M. D. — Review of present knowledge in epidemiology of leprosy. *Study Group on Epidemiology of Leprosy in Relation to Control*. World Health Organization, Geneva, 1983.
132. HANSEN, G. A. — Undersogelser angaende spedalskhen-dens arsaer. *Norsk. Mag. Laegevidenk.* 4, 1874, 1-88, I-LIII.
133. HARBOE, M.; CLOSS, O.; SVINDAHL, K.; DEVERILL, J. — Production and assay of antibodies against one antigen component of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect. Immun.*, 16, 1976, 662-672.
134. HARBOE, M.; CLOSS, O.; BJORVATN, B.; KRONVALL, G.; AXELSEN, N. H. — Antibody response in rabbits to immunization with *Mycobacterium leprae*. *Infect. Immun.*, 18, 1977, 972-805.
135. HARBOE, M.; CLOSS, O.; BJUNE, G.; KRONVALL, G.; detected by radioimmunoassay. *Scand. J. Immunol.*, 7, 1978, 111-120
136. HARBOE, M.; CLOSS, O.; REITAN, L. J.; DRAPER, P. — Demonstration of antibodies reacting with different determinants on *Mycobacterium leprae* antigen 7. *Int. J. Lepr.*, 49, 1981, 147-158.
137. HARBOE, M.; WIKER, H. G. — Immunological and biochemical characterization and classification of mycobacterial antigens. *Lepr. Rev.*, 57, 1986, Suppl 2, 33-37.
138. HARRIS, W. H.; LANFORD, J. A. — The complement fixation test (Gey's modification of the Besredka method) in the differentiation of acid-fast bacilli. *J. Infect. Dis.*, 135, 1913, 301-303.
139. HERNANDEZ, R.; MUNOZ, O.; GUISCAFRE, H. — Sensitive enzyme immunoassay for early diagnosis of tuberculous meningitis. *J. Clin. Microbiol.*, 20, 1984, 533-535.
140. HOPWOOD, D. A.; KIESER, T.; COLSTON, M. J.; LAMB, F. I. — Molecular biology of mycobacteria. *Br. Med. Bull.*, 44, 1988, 528-546.
141. HORSBURGH JR, C. R.; SELIK, R. M. — The epidemiology of disseminated nontuberculous mycobacterial infection in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Am. Rev. Respir. Dis.*, 139, 1989, 4-7.

142. HUNTER, S. W.; BRENNAN, P. J. — A novel phenolic glycolipid from *Mycobacterium lepræ* involved in immunogenicity and pathogenicity. *J. Bacteriol.*, 147, 1981, 728-735.
143. HUNTER, S. W.; FUJIWARA, T.; BRENNAN, P. J. — Structure and antigenicity of the major specific glycolipid antigen of *Mycobacterium lepræ*. *J. Biol. Chem.*, 257, 1982, 15072-15078.
144. HUNTER, S. W.; BRENNAN, P. J. — Further specific extracellular phenolic glycolipid antigens and a related dis-cylphthiocerol from *Mycobacterium lepræ*. *J. Biol. Chem.*, 12, 1983, 7556-7560.
145. ICHIYAMA, S.; SHIMOKATA, K.; TSUKAMURA, M. — The isolation of *Mycobacterium avium* complex from soil, water and dusts. *Microbiol. Immunol.*, 32, 1988, 733-739.
146. IRGENS, L. M. — Leprosy in Norway. *Lepr. Rev.*, 51, 1980, Suppl. 1, 130-136.
147. IRGENS, L. M. — Secular trends in leprosy: increase in age at onset associated with declining rates and long term incubation periods. *Int. J. Lepr.*, 53, 1985, 610-617.
148. IUAT/ WHO — Registration of tuberculosis in Europe. *Bull. Int. Union Tuberc.*, 66, 1987, 76-78.
149. IZUMI, S.; SUGIYAMA, K.; FUJIWARA, T.; HUNTER, S. W. e BRENNAN, P. J. — Isolation of *Mycobacterium lepræ* — specific glycolipid antigen, phenolic glycolipid I, from forma lin-fixed human lepromatous liver. *J. Clin. Microbiol.*, 22, 1985, 680-682.
150. JAGANNATH, C.; SENGUPTA, D. N. — Serology of leprosy. I. Indirect hemagglutination test with stabilized, sensitized red cells. *Lepr. India*, 53, 1961, 507-512.
151. JAGANNATH, C.; SENGUPTA, D. N.; BAHADUR, P. — Serology of tuberculosis. II. Measurement of antibodies to *Mycobacterium tuberculosis* by a passive hæmagglutination test in human tuberculosis. *Tubercle*, 64, 1983, 201-210.
152. JENKINS, P. A. — *Mycobacterium malmøense*. *Tubercle*, 66, 1985, 193-195.
153. JENICEK, M.; CLEROUX, R. — *Epidémiologie, principes, techniques, applications*. St. Hyacinthe, **Edisem Inc.**, 1982.
154. JOHNSTON, W. W.; SALTZMAN, H. A.; BUFKIN, J. H.; SMITH, D. T. — The tuberculin test and the diagnosis of clinical tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 81, 1960, 189-195.
155. KADIVAL, G. V.; SAMUEL, A. M.; MAZARELO, T. B. M. S.; CHAPARAS, S. D. — Radioimmunoassay for detecting *Mycobacterium tuberculosis* antigen in cerebrospinal fluids of patients with tuberculous meningitis. *J. Infect. Dis.*, 155, 1987, 608-611.
156. KALDANY, R.-R. J.; NURLIGN, A. — Development of a dot-ELISA for detection of leprosy antigenuria under field conditions. *Lepr. Rev.*, 57, 1986, 95-100.
157. KARDJITO, T.; HANDOYO, I. e GRANGE, J. M. — Diagnosis of active tuberculosis by immunological methods. 1. The effect of tuberculin reactivity and previous BCG vaccination on the antibody levels determined by ELISA. *Tubercle*, 63, 1982, 269-274.
158. KASATIYA, S. S.; DE THOKOLY, I. e GUERTIN, M. — *Mycobactéries atypiques isolés des eaux de surface au Québec*. *Rev. Epidém., Méd. Soc. et Santé Publ.*, 22, 1974, 171-184.
159. KAUFMAN, S. H. E.; CHIPLUNKAR, S.; FLESCHE, I.; DE LIBERO, G. — Possible role of helper and cytotoxic T cells in mycobacterial infections. *Lepr. Rev.*, 57, 1986, Suppl 2, 101-111.
160. KAUFMAN, S. H. E. — In vitro analysis of the cellular mechanisms involved in immunity to tuberculosis. *Rev. Infect. Dis.*, 11, 1989, Suppl 2, 448-454.
161. KAZDA, J.; MULLER, K.; IRGENS, L. M. — Cultivable mycobacteria in sphagnum vegetation of moors in South Sweden and coastal Norway. *Acta Pathol. Microbiol. (Scand. B)*, 87, 1979, 97-101.
162. KAZDA, J. F. — The Principles of the Ecology of Mycobacteria. In: *The Biology of Mycobacteria*. Rattedge, C.; Stanford, J., editors. New York, **Academic Press**, 1983.
163. KENNEDY, D. H.; FALLON, R. J. — Tuberculous meningitis. *JAMA*, 241, 1979, 264-268.
164. KIRAN, U.; SHRINIWAS, KUMAR, R.; SHARMA, A. — Efficacy of three mycobacterial antigens in the serodiagnosis of tuberculosis. *Eur. J. Resp. Dis.*, 66, 1985, 187-195.
165. KIRCHHEIMER, W. F.; STORRS, E. E. — Attempts to establish the armadillo (*Dasypus novemcinctus* Linn.) as a model for the study of leprosy. 1. Report of lepromatoid leprosy in experimental infected armadillo. *Int. J. Lepr.*, 39, 1971, 693-702.
166. KOCH, R. — Die Aetiologie der Tuberculose. *Berlin Klin. Wchschr.*, 19, 1882, 221-230.
167. KRONVALL, G.; BJUNE, G.; STANFORD, J.; MENZEL, S.; SAMUEL, D. — Mycobacterial antigens in antibody responses of leprosy patients. *Int. J. Lepr.*, 43, 1975, 299-306.
168. KUBICA, G. P.; DAVID, H. L. — *The Mycobacteria*. In: Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. 8th ed.. St. Louis, C.V. **Mosby Comp.**, 1980.
169. KUBIN, M. — Distribution and Ecology in non-living reservoirs: opportunist and pathogens. In: *The Mycobacteria: a sourcebook*. Kubica, G.P.; Wayne, L.G. editors. New York, M. Dekker, Inc., 1984.
170. LAGRANGE, P. H. — Cell-mediated immunity and delayed-type hypersensitivity. In: *The Mycobacteria: a sourcebook*. Kubica, G.P.; Wayne, L.G. editors. New York, M. Dekker, Inc., 1984.
171. LECHAT, M. F. — An epidemiometric approach for planning and evaluating leprosy control activities. *Int. J. Lepr.*, 39, 1971, 603-607.

172. LECHAT, M. F.; MISSION, J. Y.; VELLUT, C. M.; MISSION, C. B.; BOUCKAERT, A. — Un modèle épidémiométrique de la lèpre. *Bull. World Health Organ.*, 51, 1974, 361-373.
173. LECHAT, M. F.; VELLUT, C.; MISSION, C. B.; MISSION, J. Y. — 1978. Application of an economic model to the study of leprosy control costs. *Int. J. Lepr.*, 46, 1978, 14-24.
174. LECHAT, M. F. — Leprosy at the interface between epidemiology and basic research. *Lepr. Rev.*, 52, 1981, Suppl 1, 299-304.
175. LECHAT, M. F. — The way toward eradication of Hansen's disease Ed. *Sasakawa Memorial Health Foundation*, Toquio, 1981.
176. LECHAT, M. F. — *Leprosy in a global context*. Ed. *Sasakawa Memorial Health Foundation*, Toquio, 1983.
177. LECHAT, M. F. — *Leprosy control in a global perspective*. Ed. *Sasakawa Memorial Health Foundation*, Toquio, 1985.
178. LECHAT, M. F.; MISSION, C. B.; LAMBERT, A.; BOUCKAERT, A.; VANDERVEKEN, M.; VELLUT, C. — Simulation of vaccination and resistance in leprosy using an epidemiometric model. *Int. J. Lepr.*, 53, 1985, 461-467.
179. LECHAT, M. F.; VANDERVEKEN, M.; DECLERCQ, E.; MISSION, C. B. — Analysis of trends in the occurrence of leprosy. *Wid Hlth Statist. Quart.*, 39, 1986, 129-137.
180. LE GALLES, C.; LEFAURE, C.; HIRSCH, A.; BOUVET-KOSKAS, E. — Contribution à l'évaluation de la politique de dépistage de la tuberculose pulmonaire en France. *Rev. Epidemiol. Sante Publique*, 35, 1987, 117-128.
181. LEVINE, M.; CHUNG-HOON, E. K.; ICHIRIN, E.; ARAKIKI, J.; BEATTY, M. — Serological response in various types and stages of Hansen's disease (leprosy) to tuberculin-sensitized sheep red blood cells. *Int. J. Lepr.*, 20, 1952, 201-212.
182. LEVIS, W. R.; MEEKER, H. C.; SCHWERER, B. — Serum Ig M antibodies to *Mycobacterium leprae* derived phenolic glycolipid: relationships to bacterial index and erythema nodosum leprosum. *Int. J. Lepr.*, 52, 1984, 614-615.
183. LEVIS, W. R.; MEEKER, H. C.; SCHULLER-LEVIS, G.; SERVEN, E.; SCHWERER, B. — Ig M and Ig G antibodies to phenolic glycolipid I from *Mycobacterium leprae* in leprosy: in sight into patient monitoring erythema nodosum, and bacillary persistence. *J. Invest. Dermatol.*, 86, 1986, 529-534.
184. LEVY-FREBAULT, V.; DAVID, H. L. — *Mycobacterium kansasii*: contaminant du réseau d'eau potable d'un hôpital. *Rev. Epidemiol. Sante Publique*, 31, 1983, 11-20.
185. LEVY-FREBAULT, V.; DAVID, H. L. — La recherche en tuberculose: situation actuelle et perspectives. *Doc Institut Pasteur*, Paris, 1987.
186. LYONS, N. F.; NAAFS, B. — Influence of environmental mycobacteria on the prevalence of leprosy clinical type. *Int. J. Lepr.*, 55, 1987, 637-645.
187. LYONS, N. F.; SHANNON, E. J.; ELLIS, B. P. B.; NAAFS, B. — Association of Ig G and Ig M antibodies to phenolic glycolipid-1 antigen of *Mycobacterium leprae* with disease parameters in multibacillary leprosy patients. *Lepr. Rev.*, 59, 1988, 45-52.
188. MA, Y.; WANG, Y.-M.; DANIEL, T. M. — Enzyme-linked immunosorbent assay using *Mycobacterium tuberculosis* antigen 5 for diagnosis of pulmonary tuberculosis in China. *Am. Rev. Respir. Dis.* 134, 1986, 1273-1275.
189. MACLENNAN, A. P.; RANDALL, H. M.; SMITH, D. H. — The occurrence of methyl ethers of rhamnose and fucose in specific glycolipids of certain mycobacteria. *Biochem. J.*, 80, 1961, 309-318.
190. MANKIEWICZ, E.; MAJDANIW, O. — Atypical mycobacteria in tapwater. *Can. J. Public Health*, 73, 1982, 358-360.
191. MARDH, P. A.; LARSSON, L.; HOIBY, N.; ENGBAEK, H. C.; ODHAM, G. — Tuberculostearic acid as a diagnostic marker in tuberculous meningitis. *Lancet*, 1, 1983, 367.
192. McNEIL, B. J.; KEELER, E.; ADELSTEIN, S. J. — Primer on certain elements of medical decision making. *N. Engl. J. Med.*, 293, 1975, 211-215.
193. McNEIL, M.; TSANG, A. Y.; BRENNAN, P. J. — Structure and antigenicity of the specific oligosaccharide hapten from the glycopeptidolipid antigen of *Mycobacterium avium* serotype 4, the dominant mycobacterium isolated from patients with acquired immune deficiency syndrome. *J. Biol. Chem.*, 262, 1987, 2630-2635.
194. MEEKER, H. C.; LEVIS, W. R.; SERSEN, E.; SCHULLER-LEVIS, G.; BRENNAN, P. J.; BUCHANAN, T. M. — ELISA detection of Ig M antibodies against phenolic glycolipid-I in the management of leprosy: a comparison between laboratoires. *Int. J. Lepr.*, 54, 1986, 530-539. 526
195. MELSON, R.; NAAFS, B.; HARBOE, M.; CLOSS, O. — Antibody activity against *Mycobacterium leprae* antigen 7 during the first year of DDS treatment in lepromatous (BL-L) leprosy. *Lepr. Rev.*, 49, 1978, 17-29.
196. MENZEL, S.; HARBOE, M.; BERGSEVIK, H.; BRENNAN, P. J. — Antibodies to a synthetic analog of phenolic glycolipid-I of *Mycobacterium leprae* on healthy household contacts of patients with leprosy. *Int. J. Lepr.*, 55, 1987, 617-625.
197. MIDDLEBROK, G.; DUBOS, R. J. — Specific serum agglutination of erythrocytes sensitized with extracts of tubercle bacilli. *J. Exp. Med.*, 88, 1948, 521-528.
198. MIDDLEBROOK, G.; REGGIARDO, Z.; TIGERTT, W. D. — Automatable radiometric detection of growth of *Mycobacterium tuberculosis* in selective media. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 115, 1977, 1067-1069.
199. MILLER, R. A.; GORDER, D.; HARMISH, J. P. — Antibodies to phenolic glycolipid-I during long-term therapy: serial measurements in individual patients. *Int. J. Lepr.*, 55, 1987, 633-636. 531.
200. MINDEN, P.; FARR, R. S. — Binding between components of the tubercle bacillus and humoral antibodies. *J. Exp. Med.*, 130, 1969, 931-937.

201. MINISTERIO DE SANIDAD — Boletín Epidemiológico Semanal, 1722, **Ministerio de Sanidad**, Madrid, 1986.
202. MOORE, W. E. C.; CATO, E. P.; MOORE, L. V. H. — Index of the bacterial and yeast nomenclature changes published in the International Journal of Systematic Bacteriology since the 1980 approved list of bacterial names (1 January 1980 - 1 January 1985). *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 35, 1985, 382-407.
203. MORRIS, J. A. — Antibodies demonstrable during infection. In: *Transactions of the Leonard Wood Memorial Symposium on Research in Leprosy*. Baltimore, Maryland. **Leonard Wood Memorial**, 1961, 79-98.
204. MORRISON, W. L.; WEBB, W. J. S.; ALDRED, J.; RUBENSTEIN, D. — Meningitis after BCG vaccination. *Lancet*, 1, 1988, 654.
205. MUSIAL, C. E.; LAUREL, S. T.; STOCKMAN, L.; ROBERTS, G. D. — Identification of mycobacteria from culture by using the Gen-Probe rapid diagnostic system for *Mycobacterium avium* complex and *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J. Clin. Microbiol.*, 26, 1988, 2120-2123.
206. MYRVANG, B.; FEEK, C.; GODAL, T. — Antimycobacterial antibodies in sera from patients through the clinico-pathological disease spectrum of leprosy. *Acta Pathol. Microbiol.*, [B] 82, 1974, 701-706.
207. NASSAU, E.; MERRICK, A. J. — The fluorescent antibody test in human tuberculosis: a pilot study. *Tubercle*, 61, 1970, 430-436.
208. NASSAU, E.; PARSONS, E. R. — Detection of antibodies to *Mycobacterium tuberculosis* by solid phase radioimmunoassay. *J. Immunol. Methods*, 6, 1975, 261-271.
209. NASSAU, E.; PARSONS, E. R.; JOHNSON, G. D. — The detection of antibodies to *Mycobacterium tuberculosis* by microplate enzyme-linked-immunosorbent assay (ELISA). *Tubercle*, 57, 1976, 67-70.
210. NAVALKAR, R. G.; NORLIN, M.; OUCHTERLONY, O. — Characterization of leprosy sera with various mycobacterial antigens using double diffusion-in-gel analysis. A preliminary report. *Int. Arch. Allergy*, 25, 1964, 105-113.
211. NAVALKAR, R. G. — Immunological analysis of *Mycobacterium leprae* antigens by means of diffusion-in-gel methods. *Int. J. Lepr.*, 39, 1971, 105-112.
212. NORLIN, M.; NAVALKAR, R. G.; OUCHTERLONY, O.; LIND, A. — Characterization of leprosy sera with various mycobacterial antigens using double diffusion-in-gel analysis. 3. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 67, 1966, 555-562.
213. O'BRIEN, R. J.; GEITER, L. J.; SNIDER JR., D. E. — The epidemiology of nontuberculous mycobacterial disease in the United States. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 135, 1987, 1007-1014.
214. PANGON, B.; MICHON, C.; BIZET, C.; PERRONE, C.; KATLAMA, C.; MARCHE, C.; LEVY-FREBAULT, V.; BURE, A. — Étude bactériologique rétrospective des infections à mycobactéries chez les malades atteints de syndrome immunodéficientaire acquis. *Presse Med.*, 17, 1988, 945-948.
215. PAPA, F.; RIVIERE, M.; FOURNIE, J.-J.; PUZO, G.; DAVID, H. L. — Specificity of a *Mycobacterium kansasii* phenolic glycolipid (mycoside A) immunoserum. *J. Clin. Microbiol.*, 25, 1987, 2270-2273.
216. PAPA, F.; VAQUERO, M.; DAVID, H. L. — Chromatographic and serologic identity of the specific phenolglycolipids PGL-K, from *Mycobacterium kansasii* and PGL-G, from *M. gastri*. *Ann. Inst. Pasteur/Microbiol.*, 139, 1988, 149-157.
217. PAPA, F.; LASZLO, A.; DAVID, H. L. — Specificity of a *Mycobacterium tuberculosis* phenolic glycolipid (PGL-Tb 1) antiserum. *Ann. Inst. Pasteur/Microbiol.*, 139, 1988, 535-545.
218. PAPA, F.; LASZLO, A.; DAVID, H. L.; DAFÉ, M. — Serological specificity of *M. tuberculosis* glycolipids. *Acta Leprol.*, 7, S1, 1989, 98-101.
219. PARLETT, R. C.; YOUMANS, G. P. — An evaluation of the specificity and sensitivity of a gel double-diffusion test for tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 80, 1959, 153-166.
220. PAYNE, S. N.; DRAPER, P.; REES, R. J. W. — Serological activity of purified glycolipid from *Mycobacterium leprae*. *Int. J. Lepr.*, 50, 1982, 220-221.
221. PEREIRA, M. F. — Doença de Hansen em Portugal Continental — situação em 1987. Doc. 66/DTP. **Ministério da Saúde**, D-G Cuidados de Saúde Primários, Lisboa, 1988.
222. PEREIRA, M. F. — A doença de Hansen em Portugal Continental, 1988. **Ministério da Saúde**, *Saúde em Números*, 4, 1989, 17-19.
223. PEREIRA, M. F.; RODRIGUES, M. F. — Micobactérias isoladas no Laboratório de Tuberculose da Delegação do Porto do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge nos últimos cinco anos (1981-1985). *J. do Médico*, 123, 1987, 267-270.
224. PIO, A. — Impact of present control methods on the problem of tuberculosis. *Rev. Infect. Dis.*, 11, 1989, 360-365.
225. PIRAS, M. A.; GAKIS, C. — Cerebrospinal fluid adenosine deaminase activity in tuberculous meningitis. *Enzyme*, 14, 1973, 311-317.
226. PORTAELS, F. — Contribution à l'étude des mycobactéries de l'environnement au Bas-Zaïre. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.*, 53, 1973, 373-387.
227. PORTAELS, F. — Etude de mycobactéries isolées de l'homme et de son environnement au Zaïre. *Ann. Microbiol./Inst. Pasteur*, 131 A, 1980, 18-19.
228. PORTAELS, F. — Le SIDA et les mycobactéries atypiques. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.*, 67, 1987, 93-116.
229. PORTAELS, F.; DE MUYNCK, A.; SYLLA, M. P., Selective isolation of Mycobacteria from soil: a statistical analysis approach. *J. Gen. Microbiol.*, 134, 1988, 849-855.
230. PORTAELS, F.; LARSSON, L.; SMEETS, P. — Isolation of Mycobacteria from healthy person's stools. *Int. J. Lepr.*, 56, 468-471.
231. RALEIGH, J. W. — Chemotherapy of tuberculosis. In: *The Mycobacteria*. Ed. **M. Dekker**, New York, 1984.

232. RAFFEL, S. — Tuberculosis. In: *Immunity*. 2nd ed. New York, Appleton-Century-Crofts, Inc., 1961.
233. RAO, P. S. S.; KARAT, A. B. A.; KALIAPERUMAL, V. G.; KARAT, T. — Transmission of leprosy within households. *Int. J. Lepr.*, 43, 1975, 45-54.
234. RASTOGI, N.; DAVID, H. L. — Mechanisms of pathogenicity in mycobacteria. *Biochimie*, 70, 1988, 1101-1120.
235. REES, R. J. W.; CHATTERJEE, K. R.; PEPYS, J.; TEE, R. D. — Some immunologic aspects of leprosy. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 92, 1965, 139-149.
236. REGGIARDO, Z.; MIDDLEBROOK, G. — Serologically active glycolipid families from *Mycobacterium bovis* BCG. I. extraction, purification and immunologic studies. *Am. J. Epidemiol.*, 100, 1975.
237. REGGIARDO, Z.; VAZQUEZ, E.; SCHNAPER, L. — ELISA test for antibodies against mycobacterial glycolipids. *J. Immunol. Methods*, 34, 1980, 55-60.
238. REGGIARDO, Z.; VAZQUEZ, E. — Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and hemagglutination test using mycobacterial glycolipids. *J. Clin. Microbiol.*, 13, 1981, 1007-1009.
239. RHEINS, M. S.; BURREL, R. G.; BIRKELAND, J. M. — Tuberculous antibodies demonstrated by agar-diffusion. I. Specificity and incidence of agar-diffusion antibodies in rabbit sera. *Am. Rev. Tuberc.*, 74, 1956, 229-238.
240. RIBERA, E.; MARTINEZ-VASQUEZ, J. M.; OCANA, I.; SEGURA, R. M.; PASCUAL, C. — Activity of adenosine deaminase in cerebrospinal fluid for the diagnosis and the follow-up of tuberculous meningitis in adults. *J. Infect. Dis.*, 155, 1987, 608-611.
241. RIDELL, M. — Crossreactivity between *Mycobacterium leprae* and various Actinomycetes and related organisms. *Int. J. Lepr.*, 51, 1983, 185-190.
242. RIDELL, M. — Cross-reactivity between *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and various Actinomycetes and related organisms. *Tubercle*, 64, 1983, 211-216.
243. RIDELL, M. — Serodiagnosis of tuberculosis. *Eur. Respir. J.*, 1, 1988, 587-588.
244. RIDLEY, D. S.; JOPLING, W. H. — Classification of leprosy according to immunity. A five group system. *Int. J. Lepr.*, 34, 1966, 635-636.
245. ROBERTS, G. D.; GOODMAN, N. L.; HEIFETS, L.; LARSH, H. W.; LINDNER, T. H.; MCCLATCHY, J. K.; MCGINNIS, M. R.; SIDDIQI, S. H.; WRIGHT, P. — Evaluation of the BACTEC radiometric method for recovery of mycobacteria and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* from acid-fast smear-positive specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 18, 1983, 689-696.
246. ROSE, G.; BARKER, D. J. P. — Sreening. *Br. Med. J.*, 18, 1978, 1417-1418.
247. RUBINO, M. C. — Séro-diagnostic de la lèpre par l'agglutination-sédimentation des globules de mouton formolés. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 47, 1931, 147-172.
248. SAIKAWA, K. — The effect of rapid socio-economic development on the frequency of leprosy in a population. *Lepr. Rev.*, 52, 1981, Suppl. 167-175.
249. SAIKI, R. K.; GELFAND, D. H.; STOFFEL, S.; SCHARF, S. J.; HIGUCHI, R.; HORN, G. T.; MULLIS, K. B.; ERLICH, H. A. — Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, 1988, 487-491.
250. SALEM, J.; GONTIJO FILHO, P.; LEVY-FREBAULT, V.; DAVID, H. L. — Isolation and characterization of mycobacteria colonizing the healthy skin. *Acta Leprol.*, 7, S 1, 1989, 18-19.
251. SAMUEL, N. M.; ADIGA, R. B. — Detection of antibodies in sera of leprosy patients and contacts by enzymelinked-immunoabsorbent assay (ELISA). *Jpn. J. Leprosy*, 53, 1984, 32-37.
252. SANCHEZ, G. A.; MALIK, C.; TOUGNE, C.; LAMBERT, P. H.; ENGERS, H. D. — Simplification and standardization of serodiagnostic tests based on phenolic glycolipid I (PG-I) antigen. *Lepr. Rev.*, 57, 1986, Suppl. 2, 83-93.
253. SARDA, P.; GASTAMBIDE-ODIER, M. — Structure chimique de l'aglycone du mycoside G de *Mycobacterium Omari-num*. *Chem. Phys. Lipids*, 1, 1967, 434-444.
254. SCARLATA, G.; PELLERITO, A. M.; DI BENEDETTO, M.; MASSENTI, M. F.; NASTASI, A. — Isolation of Mycobacteria from drinking water in Palermo. *Boll. Ist. Sieroter. Milan*, 64, 1985, 479-482.
255. SCHWERER, B.; MEEKER, H. C.; SERSEN, G.; LEVIS, W. L. — Ig M antibodies against glycolipid I from *Mycobacterium leprae* in leprosy sera: relationship to bacterial index and erythema nodosum leprosum. *Acta Leprol.*, 2, 3, 4, 1985, 395-402.
256. SCHAEFFER, W. B. — Serologic identification and classification of atypical mycobacteria by their classification. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 92, 1965, suppl., 85-93.
257. SCHAEFFER, W. B. — Serological identification of atypical mycobacteria. *Methods Microbiol.*, 13, 1979, 323-344.
258. SEHGAL, V. N.; KORANNE, R. V.; SHARMA, A. K.; MISRA, S.; JAIN, R. K. — Age-at-onset of leprosy. *Lepr. Índia*, 54, 1982, 332-337.
259. SHEPARD, C. C. — The experimental disease that follows the injection of human leprosy bacilli into footpads of mice. *J. Exp. Med.*, 112, 1960, 445-454.
260. SHIELD, M. J. — The importance of immunologically effective contact with environmental mycobacteria. In: *Biology of Mycobacteria*. Ratledge, C.; Stanford, J. L., editors. N. York, Academic Press, 1983.
261. SILVA, C. A. — *História da Lepra em Portugal*. Of. Gráficas da Sociedade de Papelaria, Lisboa, 1932.
262. SILVA, M. T.; MACEDO, P.; COSTA, M. H. L.; GONÇALVES, H.; TORRAL, J.; DAVID, H. L. — Ultrastructural alterations of *Mycobacterium leprae* in skin biopsies of untreated and treated lepromatous patients. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, 133 B, 1982, 75-92.

263. SKERMAN, V. B. D.; MACGOWERN, V.; SNEATH, P. H. A. — Approved list of bacterial names. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 30, 1980, 225-420.
264. SKINSNES, O. K. — Notes from the History of leprosy. *Int. J. Lepr.*, 41, 1973, 220-237.
265. SMIDA, J.; KAZDA, J.; STACKEBRANDT, E. — Molecular-genetic evidence for the relationship of *Mycobacterium leprae* to slow-growing pathogenic mycobacteria. *Int. J. Lepr.*, 56, 1988, 449-454.
266. SMITH, D. W.; RANDALL, H. M.; MACLENNAN, A. P.; LEDERER, E. — Mycosides: a new class of type-specific glycolipids of mycobacteria. *Nature*, 186, 1960, 887-888.
267. SMITH, D. W.; RANDALL, H. M.; MACLENNAN, A. P.; PUTNEY, R. K.; RAO, S. V. — Detection of specific lipids in mycobacteria by infrared spectroscopy. *J. Bacteriol.*, 79, 1960, 217-229.
268. SOMMERFELT, H.; IRGENS, L.; CHRISTIAN, M. — Geographical variations in the occurrence of leprosy: possible roles played by nutrition and other environmental factors. *Int. J. Lepr.*, 53, 1985, 524-532.
269. SPANGBERG, J. — A clinical study of the haemagglutination reaction in tuberculosis. *Acta Tuberc. Scand.*, 46, 1959, Suppl., 12.
270. STANFORD, J. L.; ROOK, G. A. W.; CONVIT, J.; GODAL, T.; KRONVALL, J.; REES, R. J. W.; WALSH, G. P. — Preliminary taxonomic studies on the leprosy bacillus. *Br. J. Exp. Pathol.*, 56, 1975, 579-585.
271. STANFORD, J. L.; PAUL, R. C.; PENKETH, A.; THURLOW, S.; CARSWELL, J. W.; BARKER, D. J. P.; BAROT, S. A. — A preliminary study of the effect of contact with environmental mycobacteria on the pattern of sensitivity to a range of new tuberculins amongst Ugandan adults. *J. Hyg. (Camb.)*, 76, 1976, 205-214.
272. STANFORD, J. L.; ROOK, G. A. W.; SAMUEL, N. — Preliminary immunological studies in search of correlates of protective immunity carried out on some Iranian leprosy patients and their families. *Lepr. Rev.*, 51, 1980, 303-314.
273. STANFORD, J. L.; SHIELD, M. J.; ROOK, G. A. W. — How environmental mycobacteria may predetermine the protective efficacy of BCG. *Tubercle*, 62, 1981, 233-248.
274. STEAD, W. W.; TO, T. — The significance of the tuberculin skin test in elderly persons. *Ann. Int. Med.*, 107, 1987, 837-842.
275. STYBLO, K.; MEIJER, J. — Impact of BCG vaccination programmes in children and young adults on the tuberculous problem. *Tubercle*, 57, 1976, 17-34.
276. STYBLO, K. — The relationship between the risk of tuberculous infection and the risk of development infectious tuberculosis. *Bull. Int. Union Tuberc.*, 60, 1985, 117-119.
277. TAKAHASHI, Y.; FUJITA, S.; SASAKI, A. — The specificity of the passive hemagglutination methods used in the serology of tuberculosis. *J. Exp. Med.*, 113, 1961, 1141-1154.
278. TARDIEU, M.; TRUFFOT-PERNOT, C.; CARRIERE, J. P.; DUPIC, Y.; LANDRIEU, P. — Tuberculous meningitis due to BCG in two previously healthy children. *Lancet*, i, 1988, 440-441.
279. TOMAN, K. — *Tuberculosis case-finding and chemotherapy*. World Health Organization, Geneva, 1979.
280. TORRAL-GARCIA, J. — Doença de Hansen. Epidemiologia, factores de risco. *Rev. Port. D. Infec.*, 7, 1985, 193-201.
281. TORRAL-GARCIA, J.; DAVID, H. L.; PAPA, F. — Preliminary evaluation of a *Mycobacterium tuberculosis* phenoglycolipid antigen in the serologic diagnosis of tuberculosis. *Ann. Inst. Pasteur/Microbiol.*, 139, 1988, 289-294.
282. TORRAL-GARCIA, J.; PAPA, F.; DAVID, H. L. — The use of PGL-Tb1 from *M. tuberculosis* in the serological diagnosis of tuberculosis meningitis: a preliminary report. *Acta Leprol.*, 7, S1, 1989, 136-137.
283. TOUSSAINT, A. J.; FIFE, E. H.; PARLETT, R. C.; AFFRONTI, L. F.; WRIGHT, G. L.; REICH, M.; MORSE, W. C. — A soluble antigen fluorescent antibody test for the serodiagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Am. J. Clin. Path.*, 52, 1969, 708-714.
284. TSANG, A. Y.; DRUPA, I.; GOLDBERG, M.; McCLATCHY, J. K.; BRENNAN, P. J. — Use of serology and thin-layer chromatography for the assembly of an authentic collection of serovars, within the *Mycobacterium avium* — *Mycobacterium intracellulare* — *Mycobacterium scrofulaceum* complex. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 33, 1983, 285-292.
285. TSUKAMURA, M. — Adansonian classification of Mycobacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 45, 1966, 253-273.
286. TSUKAMURA, M. — Properties of Mycobacteria freshly isolated from soil. *Jpn. J. Microbiol.*, 20, 1976, 355-356.
287. TSUKAMURA, M. — The non-pathogenic species of Mycobacteria: their distribution and ecology in non-living reservoirs. In: *The Mycobacteria: a sourcebook*. Kubica, G.P.; Wayne, L.G., editors. New York, M. Dekker, Inc., 1984.
288. TSUKAMURA, M.; KITA, N.; SHIMOIDE, H.; ARAKAWA, H.; KUZE, A. — Studies on the epidemiology of nontuberculous mycobacteriosis in Japan. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 137, 1988, 1280-1284.
289. TUOW, J.; LANGENDIJK, M. J.; STONER, G. L.; BELEHU, A. — Humoral immunity in leprosy: immunoglobulin G and M antibody responses to *Mycobacterium leprae* in relation to various disease patterns. *Int. J. Lepr.*, 36, 1982, 885-892.
290. VALIDO, F.; ANTUNES, C. F.; COSTA, D. — Micobactérias — Identificação e sensibilidade aos antibióticos. *Coimbra Méd.*, 1, 1987, 13-17.
291. VAN WEEMEN, B. K.; SCHUURS, A. H. W. M. — Immunoassay using hapten enzyme conjugates. *FEBS Lett.*, 24, 1972, 77-81.
292. VERCELLONE, A.; RIVIERE, M.; FOURNIE, J.-J.; PUZO, G. — Structural analogy between the major phenolic glycolipid antigens from two *Mycobacteria* species: *kansasii* and *gastri*. *Chem. Phys Lipids*, 48, 1988, 129-143.

293. VONMOS, S.; LENENBERGER, P.; BEER, V.; DE HALLER, R. — Infection pleuro-pulmonaire à *Mycobacterium smegmatis*. Description d'un cas et revue de la littérature. **Schweiz Med. Wochenschr.**, 116, 1986, 1852-1856.
294. WALLACE, R. J.; NASH, D. R.; TSUKAMURA, M.; BLACKLOCK, Z. M.; SILCOX, V. A. — Human disease due to *Mycobacterium smegmatis*. **J. Infect. Dis.**, 158, 1988, 52-59.
295. WAYNE, L. G. — Mycobacterial specification. In: *The Mycobacteria: a sourcebook*. Kubica, G.P.; Wayne, L.G., editors. New York, M. Dekker, Inc., 1984.
296. WHEELER, P. R. — Enzymes and other biochemically active components of mycobacteria. **Lepr. Rev.**, 57, Suppl. 2, 1986, 21-32.
297. WHO — Expert committee on tuberculosis, *Technical Report Series*, 552, **World Health Organization**, Geneva, 1974.
298. WHO — Expert committee on leprosy, *Technical Report Series*, 607, **World Health Organization**, Geneva, 1977.
299. WHO — *Wld Hlth Statist. ann.* **World Health Organization**, Geneva, 1977.
300. WHO — Tuberculosis control. Report of a joint IUAT/WHO study group. *Technical Report Series*, 671, **World Health Organization**, Geneva, 1977.
301. WHO — *Wld Hlth Statist. ann.* **World Health Organization**, Geneva, 1978.
302. WHO — *Wld Hlth Statist. ann.* **World Health Organization**, Geneva, 1979.
303. WHO — *Directives concernant la lutte contre la lèpre*. **World Health Organization**, Geneva, 1980.
304. WHO — *Wld Hlth Statist. ann.* **World Health Organization**, Geneva, 1980.
305. WHO — *Wld Hlth Statist. ann.* **World Health Organization**, Geneva, 1981.
306. WHO — *Wld Hlth Statist. ann.* **World Health Organization**, Geneva, 1982.
307. WHO — *Wld Hlth Statist. ann.* **World Health Organization**, Geneva, 1983.
308. WHO — *Wld Hlth Statist. ann.* **World Health Organization**, Geneva, 1984.
309. WHO — *Wld Hlth Statist. ann.* **World Health Organization**, Geneva, 1985.
310. WHO — *Wld Hlth Statist. ann.* **World Health Organization**, Geneva, 1986.
311. WHO — Tuberculosis control programme and expanded programme of immunization. Efficacy of infant BCG immunization. **Wkly Epidem. Rec.**, 28, 1986, 216-218.
312. WHO — Registered leprosy cases, 1985. **Wld Hlth Statist. Quart.**, 39, 1986, 123.
313. WHO — *Wld Hlth Statist. ann.* **World Health Organization**, Geneva, 1987.
314. WHO — Report of the seventh meeting of the scientific working group (SWG) on the immunology of leprosy. Doc. *TDR/IMMLEP/SWG(7)/87.3*. **World Health Organization**, Geneva, 1987.
315. WHO — *Wld Hlth Statist. ann.* **World Health Organization**, Geneva, 1988.
316. WHO — Expert committee on leprosy, *Technical Report Series*, 768, **World Health Organization**, Geneva, 1988.
317. WHO — *Multidrug therapy for leprosy: an end in sight*. **World Health Organization**, Geneva, 1988.
318. WHO — Incidence, tuberculosis. *Health for all, Indicator presentation system*. **World Health Organization**, Geneva, 1989.
319. WITEBSKY, E.; KLINGENSTEIN, R.; KUHN, H. — Serodiagnostische Untersuchungen bei Tuberkulose. **Klin. Wochenschr.**, 10, 1931, 1068-1071.
320. WOLINSKY, E. — Nontuberculous mycobacteria and associated diseases. **Am. Rev. Respir. Dis.**, 119, 1979, 107-273.
321. WOODS, G. L.; WASHINGTON, J. A. Mycobacteria other than *Mycobacterium tuberculosis*: review of microbiologic and clinical aspects. **Rev. Infect. Dis.**, 9, 1987, 275-294.
322. WORKSHOP REPORT — Summary, conclusions and recommendations from the International Workshop on Research Towards Global Control and Prevention of Tuberculosis with Emphasis on Vaccine Development. **J. Infect. Dis.**, 158, 1988, 248-253.
323. YANAGIHARA, D. L.; BARR, V. L.; KNISLEY, C. V.; TSANG, A. Y.; McCLATCHY, J. K.; BRENNAN, P. J. — Enzyme-linked immunosorbent assay of glycolipid antigens for identification of Mycobacteria. **J. Clin. Microbiol.**, 21, 1985, 569-574.
324. YATES, M. D.; GRANGE, J. M.; COLLINS, C. H. — The nature of mycobacterial disease in south east England, 1977-84. **J. Epidemiol. Community. Health**, 40, 1986, 295-300.
325. YOUNG, D. B. — Detection of mycobacterial lipids in skin biopsies from leprosy patients. **Int. J. Lepr.**, 49, 1981, 198-204.
326. YOUNG, D. B.; BUCHANAN, T. M. — A serological test for leprosy with a glycolipid specific for *Mycobacterium lepræ*. **Science**, 221, 1983, 1057-1059.
327. YOUNG, D. B.; DISSANAYAKE, S.; MILLER, R. A.; KHANOLKAR, S. R.; BUCHANAN, T. M. — Humans respond predominantly with Ig M immunoglobulin to species-specific glycolipid of *Mycobacterium lepræ*. **J. Infect. Dis.**, 149, 1984, 870-873.
328. YOUNG, D. B.; KHANOLKAR, S. R.; BARG, L. L.; BUCHANAN, T. M. — Generation and characterization of monoclonal antibodies to the phenolic glycolipid of *Mycobacterium lepræ*. **Infect. Immun.**, 43, 1984, 183-188.

329. YOUNG, D. B.; FOHN, M. J.; KHANOLKAR, S. R.; BUCHANAN, T. M. — A spot test for detection of antibodies to phenolic glycolipid I. *Lepr. Rev.* 56, 1985, 193-198.
330. YOUNG, D. B.; MEHLERT, A.; BAL, V.; MENDEZ-SAMPAIO, P.; IVANYI, J.; LAMB, J. R. — Stress proteins and the immune response to mycobacteria — antigens as virulence factors? *Antonie van Leeuwenhoek*, 54, 1988, 431-439.
331. ZYKOV, M. P.; GODOVANNYI, B. A.; DONETS, Y. I.; ROULET, H.; PATEL, R. I.; WADDINGTON, F. G.; BLOCHER, C. — The kaolin agglutination test with three antigens used for detecting circulating antibodies against tuberculosis in humans, cattle e guinea pigs. *Tubercle*, 48, 1967, 227-233.

# Mortalidade por cancro e ambiente: Um exercício epidemiológico \*

Victor L. Rodrigues \*\*

Francisco Alte da Veiga \*\*\*

Salvador Massano Cardoso \*\*\*\*

## 1. Introdução

O trabalho que apresentamos não pretende ser uma revisão exaustiva da Epidemiologia e das Causas de Cancro; pretende sim ser uma modesta contribuição para uma melhor compreensão do fenómeno da «distribuição e determinantes» da mortalidade por cancro em Portugal e, através deste, dos factores («predisponentes» e/ou «precipitantes») que estarão eventualmente associados com uma maior ou menor incidência e mortalidade por cancro. Não pretende, igualmente, identificar ou estabelecer uma causalidade directa e inequívoca entre as variáveis introduzidas no estudo e a mortalidade por cancro em Portugal; pretende sim apontar eventuais tendências de associação entre essas mesmas variáveis e a mortalidade por cancro em Portugal, sobretudo através da relação indirecta do que essas variáveis reflectem das características de hábitos de vida das populações aqui estudadas.

Evidentemente que o facto de se estudarem populações e não indivíduos não é o único aspecto que vai limitar, de início, as possíveis conclusões a retirar dos resultados obtidos. Não queremos deixar de frisar que os distritos («casos») do continente de Portugal são apenas 18, número que vai influenciar decisivamente todas as análises a realizar. Além disso, cada distrito

é uma amálgama de populações com características, por vezes, extremamente díspares, sendo o «resultado distrital» uma «média ponderada» dessas características comunitárias.

Por outro lado, a «mortalidade» apenas estuda os casos em que a doença evoluiu para a morte, e, destes, apenas aqueles cuja causa de morte foi atribuída à neoplasia (e apenas uma) subjacente.

Por último, a qualidade dos dados é, em Portugal, tal como, em maior ou menor grau, nos outros países, reconhecidamente insuficiente, com a agravante de ser impossível saber em que altura se iniciaram as alterações biológicas que conduziram à eclosão da neoplasia enquanto clinicamente identificada como tal. É, no entanto, necessário ter em conta que a investigação consiste numa série de pequenos passos cujos resultados, após avaliação crítica dos seus defeitos e qualidades, permite a implementação de mais hipóteses e estudos, processo nunca finalizado mas sempre gratificante.

Este trabalho pretende ser uma pequena contribuição enquadrada no processo mais lato de compreensão das associações e causas da distribuição da mortalidade por cancro (enquanto a incidência e a prevalência da doença for, em Portugal, tão mal quantificada), nomeadamente através da aplicação de análises multivariadas como técnica de sumarização de grande conjunto de variáveis e de modulação, permitindo a extracção de associações significativas para análises posteriores.

Por outro lado, o plano deste trabalho pretende ser uma abordagem algo «heterodoxa», na medida em que não considera as localizações tumorais isoladamente, mas, e sobretudo, em conjunto, tentando detectar associações sobre o padrão de mortalidade por cancro em Portugal e

\* Parcialmente baseado nas Provas de Aptidão Pedagógica e Capacidade Científica do 1.º Autor.

\*\* Assistente de Epidemiologia e Medicina Preventiva da Faculdade de Medicina de Coimbra.

\*\*\* Assistente de Biomatemática e Informática Médica da Faculdade de Medicina de Coimbra.

\*\*\*\* Professor Associado de Epidemiologia e Medicina Preventiva da Faculdade de Medicina de Coimbra.

algumas variáveis eventualmente indicadoras de um determinado estilo de vida.

Na realidade, o estudo da «distribuição e determinantes da frequência da doença» (MACMAHON & PUGH, 1970) tem sido uma tarefa demorada e árdua, tanto em Portugal como em todo o Mundo, estando basicamente associado ao desenvolvimento de quatro ideias:

1. a doença humana relaciona-se com o ambiente em que o indivíduo vive;
2. a contagem do fenómeno natural pode ser instrutiva;
3. as «experiências naturais» podem ser utilizadas para investigar a etiologia da doença;
4. em algumas circunstâncias, podem utilizar-se experiências no ser humano com esse objectivo.

A primeira ideia foi expressa por Hipócrates há «apenas» 2400 anos, sendo interessante o facto de somente vinte séculos depois se ter iniciado a quantificação das ideias por ele expostas, através de John Graunt que em 1662 publicou o seu *Natural and Political Observations Made Upon the Bills of Mortality*.

Outros 200 anos decorreram antes que outro «marco» da História da Epidemiologia fosse estabelecido: ao ser encarregue da parte de estatística médica do *Registrar General for England and Wales*, em 1839, William Farr focou a sua atenção na aplicação dos dados vitais ao estudo dos problemas da saúde pública e outros aspectos relacionados com o bem-estar público; foi assim o iniciador da aplicação das «experiências naturais» ao estudo da etiologia da doença. Mas talvez John Snow, seu contemporâneo, seja mais conhecido, devido ao seu brilhante estudo sobre a causa de um surto de cólera ocorrido em 1849, em Londres, no qual estabeleceu uma relação causal entre a epidemia e a contaminação fecal de água utilizada para fins alimentares.

Os estudos de intervenção foram igualmente importantes para o desenvolvimento da Epidemiologia; os trabalhos de Lind (escorbuto), Jenner (rubéola), Finlay (febre amarela), Fletcher (beriberi), Pasteur (raiva), Koch (tuberculose) e tantos outros, permitiram, mais do que desenvolver novas metodologias, avançar na compreensão da etiologia de doenças específicas.

Verifica-se, deste modo, que os estudos epidemiológicos têm tido uma importância fundamental na investigação das relações entre doença e seus factores predisponentes e/ou precipitan-

tes, bem como no estudo da disseminação geográfica das doenças, nomeadamente, epidemiológicas, permitiram o desenvolvimento de uma metodologia de investigação ainda hoje empregue nas suas bases gerais.

Os estudos epidemiológicos dos agentes infecciosos e o controlo das doenças infecciosas «abriram», deste modo, o caminho da aplicação da epidemiologia aos agentes não-biológicos.

Na verdade, e, parcialmente, devido ao sucesso científico destes e de outros estudos similares, os padrões de doença em todo o Mundo, sobretudo no «Mundo Desenvolvido», alteram-se radicalmente. A melhoria das condições de vida, a diminuição da mortalidade geral, por doenças infecciosas, perinatal, infantil, materna, o aumento da esperança de vida com o correspondente envelhecimento das populações, a melhoria das condições de diagnóstico, a disponibilidade de armas terapêuticas cada vez mais eficazes e seguras, e tantos outros factores que estão interligados, transformaram os padrões de morbidade e mortalidade «infecciosos» em «crónicos».

No entanto, é mais difícil conseguir estabelecer relações e/ou causa-efeito para os agentes não-biológicos presentes no ambiente. Os agentes envolvidos têm, com a doença e entre si, interligações extremamente complexas que, na maioria dos casos, são difíceis, se não impossíveis, de identificar e/ou interpretar.

A abordagem utilizada tem empregue diversas metodologias, dependentes, quer das características do objectivo em questão, quer, e sobretudo, das dificuldades de ordem prática que se opõem ao desenho e à implementação do estudo «ideal» para cada caso.

Tais abordagens partem, em geral, de investigações exploratórias (geralmente com base em registos de morbidade e/ou mortalidade) ou de observações clínicas de pequena ou média escala, tentando encontrar pistas e formular hipóteses sobre o eventual papel de agentes ambientais na etiologia e no desencadear de uma qualquer situação ou doença. Tais hipóteses serão, posteriormente, utilizados no estudo de possíveis associações entre doença e factores associados ou causais, bem como na quantificação dessas associações.

Na maior parte das vezes, o primeiro «sinal de alerta» provém de uma distribuição da situação desigual numa área ou numa população, que leva ao inquérito (dirigido ao «efeito»). Um exemplo recente é a epidemia que eclodiu em

Espanha, uma afecção respiratória aguda, grave e debilitante (TABUENCA, 1981; ALDRIDGE & CONNORS, 1982), que atingia indivíduos de todos os estratos etários e sociais e de várias regiões, e que, inicialmente, se pensou ser devida a uma infecção respiratória. Ao dirigirem a atenção primariamente às crianças afectadas (habitando num ambiente confinado e com dietas mais rígidas), os investigadores verificaram a existência de um factor comum a todos os casos — a ingestão de um óleo alimentar («óleo de colza») contaminado por produtos químicos. Estes inquéritos constituíram a investigação exploratória que serviu de base à hipótese testada subsequentemente por estudos toxicológicos e epidemiológicos.

Por vezes, a abordagem é algo diferente, partindo do reconhecimento de situações agressoras para o estudo dos efeitos a longo-prazo desses factores. Um exemplo é a investigação prospectiva dos efeitos a longo-prazo das radiações originadas pela explosão nuclear no Japão em 1945. Embora os resultados imediatos tivessem sido devastadores e se soubesse que os sobreviventes iriam desenvolver patologia vária já identificada, não foi «desperdiçada» a existência desta «experiência natural» para o estudo da história natural de doenças associadas à radiação nuclear.

A investigação a realizar está, assim, dependente, primariamente, dos objectivos a alcançar e, secundariamente, das limitações impostas por factores tão diversos como os recursos existentes, os limites temporais impostos, a acessibilidade das variáveis ou populações a estudar, os factores éticos envolvidos e tantos outros.

Uma das patologias mais estudadas e com maior incidência, prevalência e mortalidade em todo o Mundo é o grupo dos Tumores Malignos, conjunto de doenças cujo denominador comum é o «aumento da velocidade de divisão das células afectadas».

As características próprias de cada localização tumoral e a sua etiologia multifactorial (mesmo dentro de cada localização) são dois factores que tornam inicialmente o seu estudo etiológico e epidemiológico extremamente difícil.

Um dos passos seguintes será a revisão dos conhecimentos existentes sobre a doença ou condição adquiridos até ao presente. Uma das suas maiores dificuldades será a falta de «normalização» dos estudos já feitos, no que respeita ao desenho e condução do estudo, e recolha, tratamento e comunicação dos dados e

resultados obtidos. É também necessária a existência de um apurado sentido crítico que nos permita não retirar conclusões onde não são lícitas e termos a possibilidade de identificar as viciações sempre presentes em maior ou menor grau.

Um dos pontos mais importantes a ter em conta nos estudos epidemiológicos respeita à existência (e acessibilidade) e à qualidade dos dados. Os investigadores socorrem-se, geralmente, de dados obtidos por interrogatório directo dos doentes (ou, menos vezes, de familiares), de registos de mortalidade. Estes são, porventura, os mais fáceis de conseguir e os mais disseminados; têm, no entanto, várias limitações que diminuem a importância dos resultados deles decorrentes:

- os certificados de óbito são, muitas vezes, registados por médicos que, ou não conhecem o indivíduo, ou têm da sua clínica um conhecimento superficial;

- existe alguma discrepância entre a codificação clínica feita pelo médico e a codificação feita pelos serviços estatais;

- apenas uma situação é considerada como causa de morte, por vezes a precipitante e não a subjacente (quantas vezes a mais importante) (WALDRON & WICKERSTAFF, 1977, citado por WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1983);

- a informação existente tem certas incorrecções e omissões que obrigam a cuidados redobrados — registos de residência incorrectos, profissões insuficientemente assinaladas (como por exemplo, «rurais», «domésticas», «reformados», etc).

Nos últimos anos tem sido dada grande atenção aos problemas de codificação dos certificados de óbito, sendo de realçar os trabalhos de Alderson (ALDERSON, 1976) e Percy (PERCY et al., 1981).

No caso particular dos Tumores Malignos estes problemas colocam-se com especial acuidade, na medida em que cada localização topográfica (e, mesmo, dependendo das características histopatológicas) tem uma letalidade própria (lembramos que a mortalidade está dependente da incidência e da letalidade), o que torna difícil o estudo «simultâneo» das várias localizações.

Outro problema que se coloca, sobretudo em estudos que se referem a um grande conjunto

populacional, é o quantitativo populacional a incluir nos denominadores, sendo de realçar a importância da padronização para a comparação de taxas entre duas ou mais populações.

A abordagem inicial dos estudos epidemiológicos sobre cancro tem sido geralmente de carácter descritivo, seja através da elaboração de «mapas» permitindo uma visualização mais fácil e rápida das diferenças geográficas da incidência e/ou da mortalidade de um determinado cancro, seja através da identificação e descrição de pequenas zonas com um número de casos «anormalmente» alto.

Como outro exemplo de estudos descritivos podemos apontar os de variação geográfica e tempo-temporal da incidência e mortalidade por cancro, cujo objectivo consiste na identificação de eventuais associações entre as suas variações e alguns factores de risco conhecidos e/ou suspeitos, sendo a sua quantificação feita pelos estudos de «correlação», relativamente fáceis de realizar, e que têm tido um papel primordial da Epidemiologia de Cancro.

No entanto, a tradicional sede de explicação desde sempre demonstrada pelo Homem leva a Epidemiologia a analisar os problemas e a tentar estabelecer relações causais entre o ambiente e o ser humano com o objectivo de prevenir e de tratar a doença com um cada vez melhor conhecimento da fisiopatologia. Estão, neste caso, os chamados estudos «caso-controlo» e de «coorte», os quais diferem sobretudo pela metodologia empregue (identificação da doença com consequente pesquisa de exposição a factor de risco e identificação de eventuais factores de risco com consequente pesquisa do desenvolvimento da doença a eles imputável).

Outra abordagem «analítica» consiste na indução de uma «manobra», seja em seres humanos (embora com grandes restrições de ordem ética), seja em animais de laboratório, os chamados «estudos experimentais», que permitem estudar a acção de factores de risco em organismos vivos.

Por fim, não devemos esquecer os estudos em «populações migrantes», cujo objectivo consiste em aproveitar o efeito de diferentes factores de risco em populações que, na altura do estudo, se encontram no mesmo ambiente; não é mais do que aproveitar a «manobra da Natureza».

## 2. As causas de cancro

Grande parte da investigação relacionada com os tumores malignos tem dirigido a sua

atenção sobre os factores que contribuem para o aparecimento de cancro, isto é, sobre as «causas de cancro» (DOLL, 1980), de modo a, pelo seu afastamento ou redução, diminuir a incidência e a mortalidade por esta doença. Em bora a ciência não admita inferências definitivas sobre o facto de um acontecimento ser *causa* de outro, tem havido tentativas de estabelecer as condições necessárias para se admitir uma causalidade. Dentre elas, a mais importante foi a de Sir Austin Bradford Hill, que em 1965 sugeriu os seguintes critérios de causalidade (HILL, 1965). 1) Associação, 2) Consistência, 3) Especificidade, 4) Temporalidade, 5) Gradiente bio-lógico, 6) Plausibilidade, 7) Coerência, 8) Evidência experimental e 9) Analogia. Estes mantêm-se como critérios de aceitação universal, permitindo uma comparação epidemiológica padronizada das investigações passadas, em curso ou futuras.

No entanto, e se é relativamente fácil estabelecer uma relação causal directa e inequívoca entre o cancro e certos agentes, nomeadamente aqueles cuja carcinogenicidade é testada em animais de experiência (e, mesmo nestes casos, este poder carcinogénico pode não ser passível de extrapolação directa para o ser humano), a discussão torna-se mais viva quando se pretende discernir do modo como os vários componentes de algumas causas já estabelecidas, como por exemplo, o tabaco e o álcool, irão actuar, seja na sua interacção, seja no aspecto temporal — quando actuaram? foram iniciadores ou promotores das alterações?. Por exemplo, e no caso do cancro do pulmão, o tabagismo é um factor de risco causal, mas não é uma causa suficiente; já que a maior parte dos fumadores não contrai cancro do pulmão; contudo, a maior parte dos casos são atribuíveis a um mecanismo causal que engloba o tabaco como factor componente (ROTHMAN, 1982).

Por outro lado, a contribuição e a interacção relativas de todos os factores componentes da «cascata carcinogénica» tem sido intensamente estudada, embora quase sempre por observação indirecta, havendo desde há alguns anos tentativas de a formalizar em termos de observação do processo carcinogénico como resultado último de uma sequência de acontecimentos celulares transicionais estocásticos, em que as probabilidades de transição são assumidas como sendo constantes ao longo do tempo — «teoria multi-estádios da carcinogénese» (ARMITAGE & DOLL, 1954, citado em MOOLGAVKAR, 1978). Ela

estuda sobretudo tumores de origem epitelial (COOK et al., 1969), tentando estabelecer modelos que expliquem as interações entre, e sobretudo, a idade do dente e o tipo e a duração da exposição (ROTHMAN, 1982).

De qualquer modo, tem sido imenso o caminho seguido por muitos investigadores ao longo dos tempos para identificar os factores etiológicos existentes na génese do cancro, podendo situar-se o seu início no século XVII a partir das observações de Ramazzini (maior frequência de cancro da mama em freiras relativamente às outras mulheres) e de Pott (aparecimento de cancro do escroto em homens jovens limpadores de chaminés). É curioso notar que enquanto a exacta causa da maior frequência do cancro da mama em freiras permanece em discussão, a observação de Pott, partindo da conclusão que os produtos de combustão do carvão podem causar cancro em qualquer parte da pele onde estejam em contacto, permitiu lançar as bases sobre as quais se erigem os actuais conceitos de carcinogénese química (PETO, 1980).

No entanto, os estudos epidemiológicos realizados até à I Guerra Mundial (cancro da pele em agricultores, cancro dos brônquios em mineiros, cancro do lábio em fumadores de cachimbo, e outros) mais não eram que comparações feitas por médicos, cirurgiões, patologistas e outros investigadores, entre pequenos grupos populacionais, quase exclusivamente profissionais, com maior ou menor incidência de determinados cancros.

Na década de 30, investigadores, como Stocks, iniciaram a abordagem quantitativa ao estudo de cancro, abrindo um vastíssimo campo de trabalho que tem dedicado especial importância aos factores de risco ambientais e ocupacionais.

Na verdade, muitos estudos têm dedicado especial atenção a estes factores de risco, com tentativas sucessivas de estimar a percentagem de cancros a eles atribuíveis. As estimativas têm variado imenso, desde os 90 % atribuídos a agentes químicos e os restantes 10 % a causas virais, genéticas e à radiação (BOYLAND, 1967, citado por SWAMNISON, 1988), até às estimativas de Doll e Peto (DOLL & PETO, 1981) e de Peto (PETO, 1985) (Quadro 2.1).

Note-se a grande importância dada ao tabaco e à alimentação que, segundo esta estimativa, seriam responsáveis por mais de metade das mortes por cancros, factores esses cuja impor-

tância poderia ser facilmente (?) diminuída através de uma prevenção eficaz.

No entanto, estas estimativas não tomam directamente em conta a grande importância do sinergismo entre os vários factores de risco, sendo este um dos campos em que se tenta avançar.

Na impossibilidade de fazer uma revisão exaustiva sobre todas essas causas, iremos focar a nossa atenção sobre alguns dos aspectos mais importantes de algumas delas, bem como sobre algumas das linhas de investigação actualmente em curso.

**QUADRO 2.1**  
**PROPORÇÃO DE MORTES POR CANCRO**  
**ATRIBUÍVEIS A VÁRIOS FACTORES**  
**DIFERENTES**

Factor ou classe de factores	Percentagem de todas as mortes por cancro	
	Melhor estimativa	Possível amplitude
Tabaco	30	25-40
Álcool	3	2 -4
Alimentação	35	10-70
Aditivos alimentares	< 1	— 5- 2
Comportamento sexual e reprodutivo	7	1-13
Ocupação	4	2- 8
Poluição	2	< 1- 5
Produtos industriais	< 1	< 1- 2
Medicamentos e manobras médicas	1	0,5- 3
Factores geofísicos	3	2- 4
Infecção	10?	1- ?
Desconhecidos	?	?

Adaptado de DOLL & PETO, 1981

### 2.1 Tabaco

A importância do tabaco na etiologia do cancro tem sido um dos aspectos mais estudados desde há 30 anos, sendo o estabelecimento de uma relação causa-efeito uma das maiores vitórias da Epidemiologia do Cancro.

Embora o seu papel tenha sido inicialmente focalizado no cancro da cavidade bucal, nas doenças respiratórias, nas doenças cardiovasculares e no cancro do pulmão, cedo ele foi alargado para outras localizações tumorais, como a faringe, a laringe, o esófago, a bexiga, provavelmente o pâncreas, e, talvez, o rim. A associação entre estes três últimos e o tabaco não poderá ser considerada surpreendente, se nos lembrarmos que o efeito do tabagismo não é exclusivo do acto da inalação, tendo também efeitos a partir da elaboração de metabolitos que terão de ser excretados através das vias de eliminação habituais.

O problema do tabaco como causa de cancro, nomeadamente do cancro do pulmão, longe de esgotado, subsiste no estudo da quantificação do tabagismo para cada uma das localizações e histologia tumoral (WINDER & GOODMAN, 1983), modo de acção dos vários constituintes do tabaco, tipo de tabagismo, tabagismo «passivo», e, provavelmente, outros factores decorrentes da investigação em curso.

Existem vários outros factores que se aplicam à carcinogénese do tabagismo.

Quanto maior a exposição ao factor de risco maior a probabilidade de desenvolvimento de uma neoplasia relacionada (directa ou indirectamente) com o tabaco; esta exposição está dependente da idade de início do hábito, tipo de introdução do tabaco no organismo, características do tabaco fumado, mastigado ou inalado, quantidade diária de cigarros consumidos; por outro lado, a abstinência tabágica não é uma medida imediatamente benéfica, pois estima-se que apenas 3 anos após o início dessa abstinência (em fumadores «pesados», isto é, com um hábito tabágico superior a 20 anos) se começa a reduzir o risco de eclosão clínica de uma eventual neoplasia relacionada (WINDER & HOFFMAN, 1982).

O hábito de fumar cigarro ou cachimbo é um dos aspectos mais interessantes da capacidade do tabaco em provocar cancro; vários tipos de estudo demonstraram que o risco para o cancro do pulmão, laringe (glótico e supraglótico), cavidade oral, esófago, pâncreas, rim (porção parenquimatosa e pélvica) e bexiga é maior nos fumadores de cigarro que nos não fumadores (HAMMOND, 1966, citado por DOLL & PETO, 1981), embora pareça ser maior para os cancros da cavidade oral e do pulmão (especialmente dos brônquios). Verifica-se, assim, uma certa relação entre a carcinogénese e a inalação do fumo do tabaco.

A «predileção» do fumador de charuto e de cachimbo por áreas anatomicamente anteriores ao brônquio e ao pulmão poderá ser explicada pela maior alcalinidade do fumo de charuto e cachimbo; esta, além de permitir fornecer ao fumador a nicotina necessária apenas pela manutenção do fumo na boca, sem necessidade de inalação aos pulmões, possui uma maior irritabilidade para os pulmões com menor tempo de permanência.

Embora o uso de tabaco mastigado e cheirado seja um hábito pouco prevalente nos países ocidentais, em países como a Índia, a China, o Ceilão e a Tailândia, não podemos deixar de pensar nas altíssimas taxas de mortalidade por cancro da cavidade bucal, faringe e esófago que, nesses países, acompanha esse hábito.

A intensidade do tabagismo é um ponto extremamente importante a considerar; no entanto, a dificuldade da sua quantificação torna extremamente difícil saber qual o peso relativo de cada uma das suas componentes (início e duração do hábito, conteúdo em nicotina do cigarro, charuto e cachimbo, frequência diária, profundidade da inalação), sendo provavelmente responsável pela não coincidência de resultados das centenas ou milhares de estudos realizados sobre este aspecto. Têm sido tentadas várias abordagens para tornar este problema, nomeadamente a quantificação no sangue dos níveis de carboxihemoglobina, nicotina e cotinina, prevendo-se que surjam outros marcadores biológicos sensíveis e de execução simples e rápida.

Outro problema prende-se com as neoplasias não directamente relacionadas com o tabaco, como sejam as neoplasias do pâncreas, bexiga e rim, pois é necessário saber quais as quantidades tabágicas de iniciação e eclosão tumoral, quais as vias patológicas, quais os produtos responsáveis, e tantas outras.

Um aspecto que tem despertado muita atenção, sobretudo nos últimos anos, é o do «aparente» «efeito protector» do tabagismo sobre o cancro da mama. Este aspecto não é, de modo alguma, um assunto pacífico, tendo vários autores detectado um menor risco em fumadores (KELSEY et al., 1981; PORTER et al., 1983; O'CONNELL et al., 1987), falhado na detecção de qualquer associação (ROSEMBERG et al., 1984) ou detectado um efeito deletério (DANIELL, 1984).

Baron (BARON, 1984) sugeriu que o tabagismo pode ter um efeito antiestrogénico devido à sua associação com dois estados de deficiên-

cia em estrogéneos, idade precoce à menopausa e osteoporose pós-menopáusicas.

Um factor de viciação potencial na inferência de que o tabagismo causa menopausa precoce, a qual protege contra o cancro da mama, é a obesidade (O'CONNELL, 1987). Sabe-se que os fumadores são menos obesos, que as mulheres fumadoras e menos obesas têm uma menopausa mais precoce, e que a obesidade e a menopausa tardia são factores de risco para o cancro da mama.

No entanto, permanecem por explicar todas estas interdependências entre os factores de risco e protectores citados, bem como a possibilidade de a obesidade, alterações do ambiente hormonal e outros eventuais factores serem, na verdade, diminuidores do efeito do tabagismo como verdadeiro factor de risco. O papel do tabagismo na etiologia do cancro é um exemplo paradigmático das várias interacções existentes entre os vários factores de risco conhecidos (e, naturalmente, suspeitados e desconhecidos). Ele interage com vários outros na «cascata epidemiológica» de causalidade e eclosão dos tumores malignos; não esqueçamos o sinergismo com o amianto, com as radiações ionizantes (nomeadamente o radão e a exposição às radiações nucleares), com vários produtos químicos, como o níquel, o arsénico e as aminas aromáticas e o álcool (SARACCI, 1987).

**Fumo passivo.** Um dos aspectos que tem merecido algum interesse nestes últimos anos referem-se às consequências de ambientes poluídos com fumo de tabaco para os não-fumadores, nomeadamente o cancro do pulmão.

Na verdade, o fumo de tabaco pode atingir o organismo humano de duas formas principais: através da inalação pelo fumador, filtração pelos pulmões e depois exalada, e a inalação pelo não-fumador do aerossol emitido pela ponta incandescente do cigarro. Embora os dois tipos de aerossóis sejam qualitativamente semelhantes, o segundo possui um maior pH, partículas menores e maiores concentrações de monóxido de carbono (FIELDING & PHENOW, 1988). Não surpreende, assim, que os não-fumadores constituam uma população em risco para a patologia relacionada com o tabagismo, embora esse risco seja menor. No entanto, ele deve tomar em conta factores como o tipo de cigarro, a quantidade de tabaco existente nos locais, as dimensões das salas em causa, a qualidade da ventilação, a duração da exposição, etc.

Os vários estudos até agora efectuados e sumarizados no Quadro 2.2, parecem apontar para a existência de uma causalidade entre o tabagismo involuntário e o risco de cancro do pulmão em não-fumadores (FIELDING & PHENOW, 1988).

Resta esperar que estudos futuros ou em execução eventualmente incriminem o «fumo passivo» como causa de cancro.

QUADRO 2.2  
ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICAS SOBRE A ASSOCIAÇÃO ENTRE FUMO PASSIVO E CANCRO DO PULMÃO

Exposição involuntária ao tabaco	RPC* (Int. conf.)	Relação dose-efeito	Conclusão/ Significativa?
TRICHOPOLOS et al. (cigarros/dia)			
Ex-fumadores	1,9 (0,9-2,2)	Sim	Positiva/Sim
Fumadores			
1-20	1,9 (1,7-3,8)		
> 20	2,5 (1,7-3,8)		
CORREA et al. (maços/ano)		Sim	Positiva/Sim
1-40	1,5 (0,6-3,8)		
> 40	3,1 (1,1-8,5)		
CHANG & FUNG		Não	Negativa/Não
Fumadores	0,9 (0,3-2,1)		
KABAT & WINDER		Não	Negativa/Não
Fumadores	0,9 (0,3-2,1)		
WU et al. (idade-anos)		Não	Positiva/Não
1-20	1,4 (0,4-4,9)		
≥ 21	1,2 (0,4-3,7)		
GARFINKEL et al (cigarros/dia)		Sim	Positiva/Sim
< 10	1,2 (0,8-1,6)		
10-19	1,1 (0,8-1,5)		
≥ 20	2,1 (1,1-4,5)		
LEE et al.		Não	Positiva/Sim
Fumadores	1,1 (0,5-2,4)		
AKIBA et al (cigarros/dia)		Sim	Positiva/Sim
1-19	1,3 (0,7-2,3)		
20-29	1,5 (0,8-2,8)		
≥ 30	2,1 (0,7-2,5)		
DALAGER et al. (cigarros/dia)		Sim	Positiva/Sim
1-19	1,4 (0,4-4,2)		
20-39	1,3 (0,5-3,5)		
≥ 40	2,7 (0,8-8,5)		
PERSHAGEM et al (cigarros/dia)		Não	Positiva/Sim
≤ 15	1,0 (0,6-1,8)		
> 15	3,2 (1,0-9,5)		
HUMBLE et al. (cigarros/dia)		Não	Positiva/Não
< 20	2,0 (0,9-4,6)		
LAM et al. (cigarros/dia)		Sim	Positiva/Não
1-10	2,18 (1,14-4-15)		
11-20	1,85 (1,19-2,87)		
≥ 21	2,07 (1,07-4,03)		

\* RPC — Razão dos Produtos Cruzados («odds-ratio»)

Adaptado de FIELDING & PHENOW, 1988

## 2.2 Álcool

O consumo de álcool é outra «causa» de cancro muito importante, não apenas devido ao seu potencial carcinogénico intrínseco, mas também devido à sua capacidade de interacção sinérgica com outros factores de risco, nomeadamente o tabaco.

Desde as sociedades primitivas que o consumo de bebidas alcoólicas está associado com as actividades sociais e com o objectivo de «relaxar» ou «esquecer» dificuldades pessoais ou comunitárias. Nas sociedades modernas, o consumo «moderado» de bebidas alcoólicas é socialmente permitido e, mesmo, encorajado, embora o seu consumo «excessivo» seja encarado como uma doença.

Embora se reconheça o seu papel prejudicial para a saúde, o estudo dos seus efeitos no organismo humano não tem sido tão estudados como o do tabaco, talvez devido a uma manutenção do consumo de álcool ao longo dos séculos, em contraste com o do tabagismo, em que o brutal aumento do carcinoma broncopulmonar dos últimos 50 anos levou a um estudo aprofundado dos efeitos do tabagismo.

Embora, nos animais de experiência, os efeitos tóxicos do etanol estejam bem documentados, ninguém conseguiu ainda produzir cancro apenas com ele. No entanto, apesar de ser impossível reproduzir as condições humanas nas investigações animais, está provado que o álcool tem um papel muito importante na cancerígenese humana.

É já clássico o trabalho de Jensen (JENSEN, 1979) realizado numa população de trabalhadores de uma cervejaria na Dinamarca; segundo um hábito tradicional, estes trabalhadores recebem 4 «pintos» (0,658 litros) de cerveja por dia (que provavelmente consomem). Verificou-se que esta coorte experimentava uma incidência excessiva por cancros do esófago, laringe, pulmão e fígado, em relação aos trabalhadores dos outros ramos de produção não recebendo essa quantidade, grátis, de cerveja. Um aspecto interessante neste estudo consiste na ausência de risco excessivo de cancro do cólon e do recto.

Uma das abordagens feitas ao problema da relação entre álcool e cancro humano consistiu na identificação de coortes de «bebedores excessivos» que foram seguidos prospectivamente, embora essa noção esteja dependente de vários factores, talvez o mais importante sendo o auto-conceito e o conceito social de «bebedor

excessivo» (TUYNS, 1982). De notar que a maior parte dos estudos abordando essas duas noções não fazem a distinção entre consumo de álcool e outros factores confundentes, como o tabagismo; apenas o trabalho de Hirayama (HIRAYAMA, 1975, citado em TUYNS, 1982) quantificou os dois factores, chegando à conclusão que a correcção para o tabagismo anula o efeito do consumo de álcool para o cancro do pulmão, espelhando uma possível associação indirecta, o que se verifica para as outras localizações.

Os inúmeros estudos caso-controlo realizados em todo o mundo têm demonstrado uma relação entre o consumo de álcool (sobretudo quando associado ao tabagismo) e várias localizações tumorais como sejam a cavidade bucal e faringe (ROTHMAN & KELLER, 1972), a laringe (WINDER et al., 1976) (sobretudo as zonas glótica e supraglótica), o esófago (Quadro 2.3), o estômago, o cólon, o recto, o fígado e o pâncreas.

### QUADRO 2.3

#### RAZÃO DE PRODUTOS CRUZADOS («ODDS RATIO») PARA O CANCRO DO ESÓFAGO DE ACORDO COM O CONSUMO DIÁRIO DE ÁLCOOL E TABACO

Consumo de álcool (gr/dia)	Consumo de tabaco (gr/dia)		
	0-9	10-19	≥ 20
0-40	1,0	3,4	5,1
41-80	7,3	8,4	12,3
≥ 81	18,5	19,9	44,4

Adaptado de TUYNS, 1982

A associação entre consumo de álcool e o carcinoma do pâncreas permanece um dos aspectos actualmente mais controversos e discutidos em Epidemiologia (VELEMA et al., 1986). Os estudos geográficos de correlação e os estudos caso-controlo são inconclusivos tanto para o estabelecimento como para a negação dessa relação. Quanto aos estudos prospectivos, parecem apontar para uma relação causa-efeito apenas após longa duração do hábito alcoólico.

Os estudos laboratoriais empregando compostos da bebida alcoólica revelam sobretudo alterações não neoplásicas relacionadas à sua

toxicidade intrínseca; estas poderão ser factores indirectos no desenvolvimento de determinadas neoplasias, como seja o problema das hepatopatias crónicas e cancro do fígado.

### 2.3 Alimentação

Embora desde há muito tempo seja conhecido o papel da manipulação alimentar na carcinogénese animal, apenas recentemente se começou a estudar a possibilidade de a alimentação desempenhar um papel bastante importante no desenvolvimento e prevenção do cancro.

Um dos grandes passos para um desenvolvimento do estudo nesta direcção consistiu na observação de grandes diferenças na incidência

mundial de determinados tipos de cancro, sobretudo da mama e do cólon, tendo os estudos de correlação internacionais revelado coeficientes de correlação bastante altos entre, por exemplo, consumo de gorduras totais *per capita* e mortalidade por cancro da mama ( $r=0,89$ ) e mortalidade por cancro do cólon ( $r=0,85$  para o sexo masculino e  $r=0,81$  para o sexo feminino) (ARMSTRONG & DOLL, 1975; CARROL, 1975).

No entanto, é necessário não esquecer que muitos outros factores têm uma diferente distribuição nessas mesmas zonas, entre os quais (com excepções como a do Japão) o maior ou menor desenvolvimento económico (por exemplo, a correlação entre o produto nacional bruto e a incidência de cancro da mama é de 0,83) (ARMSTRONG & DOLL, 1975) (Quadro 2.4).

#### QUADRO 2.4

#### CORRELAÇÃO ENTRE INGESTÃO ALIMENTAR E VARIÁVEIS ECONÓMICAS E INCIDÊNCIA DE CANCRO DA MAMA E DO CÓLON EM 23 PAÍSES

Cancro da mama		Cancro do cólon	
Variável correlacionada	Coefficiente de correlação	Variável correlacionada	Variável correlacionada
Produto nacional bruto	0,83	Gorduras totais	0,85
Gorduras totais	0,79	Produto nacional bruto	0,82
Carne	0,78	Carne	0,78
Proteínas animais	0,77	Gorduras e óleos	0,76
Ovos	0,71	Proteínas animais	0,74

Adaptado de ARMSTRONG & MANN, 1985

Outro aspecto bastante importante na interpretação da evidência carcinogénica (directa ou indirecta) da alimentação no ser humano relaciona-se com as tendências experimentadas pelas populações que migram para zonas bastante diferentes do seu local de origem. Tais observações parecem negar um papel genético no desenvolvimento do cancro (pelo menos um papel «major») já que elas tendem a adoptar o padrão de mortalidade das populações de destino, quer rapidamente (ADELSTEIN et al., 1979) quer lentamente ao longo das várias gerações (HOWSON et al., 1986).

A avaliação dos vários estudos sobre a relação entre cancro e alimentação permitiu a

Wynder e Gori (WYNDER & GORI, 1977) atribuir 40 a 57 % de todos os casos de cancro, respectivamente para o sexo masculino e feminino, a Higginson e Muir (HIGGINSON & MUR, 1979) 30 a 63 %, sexo masculino e feminino, respectivamente, a factores de «estilo de vida», dos quais a alimentação seria o mais importante, e a Doll e Peto (DOLL & PETO, 1981) cerca de 35 % de todos os casos de cancro, com uma possível variação entre 10 e 70 %. Aceitando-se este número como real, será necessário um grande esforço de investigação sobre os constituintes da alimentação implicados na carcinogénese alimentar de modo a ser possível lançar uma grande campanha de supressão (ou diminuição) da

ingestão desses constituintes no sentido de, juntamente com a irradiação do tabagismo, haver uma diminuição, que se pensa ser substancial, da incidência e mortalidade por cancro. Na verdade, embora o seu risco relativo possa ser baixo, o seu impacto em termos de risco atribuível poderá ser muito grande devido à grande proporção de pessoas potencialmente expostas.

Mas o objectivo da identificação e quantificação dos constituintes carcinogénicos da alimentação é um dos pontos mais difíceis de ultrapassar com sucesso.

É evidente que as abordagens mais «rigorosas» são os ensaios clínicos, sobretudo «com dupla ocultação». Mas estes colocam imensos problemas, como sejam os problemas éticos de intervenção em seres humanos, a ausência de conhecimento sobre o tempo de intervalo entre a indução biológica e o aparecimento do tumor, a necessidade de um prolongado tempo de estudo, a necessidade de vigiar e controlar eficazmente o grupo populacional em estudo de modo a não haver mudança de comportamento alimentar, o que conduz à grande dificuldade na finalização de estudos deste tipo (WILLETT & MACMAHON, 1984).

As experiências laboratoriais em animais são outro tipo de estudo possível para as acções que os alimentos, ou os seus constituintes, podem induzir cancro. Um dos seus exemplos mais conhecidos é a utilização do teste de Ames para avaliação da mutagenicidade microbiana; no entanto, o papel desta na etiologia alientar não parece ter, quantitativamente, uma grande importância, havendo factores de risco que o parecem ser através de mecanismos diferentes, como a permeabilidade dos tecidos do hospedeiro às substâncias carcinogénicas, a alteração do ambiente hormonal no sentido da indução ou protecção ao cancro, alterando a resposta imunológica do hospedeiro. Além disso, estes testes foram estudados sobretudo em animais de experiência com doses geralmente altas, sem grande replicação para o ser humano.

A evidência epidemiológica tem, assim, repousado sobre os estudos de correlação e de variação geográfica e temporal, os quais deverão apenas servir como «pistas» para focar a atenção em alimentos e zonas de eventual alto-risco.

Nestes últimos anos tem havido bastantes esforços para a implementação de estudos de caso-controlo e de coorte que estudem o problema; eles têm realmente tentado melhorar os métodos de amostragem, quantificação dietética

e análise de dados (BYERS, 1988). No entanto, todos os estudos até agora realizados partilham de três grandes problemas (IARC, 1989):

1. A informação sobre hábitos dietéticos fornecida por virtualmente todos os estudos publicados refere-se a um período limitado da vida humana. Reporta-se geralmente à alimentação no ano anterior ao diagnóstico nos casos e a um período equivalente nos controlos (nos estudos caso-controlo) ou durante o tempo anterior à inclusão dos elementos na coorte nos estudos prospectivos a longo-prazo (normalmente sem informação adicional nas alterações ocorridas durante o período de acompanhamento).

2. A alimentação é um complexo e enorme conjunto de elementos, o que torna difícil obter informação adequada para permitir a distinção entre o efeito dos seus numerosos constituintes. Isto deve-se aos problemas metodológicos nos métodos de avaliação da ingestão de alimentos e ao facto de eles serem quase sempre ingeridos «em conjunto». Por exemplo, é difícil separar, no que se refere à sua associação com o cancro, as proteínas animais das gorduras animais, ou as fibras da vitamina C; estes são exemplos típicos do problema muitas vezes referido como «multicolinearidade» entre factores de risco.

3. O risco associado com qualquer alimento ou nutriente específico será provavelmente baixo em termos de risco relativo e risco atribuível (talvez com a excepção das bebidas alcoólicas). Este facto não impede que a alimentação, como um todo, possa ser responsável por uma larga proporção de todos os cancros, mas deverá notar-se que é pouco provável que um único componente da alimentação possa por si só ter um elevado peso em termos de risco relativo e risco atribuível.

De qualquer modo, as hipóteses que estão actualmente em maior discussão são as de que as gorduras aumentam o risco de cancro da mama e de cólon, que a fibra reduz o risco de cancro do cólon, que a vitamina A reduz o risco de cancro do pulmão e que o álcool aumenta o risco de cancro da mama (BYERS, 1988), sendo esta última hipótese origem de muita discussão actualmente.

Continuam as discussões sobre as vias de carcinogenicidade da alimentação, parecendo haver alguns pontos de coincidência entre os diversos investigadores (Quadro 2.5).

QUADRO 2.5

**ALGUNS MECANISMOS DE COMO A ALIMENTAÇÃO PODE AFECTAR A INCIDÊNCIA DE CANCRO \***

1. INGESTÃO DE AGENTES CARCINOGENÉTICOS POTENTES E DE ACÇÃO DIRECTA, OU SEUS PRECURSORES:
  - agentes carcinogénicos em géneros alimentares (produtos vegetais)
  - agentes carcinogénicos produzidos aquando da sua preparação para a alimentação
  - agentes carcinogénicos produzidos por microrganismos em alimentos conservados
2. AFECTANDO A FORMAÇÃO DE AGENTES CARCINOGENÉTICOS NO CORPO HUMANO:
  - fornecendo substratos para a formação de agentes carcinogénicos no corpo humano (por exemplo, nitritos, nitratos, aminas secundárias)
  - alterando a ingestão ou excreção de colesterol e ácidos biliares (consequentemente aumentando a produção de metabolitos carcinogénicos no intestino)
  - alterando a flora bacteriana do intestino (aumentando consequentemente a capacidade para formar metabolitos carcinogénicos)
3. AFECTANDO O TRANSPORTE, ACTIVAÇÃO OU DESACTIVAÇÃO DE AGENTES CARCINOGENÉTICOS:
  - alterando a concentração dentro, ou a duração do cancro com, das fezes (fibra)
  - indução ou inibição de enzimas (que afectam o metabolismo ou catabolismo carcinogénico)
  - desactivação, ou prevenção da formação, de espécies intracelulares vivas (por exemplo, pelo uso do selénio, vitamina E, caroteno, antioxidantes)
4. AFECTANDO A «PROMOÇÃO» DAS CÉLULAS
  - deficiência em vitamina A
5. NUTRIÇÃO EXCESSIVA
  - idade à menarca
  - estrogéneos derivados do tecido adiposo

\* Estes possíveis mecanismos não são mutuamente exclusivos

Adaptado de DOLL & PETO, 1981

## 2.4 Medicamentos

Os fármacos são substâncias biológica e quimicamente activas, administradas em doses suficientes para alterar processos fisiológicos ou patogénicos no ser humano.

No entanto, embora a intenção seja uma alteração para a melhoria das condições de saúde, não é de admirar que tais substâncias possuam capacidade de induzir reacções adversas. Embora o lançamento público seja precedido de rigorosos ensaios clínicos para rastreio de eventuais efeitos secundários, a sua acção a longo prazo, como por exemplo uma eventual carcinogenicidade, é mais difícil de avaliar, permanecendo em alguns (!) casos desconhecida ou mal conhecida.

Podem esquematizar-se do seguinte modo as possíveis relações entre os fármacos e o cancro (Quadro 2.6):

1. Fármacos associados com cancro no homem;

2. Fármacos suspeitos cujo poder carcinogénico no ser humano é inconclusivo ou controvertido;

3. Fármacos suspeitos como tal não avaliados no ser humano não evidenciaram poder carcinogénico;

4. Fármacos suspeitos como tal não avaliados no ser humano (HOOVER & FRAUMENI, 1981; STOLLEY PD & HIBBERD PL, 1982).

Apenas faremos algumas considerações sobre alguns dos fármacos referidos em 1 e 2.

Embora a evidência de carcinogenicidade por parte de alguns fármacos não seja uma indicação absoluta da sua retirada do mercado, ela faz-nos considerar novamente o aspecto dos custo-benefício para alguns deles pois são, por exemplo, utilizados no tratamento do cancro.

## QUADRO 2.6

## ALGUMAS RELAÇÕES ENTRE MEDICAMENTOS E CANCRO

Fármaco	Localização tumoral
<b>FÁRMACOS CUJO EFEITO CARCINOGENICO FOI CONFIRMADO</b>	
Hormonas sexuais diestilbestrol	Vagina (transplacentário) Útero
estrogéneos conjugados	Útero
androgéneos (Com substituição 17-metil)	Fígado
Arsenicais	Pele
Cloronafrazina	Bexiga
Agentes alquilantes	Leucemia; Linfoma
Agentes antimetabólicos e imunossupressores	Sarcoma de células reticulares
Radiofarmacêuticos	Osteosarcoma Carcinoma hepatocelular

**MEDICAMENTOS SUSPEITOS NOS QUAIS A EVIDÊNCIA HUMANA  
DE CARCINOGENECIDADE É INCONCLUSIVA OU CONFLITUOSA**

Clorafenicol	Leucemia
Dextrano de ferro	Sarcoma de tecidos moles (local da injeção)
Dilantina	Linfoma
Fenobarbital	Tumores cerebrais Cancro do fígado
Anfetaminas	Linfoma
Reserpina	Cancro da mama
Progesterona (Depo-Provera)	Cancro cervical
Fenilbutazona	Leucemia
Clofibrato	Cancro gastrointestinal Cancro respiratório

**FÁRMACOS SUSPEITOS CUJOS ESTUDOS EM HUMANOS  
NÃO EVIDENCIARAM PODER CARCINOGENICO**

Isoniazida	Metronidazo	Antimetabolitos (metotrexato, 5-fluorouracil)
------------	-------------	---

**FÁRMACOS SUSPEITOS COMO TAL NÃO AVALIADOS EM SERES HUMANOS**

Dapsona	Griseofulvina	Fenotiazidas	Oxitetraciclina	Cloroquina
---------	---------------	--------------	-----------------	------------

Adaptado de STOLLEY & HIBBERD 1982 e de HOOVER & FRAUMENI, 1981

**Diestilbestrol.** Uma das associações fármaco-cancro «clássicas» foi a relação entre o desenvolvimento de cancro da vagina em adolescentes pós-pubertárias relacionado com a in-

gestão de diestilbestrol pela mãe enquanto grávida (como prevenção de abortamentos), reconhecida desde a década de 30 e definitivamente confirmada em 1971.

O medicamento foi administrado em altas doses a mulheres grávidas sobretudo no primeiro trimestre, em situações que requeriam suplemento estrogénico, tendo sido um medicamento muito utilizado pela «Escola de Boston», onde, 2 a 3 décadas depois, começaram a ser diagnosticados vários casos de cancro da vagina. A implementação de um estudo caso-controlo permitiu a identificação de uma associação entre os dois factos (HERBST et al., 1971).

Permanece inconclusivo o efeito da ingestão do fármaco pela mãe no filho de sexo masculino, havendo algumas evidências de anormalidades genitourinárias, incluindo a criptorquidia, factor de risco para o cancro testicular.

Outro aspecto a considerar acerca da capacidade carcinogénica do dietilbestrol refere-se à sua associação com o cancro da mama em mulheres que ingeriram este fármaco (quadro 2.7); no entanto, uma comissão americana concluiu, em 1985, (citada em THOMAS, 1988) não haver prova de uma relação causal, sobretudo pelo pequeno número de casos e por não haver certeza de que as fontes de viciação tenham sido suficientemente eliminadas nos vários estudos implementados. De qualquer modo, as mulheres tratadas com dietilbestrol estão agora numa fase de menopausa ou pós-menopausa, o que permitirá estudos sobre o seu efeito, isolada ou sinergicamente, a longo prazo.

Por outro lado, o dietilbestrol tem sido utilizado para tratamento de sintomas menopáusicos desde há 40 anos, nunca tendo sido encontrada uma relação clara com o cancro do

útero (endométrio), falta de clareza talvez devida à maior atenção dada ao eventual aparecimento de cancro do endométrio numa população considerada em risco.

No entanto, um estudo recente (ANTUNES et al., 1979) evidenciou um risco aumentado de cancro do endométrio em mulheres menopáusicas com história de ingestão de dietilbestrol.

**Suplementos estrogénicos.** Os estrogéneos dados às mulheres durante ou após a menopausa para tratamento dos sintomas do climatério ou para prevenir a osteoporose têm sido, com sucesso, implicados por numerosos estudos no aumento do risco de cancro do ovário (SMITH et al., 1975; ZIEL & FINKLE, 1975; MACK et al., 1976), com um risco relativo estimado em 5 a 11 vezes (THOMAS, 1988), coincidindo com a observação do aumento da incidência nos Estados Unidos da América após um grande aumento do uso de estrogéneos para o tratamento do climatério (WEISS et al., 1978).

No entanto, permanece por estabelecer qual o papel dos agentes progestativos quando são adicionados aos agentes estrogénicos para efeitos terapêuticos, havendo indicações de que eles poderiam diminuir o risco carcinogénico dos estrogéneos (THOMAS et al., 1979).

Por outro lado, qual a estabilidade do risco quando há cessação da ingestão dos estrogéneos? Há indicações de que ele inicia rapidamente uma descida persistente, a qual se mantém (HOOVER & FRAUMENI, 1981).

Outro ponto de discussão consiste na relação entre ingestão de estrogéneos e cancro da mama. Os vários estudos, caso-controlo e coorte, implementados não provaram qualquer associação (THOMAS, 1988). No entanto, o mesmo autor interroga-se sobre a possibilidade da ooforectomia (muitas vezes realizada nestas mulheres) induzir um factor de viciação que «esconda» uma possível relação causal.

**Contraceptivos orais.** A «explosão» no uso de contraceptivos orais (substâncias com actividade carcinogénica em animais de laboratório) em mulheres saudáveis, criou imensas expectativas e preocupação sobre a possibilidade de esse grupo populacional desenvolver, provavelmente alguns anos mais tarde, cancros tradicionalmente associados a alterações do ambiente hormonal da mulher.

Até hoje, o único cancro comprovadamente implicado na etiologia oncológica foi o do endométrio, mas apenas limitado a um tipo de con-

**QUADRO 2.7**  
**ESTUDOS SOBRE O RISCO RELATIVO**  
**DE CANCRO DA MAMA EM MULHERES**  
**TRATADAS COM DES PARA A AMEAÇA**  
**DE ABORTOMANTO**

Tipo de estudo	N.o de casos/N.o de mulheres estudadas		
	Expostas ao DES	Não expostas	Risco relativo
Ensaio clínico	10/331	9/319	0,9
Ensaio clínico	32/696	21/668	1,2
Coorte	38/1531	24/1404	1,4
Coorte	11872885	80/2816	1,4

Adaptado de THOMAS, 1988

traceptivo oral, o sequencial, com o risco relativo estimado de 7 a 11 vezes (WEISS & SAYVETZ, 1980), estando sobretudo implicado o «Oracon» (composto por altas doses de estrogéneos e baixas doses de progesterona).

O tipo sequencial é composto por estrogéneos na primeira metade do ciclo menstrual, seguido por progestagéneos na segunda metade, havendo, deste modo, um excesso estrogénico semelhante ao que ocorre com os estrogéneos «menopáusicos».

Por outro lado, parece haver indicações de que o uso de contraceptivos orais combinados

podem estar associados com uma diminuição do risco de cancro do endométrio (WEISS & SAYVETZ, 1980).

Outra localização tumoral implicada é o fígado, tendo sido descrito o primeiro caso em 1973 (BAUM et al., 1973) numa mulher jovem. Desde então têm sido descritos mais alguns casos, mas pensa-se que são muito raros.

As outras localizações tumorais cuja associação com os contraceptivos orais permanece inconclusiva estão sumarizadas no quadro 2.8 (THOMAS, 1988).

#### QUADRO 2.8

#### RESULTADOS DE ESTUDOS SOBRE A ASSOCIAÇÃO ENTRE CONTRACEPTIVOS ORAIS COMBINADOS E NEOPLASIAS BENIGNAS E INVASIVAS

Tipo de neoplasia	Tipo de estudo	RR (Int. conf.)	Amplitude de RR	Tendência (após anos de uso)
Ca endométrio	Caso-Controlo	0,5 (0,3-0,7)	0,4- 0,6	Decrescente
Mama				
Fibrocística	Caso-Controlo	0,9 (0,8-1,1)	0,6- 1,4	Decrescente
Fibroadenoma	Caso-Controlo	0,7 (0,5-0,9)	0,3- 1,3	Decrescente
Carcinoma	Caso-Controlo	1,0 (0,9-1,1)	0,7- 1,6	Nenhuma
	Coorte	1,0 (0,8-1,1)	0,8- 1,2	Nenhuma
Ca Ovário	Caso-Controlo	0,6 (0,5-0,7)	0,4- 0,8	Decrescente
Colo do útero				
Displasia	Caso-Controlo	1,4 (1,2-1,6)	1,2- 1,7	Crescente
	Coorte	1,3 (1,0-1,5)	1,1- 5,0	Crescente
«in situ»	Caso-Controlo	1,0 (0,9-1,2)	0,6- 1,6	Crescente
Ca invasivo	Coorte	1,5 (1,1-2,0)	1,2- 3,7	Crescente
	Caso-Controlo	1,3 (1,1-1,5)	1,2- 1,7	Crescente
	Coorte	—	2,1- —	—
Fígado				
Adenoma	Caso-Controlo	—	3,7-12,6	Crescente
Carcinoma	Caso-Controlo	2,1 (1,1-5,5)	1,5- 6,9	Crescente
Melanoma	Caso-Controlo	1,0 (0,9-1,2)	0,8- 1,8	Nenhuma
	Coorte	1,4 (0,8-2,3)	0,2- 3,5	Nenhuma

Ca: Carcinoma

Adaptado de THOMAS, 1988

Entretanto, os esforços actuais vão no sentido de estabelecer definitivamente o papel «protector» da associação de progestativos nos contraceptivos orais, juntamente com a diminuição das doses da «pílula» (THOMAS, 1984).

**Androgéneos.** Estando provado o poder carcinogénico no ser humano da ingestão de

estrogéneos, não será de admirar que os androgéneos (estruturalmente semelhantes àqueles) possam igualmente revelar efeitos carcinogénicos, sobretudo se tivermos em conta o seu largo uso para muitas situações clínicas, como sejam os cancros da mama, da próstata, ovário, útero, rím, disfunções sexuais, anemia aplástica, os-

teoporose, e tantas outras, além de serem usados por atletas para melhoria do seu desenvolvimento e rendimento muscular.

Em 1972, os androgéneos (particularmente com substituição 17-metil) foram acusados de provocar carcinoma hepatocelular quando administrados em altas doses em crianças para o tratamento da anemia de Fanconi e de outras formas de anemia aplástica (JOHNSON et al., 1972).

Embora não tenha sido relatada qualquer associação com a anemia não tratada, estes doentes têm um aumento da incidência de leucemia aguda e carcinoma de células escamosas (STOLLEY & HIBBERD, 1982).

Em 1979, Ishack (citado por STOLLEY & HIBBERD, 1982) reviu os 25 casos referidos na literatura de patologia tumoral associada com estes androgéneos e verificou que eles tinham sido utilizados para o tratamento de anemia, sobretudo anemia de Fanconi, e 16 tinham testes de função hepática anormais, com apenas um sem confirmação histológica.

No entanto, parece haver uma insuficiência de evidência para estabelecer convincentemente uma relação causal, sendo possível que os doentes com anemias congénitas tenham um maior risco de desenvolvimento de tumores hepáticos e que este risco pode tornar-se aparente devido a uma maior sobrevivência devido à terapêutica androgénica (STOLLEY & HIBBERD, 1982).

**Arsenicais.** Os compostos arseniais, embora não sejam carcinogénicos nos animais de laboratório, podem, quando ingeridos, induzir cancro da pele no Homem (solução de Fowler para tratamento da leucemia mielogénica crónica, dermatite herpetiforme, psoríase, eczema), tipicamente múltiplos, em zonas não expostas e estando associados com pigmentação arsenical e hiperqueratose (HOOVER & FRAUMENI, 1981).

Embora tenham sido detectados cancros noutras localizações em pessoas com história de ingestão de arsenicais, não há evidência de maior frequência dessas neoplasias tanto em estudos caso-controlo como de corte (THOMAS, 1988).

## 2.5 Factores geofísicos

As radiações ionizantes e as radiações ultravioletas (UV) estão entre os factores cancerígenos conhecidos há mais tempo.

A radiação UV é a causa principal de cancro de pele, tanto baso e espinho-celular como o melanoma, sobretudo a nível das zonas expostas da pele (face e pescoço). Este, o melanoma, parece ter tendência a tornar-se um dos cancros com maior incidência num futuro próximo, quer devido à actual tendência de exposição prolongada aos raios solares, quer à destruição da camada do ozono (SCOTTO et al., 1982), verdadeira «camada protectora» para os efeitos prejudiciais das radiações UV. Trata-se de um campo em que o esclarecimento da população poderá ter uma importância fundamental.

Não nos devemos esquecer, no entanto, das ocupações que exigem maior exposição ao sol, nomeadamente relacionadas com a actividade agrícola e piscatória.

As radiações ionizantes têm, igualmente, um importante papel como agentes cancerígenos, sendo bem conhecidos os cancros profissionais em radiologistas, mineiros de minas de urânio, trabalhadores de centrais nucleares e manipulando plutónio, e tantos outros, sem esquecer, infelizmente, as pessoas que sofreram os efeitos dos bombardeiros no Japão na II Guerra Mundial (BOYCE et al., 1982).

**Radão.** O radão (radão-222) é um caso especial dentro das radiações ionizantes, sobretudo devido ao quantitativo populacional que atinge e às vias que pode utilizar para afectar o ser humano.

Trata-se de um gás inerte, originado da degradação do urânio-238, presente no ar ambiente, no solo e na água, que por sua vez se degrada numa série de outros produtos radioactivos (como o polónio-218 e o polónio-214).

Os primeiros estudos sobre os efeitos deletérios deste produto sobre o ser humano foram feitos em mineiros de minas radioactivas, tendo sido encontrados riscos de aparecimento de leucemias, linfomas e, sobretudo, cancro do pulmão, com riscos relativos variando entre 0,5 e 3,0 (SAMET, 1989). No entanto, o reconhecimento da sua presença no «nosso» ambiente, nomeadamente nas habitações onde pode provir da água, do solo, dos materiais de construção e do gás natural de uso doméstico, conduziu a vários estudos sobre a sua acção na população em geral, com resultados que parecem acusar o radão como factor de risco para o cancro do pulmão.

É, no entanto, necessário ter em conta a sua associação com o tabagismo, aspecto algo curioso, pois parece ter um efeito sinérgico e um efeito

antagónico com ele; assim, quando se introduz o fumo de tabaco em salas não ventiladas aumentam os produtos de degradação do radão, podendo deste modo haver um efeito potenciador; contudo, parece que o aumento das partículas do aerossol do fumo de tabaco diminui a dose recebida pelas células-alvo tabágicas pulmonares (SAMET, 1989).

Os estudos actuais parecem assim pouco conclusivos, sendo este um dos aspectos mais importantes na actual investigação da carcinogénese, sobretudo a nível pulmonar.

## 2.6 Ocupação

O «cancro ocupacional» tem sido desde há muitos anos uma fonte inesgotável de observações identificando agentes carcinogénicos afectando grupos profissionais geralmente bem individualizados. A lista dos agentes já conhecidos ou suspeitos é enorme, constantemente actualizada com novas substâncias produzidas por uma sociedade «gulosa» que não olha a meios para satisfazer as suas necessidades «civilizacionais».

Se esta causa de cancro era sobretudo característica das zonas mais desenvolvidas, fruto de uma maior industrialização, há actualmente tendência para transferir as indústrias mais nocivas em termos de saúde pública para os países menos desenvolvidos, pois estes, devido à sua maior necessidade de desenvolvimento, colocam aqueles problemas numa ordem de prioridade «pouco saudável». Este facto conduz a uma maior incidência nestas áreas de cancro antes raros, provavelmente não compensada pelas medidas preventivas que as autoridades sanitárias mundiais e nacionais tentam implementar através da educação, protecção e afastamento do trabalhador dos locais de alto risco (SARACCI, 1985).

Os cancros de origem ocupacional possuem um período latente de geralmente 5 anos para os cancros não cutâneos, com uma larga proporção de casos evidenciando-se clinicamente entre os 10 e os 30 anos após a exposição. Os cancros da pele têm um período latente bastante inespecífico, podendo variar desde o aparecimento clínico quase imediatamente após a exposição, até 50 e mais anos (DECOUFLÉ, 1982). Variam igualmente quanto à relação dose-efeito e possuem alguma especificidade para o local anatómico de origem do cancro. É de notar algum

sinergismo entre algumas substâncias carcinogénicas ocupacionais e alguns factores de risco ambientais, como, por exemplo, entre o tabagismo e o amianto.

Embora este seja um campo em que há muito para explorar e confirmar, sobretudo devido ao referido grande número de substâncias novas, é curioso notar a existência de grupos profissionais com uma maior incidência de alguns tipos de cancro sem correspondente identificação dos factores de risco responsáveis (Quadro 2.9); será, eventualmente, uma via de estudo no que respeita à Epidemiologia de Cancro Ocupacional.

Um dos aspectos actualmente mais em foco e que tem despertado vários estudos e bastante discussão refere-se à eventual associação entre o exercício físico e o sedentarismo, nomeadamente derivado do tipo de ocupação, e algumas formas de cancro, nomeadamente o cancro do cólon.

Na verdade, o cancro do cólon parece ser uma doença das sociedades desenvolvidas. Existe evidência que a alimentação, nomeadamente uma dieta pobre em fibras e vegetais e rica em gorduras, pode ser um factor de risco (GRAHAM et al., 1978); por outro lado, o grau de industrialização parece também estar relacionado com este tipo de cancro (HIGGINSON, 1966). No entanto, a distribuição geográfica da sua incidência parece evidenciar largas faltas de conhecimento sobre a sua etiologia.

Um estudo (PERSKY et al., 1981), apontando uma associação entre o ritmo cardíaco em repouso e o cancro do cólon, levantou a questão sobre se o exercício pode afectar o risco subsequente. Consequentemente, tem havido alguns estudos que têm tentado estudar essa eventual associação. Eles são mais ou menos consistentes no facto de encontrarem uma certa associação entre o sedentarismo e o cancro do cólon, embora ela falhe para o cancro do recto e outros (GARABRANT et al., VENA et al., 1985; GERHARDSSON et al., 1986; GERHARDSSON et al., 1988).

O actual estado de conhecimentos parece indicar que o mecanismo pelo qual o sedentarismo (não apenas ocupacional mas também recreacional) pode induzir cancro do cólon consiste na diminuição da velocidade de progressão intestinal das fezes, aumentando deste modo o tempo de contacto entre a mucosa e os metabolitos carcinogénicos fecais (GERHARDSSON et al., 1988).

QUADRO 2.9

GRUPOS OCUPACIONAIS ASSOCIADOS COM ALTOS RISCOS DE CANCRO MAS SEM IDENTIFICAÇÃO DE FACTOR DE RISCO ESPECÍFICO

Grupo ocupacional	Local(is)
Químicos	Cérebro. Tecidos hepatopoiéticos e linfáticos Pâncreas
Mineiros de carvão	Estômago
Trabalhadores de fundições	Pulmão
Trabalhadores manipulando couro	Bexiga. Laringe. Boca. Faringe
Mineiros material metálico	Pulmão
Petroquímica e refinaria de óleos	Cérebro. Leucemia. Mieloma múltiplo. Estômago. Esófago. Pulmão
Pintores	Leucemia
Gráficos	Pulmão. Boca. Faringe
Indústria plástica	Bexiga. Leucemia. Cérebro. Pulmão Próstata. Estômago
Têxteis	Cavidade nasal. Seios nasais

Adaptado de DECOUFLÉ, 1982

2.7 Comportamento sexual e reprodutor

Reconhecendo-se as significativas alterações corporais decorrentes da gravidez, do nascimento, da lactação e das relações sexuais, não admira que estes factos possam, de algum modo, ter alguma importância na possibilidade de agirem como factores de risco. No entanto, o seu mecanismo é diferente, sendo habitual dividir o comportamento sexual e o comportamento reprodutor.

Sendo o cancro do colo do útero praticamente inexistente em virgens (DOLL & PETO, 1981), não surpreenderá que a relação sexual possa, indirectamente, ser um factor de risco, nomeadamente através de infecção produzida quer por promiscuidade sexual quer por «parceiros» infectados. Na verdade, todas as evidências mostram que a infecção é um factor de risco *major* para este tipo de cancro (KINLEN, 1985).

Já o comportamento reprodutor tem uma maior importância para os cancro do endométrio, do ovário e, sobretudo, da mama, nomeadamente através da alteração do ambiente hormonal que acarretam. A idade aquando do primeiro filho, o número de filhos, a idade da menarca e da menopausa (natural ou induzida), são todos elementos sempre presentes aquando da «contabilidade» das probabilidades de desenvolver os cancros referidos (QUEMADA, 1987).

É evidente que não se esgota nestas breves considerações toda a evidência e toda a discus-

são que têm rodeado os factores de risco para o cancro. O seu número é provavelmente enorme, mas talvez os aspectos mais importantes sejam a sua capacidade e modo de interacção e a susceptibilidade do hospedeiro, aspectos extraordinariamente difíceis de estudar e quantificar, abordagem que, embora não privativa da Epidemiologia, a ela deverá ir colher a sua metodologia, o seu rigor e a sua «honestidade» próprias, não descurando a necessidade de um constante aperfeiçoamento.

Continuam, ainda, sob uma certa «infância», algumas abordagens que, embora não sejam recentes, não têm dedicado a possível atenção necessária, nomeadamente as genéticas e, sobretudo, imunológicas.

3. Mortalidade por cancro e ambiente: um exercício epidemiológico

São quase inexistentes, em Portugal, os dados de incidência de tumores malignos de base populacional, havendo apenas, em bases regulares (segundo sabemos, o Registo de Cancro de Viana do Castelo tem tido um trabalho um pouco irregular), os números fornecidos ao Instituto Nacional de Estatística pelos três Centros Regionais do Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil. Deste modo, as abordagens epidemiológicas de base populacional têm sido reali-

zadas predominantemente com base nos dados de mortalidade fornecidos pelo INE e retirados dos certificados de óbito oficiais.

Uma das técnicas utilizadas para efectuar uma abordagem espacial e estabelecer associações entre a mortalidade por cancro e eventuais factores de risco tem sido a elaboração de mapas de Portugal, com divisão distrital em classes das taxas de mortalidade por várias localizações tumorais (RODRIGUES, 1985; MOTTA & FALCÃO, 1987; OLIVEIRA et al., 1988; CARDOSO et al., 1988), técnica que, além de não permitir quantificar eventuais associações causais (sendo estas feitas em bases de certo modo empíricas), não permite uma visão de conjunto das várias localizações.

Tem, assim, sido utilizada com maior frequência uma abordagem multivariada de modo a permitir a sumarização de uma maior quantidade de dados (GROVES et al., 1987; RODRIGUES et al., 1989).

Há, por outro lado, várias outras dificuldades a ter em conta na implementação destes estudos nacionais de correlação. Em primeiro lugar, os dados de mortalidade são referidos sobretudo à unidade de análise «Distrito», o que coloca alguns problemas de dimensão (18 casos, no Continente de Portugal) na utilização e interpretação das análises a empregar.

Em primeiro lugar, as variáveis «explicadoras» ou «preditoras» não são de qualidade e quantidade apreciáveis, sobretudo porque o «Distrito» tem uma quantificação que mais não é que uma «média ponderada» de aglomerados populacionais por vezes extremamente díspares (por exemplo, zonas urbana e rural).

Em terceiro lugar, a extrema mobilidade migratória sobretudo nas regiões do interior, tanto em relação ao estrangeiro como às zonas portuguesas economicamente mais desenvolvidas.

Há, por outro lado, uma crescente tendência em utilizar as localizações tumorais e os factores de risco não isoladamente, isto é, e por exemplo, não estudar a acção do tabagismo na etiologia do cancro do Pulmão e do alcoolismo na do Esófago, mas sim a contribuição relativa do tabagismo e do alcoolismo na etiologia do cancro do Pulmão e do Esófago.

De qualquer modo, os eventuais resultados do presente estudo deverão ser avaliados segundo a utilidade intrínseca de qualquer estudo de correlação e segundo todos os vieses decorrentes dos dados utilizados e da metodologia empregue.

### 3.1 Material, métodos e resultados

Os dados de mortalidade utilizados foram solicitados ao INE sob a forma de «quadros disponíveis e não publicados» desagregados por Distrito, Localização Tumoral (ICD-9:8-14), Sexo e Grupo Etário (19 grupos etários).

Para, tanto quanto possível, evitar a flutuação anual do número de óbitos, problema que se coloca sobretudo para rubricas com pequeno número de óbitos e para unidades de análise pouco populosas, todas as etapas do estudo em que se contemplou a mortalidade por tumores malignos ou localização tumoral foi relativa à média de óbitos entre 1983 e 1987, inclusive.

O denominador populacional necessário para algumas etapas do estudo foi retirado do «XII Recenseamento Geral da População, 1981» (INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA, 1984), desagregado por Distrito, Sexo e Grupo Etário (18 grupos etários).

De acordo com a Lista Tabular CID-9 de Tumores Malignos (Anexos — Quadro A.1) foi calculada a Mortalidade Proporcional em relação ao total de Tumores Malignos (CID-9:8-14) e a Taxa de Mortalidade Geral (/10<sup>5</sup> habitantes) por cada rubrica, para o conjunto dos dois sexos e para cada um deles (Anexos — Quadro A.2).

Devido ao grande número de localizações tumorais, à existência de localizações anatómicas específicas do sexo masculino e feminino, à pequena mortalidade de algumas e à inespecificidade de outras, apenas foram seleccionadas, de entre aquelas cuja mortalidade proporcional ao total de tumores malignos fosse igual ou superior a 1 %, as seguintes localizações tumorais (Quadro 3.1):

CID-9:08	T.M. dos Lábios, Cavidade Bucal e Faringe
CID-9:090	T.M. do Esófago
CID-9:091	T.M. do Estômago
CID-9:093	T.M. do Cólon
CID-9:094	T.M. do Recto, da Junção Rectosigmóide e do Ânus
CID-9:096	T.M. do Pâncreas
CID-9:100	T.M. da Laringe
CID-9:101	T.M. da Traqueia, dos Brônquios e do Pulmão
CID-9:113	T.M. da Mama Feminina
CID-9:120	T.M. do Colo do Útero
CID-9:124	T.M. da Próstata
CID-9:126	T.M. da Bexiga Urinária
CID-9:130	T.M. do Encéfalo
CID-9:141	Leucemia

QUADRO 3.1

**TAXA DE MORTALIDADE (/10<sup>5</sup> HABITANTES) E MORTALIDADE PROMOCIONAL PELAS LOCALIZAÇÕES TUMORAIS SELECIONADAS EM RELAÇÃO AO TOTAL DE TUMORES MALIGNOS**

Localização tumoral	Sexo								
	Total			Masculino			Feminino		
	T.M. /10 <sup>5</sup> h	%	N.º*	T.M. /10 <sup>5</sup> h	%	N.º*	T.M. /10 <sup>5</sup> h	%	N.º*
Lábios, Cavidade Bucal e Faringe	3,81	2,45 (10)		6,54	3,45 (10)		1,35	1,07 (12)	
Esófago	5,19	3,34 (7)		7,85	4,20 (5)		2,72	2,16 (10)	
Estômago	29,34	18,87 (1)		35,93	19,23 (1)		23,21	18,37 (2)	
Côlon	11,65	7,50 (3)		11,60	6,21 (4)		11,70	9,26 (3)	
Recto, Junção Rectos e Ânus	6,10	3,92 (5)		7,24	3,87 (8)		5,04	3,99 (6)	
Pâncreas	6,36	4,09 (4)		7,30	3,91 (6)		5,48	4,34 (5)	
Laringe	3,79	2,44 (11)		7,25	3,88 (7)		0,57	0,45 (13)	
Traqueia, Brônquios e Pulmão	18,76	12,05 (2)		32,04	17,15 (2)		6,35	5,03 (4)	
Mama Feminina	—	—		—	—		23,92	18,94 (1)	
Colo do Útero	—	—		—	—		3,31	2,62 (8)	
Próstata	—	—		18,92	10,92 (3)		—	—	
Bexiga Urinária	4,51	2,90 (8)		6,97	3,73 (9)		2,22	1,76 (11)	
Encéfalo	3,82	2,46 (9)		4,48	2,40 (12)		3,20	2,53 (9)	
Leucemia	5,4	3,56 (6)		6,38	3,42 (11)		4,75	3,76 (7)	

\* O número em parêntesis indica a hierarquia, em ordem decrescente, da mortalidade por cada localização tumoral dentro de cada sexo e no seu conjunto

É de notar a grande importância da mortalidade por tumores do aparelho digestivo, nomeadamente por cancro do Estômago (repare-se que, no sexo feminino, os seus valores são praticamente iguais aos de cancro da mama), por T.M. da Traqueia, Brônquios e Pulmão (embora com um valor ainda (?) relativamente baixo no sexo feminino), por T.M. da Próstata e a não inclusão no quadro dos T.M. da Pele, nomeadamente do Melanoma, tumor que «parece» ter (não esquecer a sua apreciável letalidade) uma baixa prevalência em Portugal.

No entanto, a importância da mortalidade por tumores malignos, no seu conjunto e por cada localização, é diferente consoante as regiões que

se consideram, e, nomeadamente no continente de Portugal, reconhecem-se disparidades regionais apreciáveis.

Deste modo, haveria interesse em quantificar a importância relativa de cada distrito para a mortalidade nacional por cada localização tumoral. Mas seria errado fazê-lo sem afastar um dos factores mais importantes que vão condicionar a sua distribuição: o efeito da idade, isto é, da desigualdade das distribuições etárias das populações que se vão considerar.

A técnica habitualmente utilizada com esse objectivo é a padronização, quer pelo método directo, quer pelo método indirecto (INSKIP et al, 1983).

Na primeira, as taxas de mortalidade específicas por grupo etário da população em estudo são aplicadas aos valores dos correspondentes grupos etários da população padrão.

Na segunda, as taxas de mortalidade específicas por grupo etário da população padrão são aplicadas à população em risco em cada grupo etário da população em estudo.

É evidente que cada método tem as suas indicações, bem como as suas vantagens e desvantagens.

O método directo é vantajoso, para além de fornecer resultados mais simples e intuitivos, sobretudo quando há interesse em que haja manutenção da consistência entre as populações. Evidentemente que necessita que se conheça o número de óbitos e o quantitativo populacional de cada grupo etário na população em estudo e na população padrão. Trata-se de um método bastante usado e recomendado pela International Agency for Research on Cancer (WATERHOUSE, 1976).

No entanto, se não se conhecer o número de óbitos por grupo etário da população em estudo, o método directo não é passível de aplicação, sendo necessário aplicar o método indirecto, tendo este a vantagem de, por ter um menor erro padrão (LONDON SCHOOL OF HYGIENE AND TROPICAL MEDICINE, 1986), ser mais apropriado naqueles casos em que o número de óbitos na população em estudo é pequeno, permitindo, deste modo, e através da relação óbitos observados / óbitos esperados, calcular um indicador aproximado do risco para uma determinada patologia numa determinada população. Emprega-se, deste modo, em estudos que comparam populações com pequeno número de óbitos.

Procedeu-se, assim, a uma padronização indirecta, pelos distritos de Portugal (Continente) e por nove grupos etários, dos óbitos pelas localizações tumorais (14) atrás referidas.

Como foi já referido, o número de óbitos introduzidos no cálculo consistiu na média (em cada distrito) dos óbitos de 1983 a 1987, tendo as taxas de mortalidade padrão («população padrão») utilizadas para o cálculo da padronização sido obtidas referindo a média de óbitos nacionais por cada localização tumoral (1983-1987) à população referida para Portugal no XII Recenseamento (INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA, 1984).

Obteve-se, deste modo, uma razão Padronizada de Mortalidade (RPM) para cada uma das

localizações tumorais, nos 18 distritos do Continente de Portugal.

Subsequentemente as RPM distritais de cada localização tumoral foram distribuídas em cinco classes (Figuras 3.1 a 3.14).

Uma primeira abordagem da distribuição geográfica dos tumores malignos em Portugal é-nos permitida pela análise dos mapas das figuras 3.1 a 3.14, em que a RPM das 14 localizações tumorais consideradas foi dividida nas 5 classes já referidas.

Apesar da sua análise detalhada não ser um objectivo fundamental do estudo, e a sua descrição exaustiva ser extraordinariamente fastidiosa, seria incorrecto não deixar de referir alguns aspectos mais evidentes.

A RPM por T.M. dos Lábios, da Cavidade Bucal e da Faringe (Figura 3.1) mostra valores mais altos nos distritos de Beja, Lisboa e Setúbal, mas também superiores à média em Leiria, Faro e Coimbra. Os valores mais baixos estão distribuídos pelos distritos do Norte e Interior Norte.

A RPM por T.M. do Esófago (Figura 3.2) parece mostrar uma linha divisória em diagonal, quase que ao longo do rio Tejo, tendo o Norte dessa divisão imaginária valores superiores ao Sul. De destacar os distritos de Viana do Castelo (RPM = 204,7) e de Braga, Vila Real, Viseu e Porto, colocando o Litoral Norte de Portugal com resultados extremamente «pesados» para a mortalidade por cancro do Esófago.

A RPM por T.M. do Estômago (Figura 3.3) parece distribuir-se por 3 «manchas»: Região Norte com alta RPM, Região Sul com RPM média e Região Centro com baixa RPM. O distrito com maior valor é o de Braga, repetindo-se, como na anterior, os altos valores dos distritos do Litoral Norte; no entanto, esta distribuição, ao contrário da anterior, «penaliza» de algum modo os distritos de Bragança e da Guarda.

A RPM por T.M. do Cólon (Figura 3.4) evidencia uma distribuição bastante diferente das duas anteriores, com valores superiores à média nacional nos distritos de Lisboa, Setúbal, Porto e Évora, e valores algo baixos no Centro e Interior Norte.

A RPM por T.M. do Recto, da Junção Recto-sigmóide e do Ânus (Figura 3.5) tem os seus valores mais altos nos distritos de Lisboa, Setúbal e Leiria, e valores baixos nos distritos de Vila Real e Viana do Castelo.

A RPM por T.M. do Pâncreas (Figura 3.6) mostra os seus «picos» nos distritos de Setúbal, Lisboa e Porto, valores superiores à média

FIGURA 3.1  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR T.M. DOS LÁBIOS, DA CAVIDADE BUCAL  
E DA FARINGE (CID-9:08)

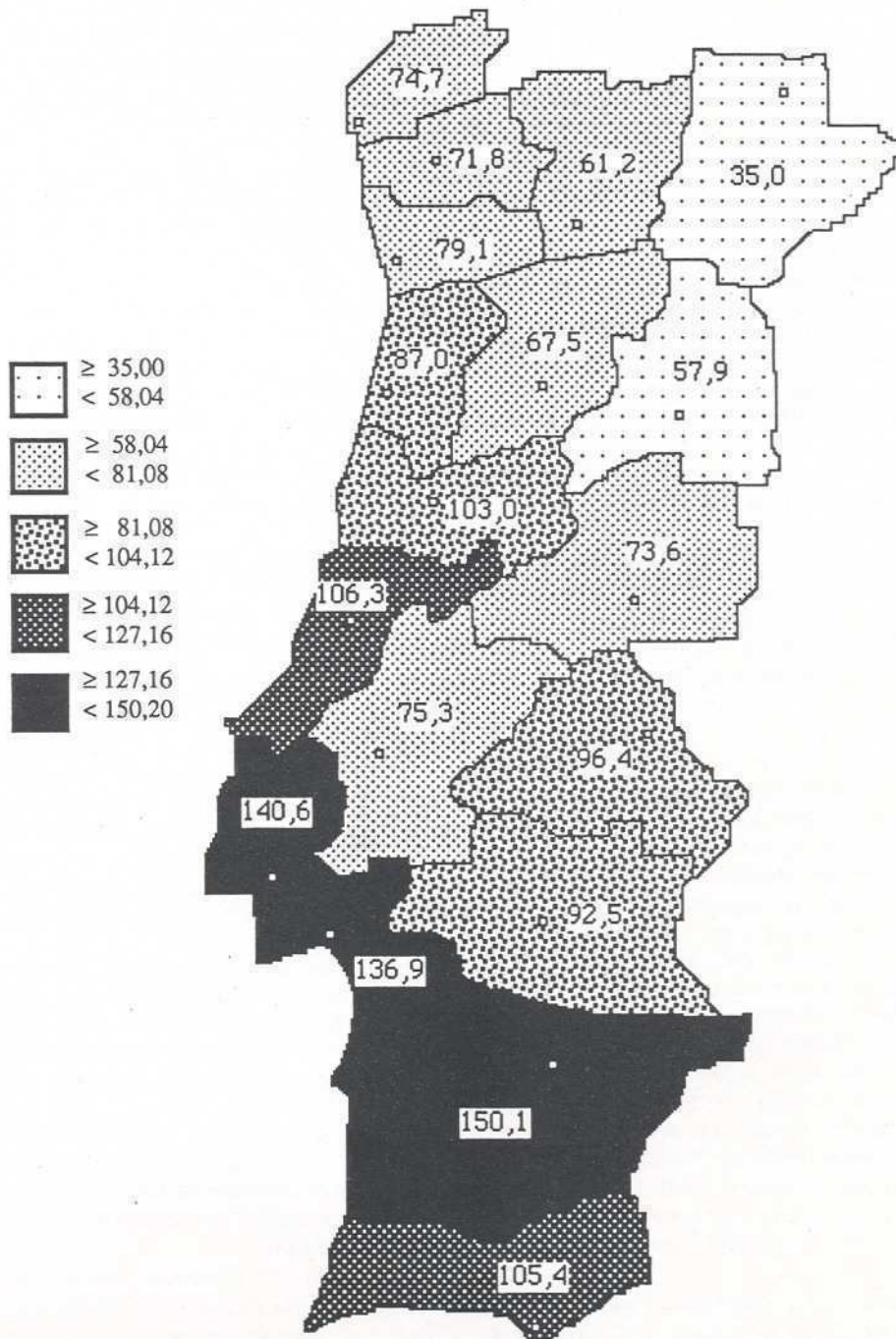


FIGURA 3.2  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR T.M. DO ESÓFAGO (CID-9: 090)

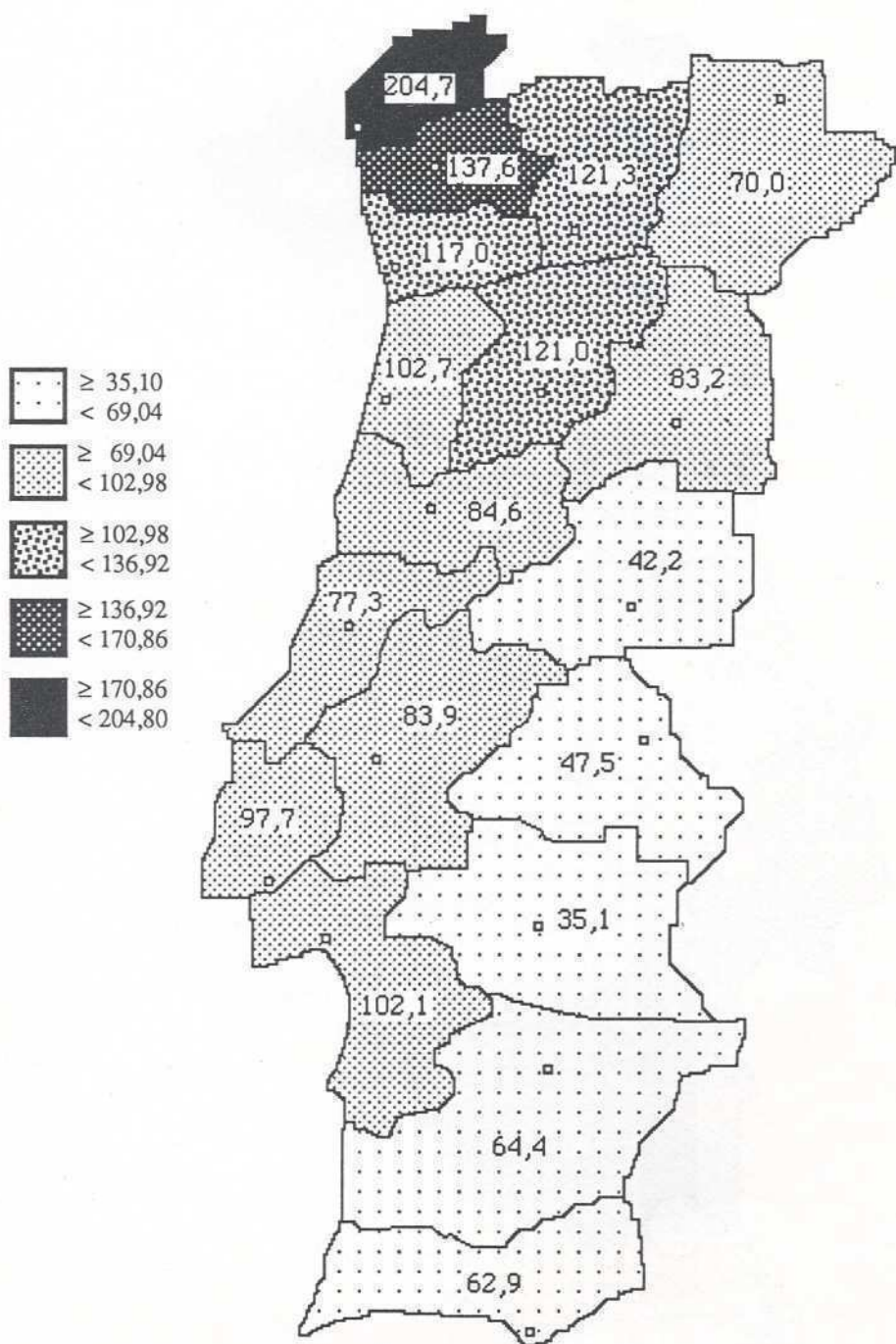


FIGURA 3.3  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR T.M. DO ESTÔMAGO (CID-9:091)

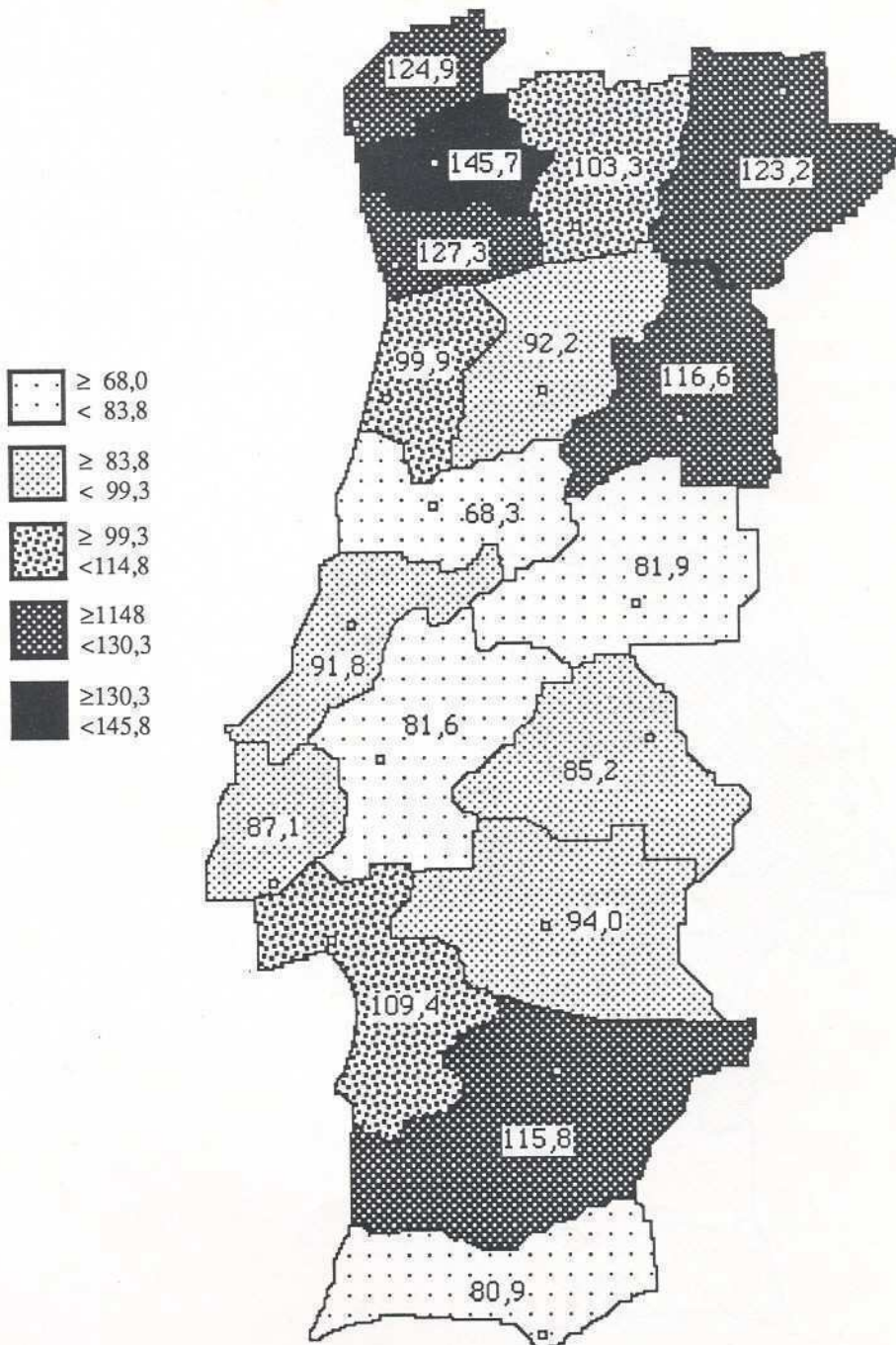


FIGURA 3.4

DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR T.M. DO CÓLON (CID-9:093)

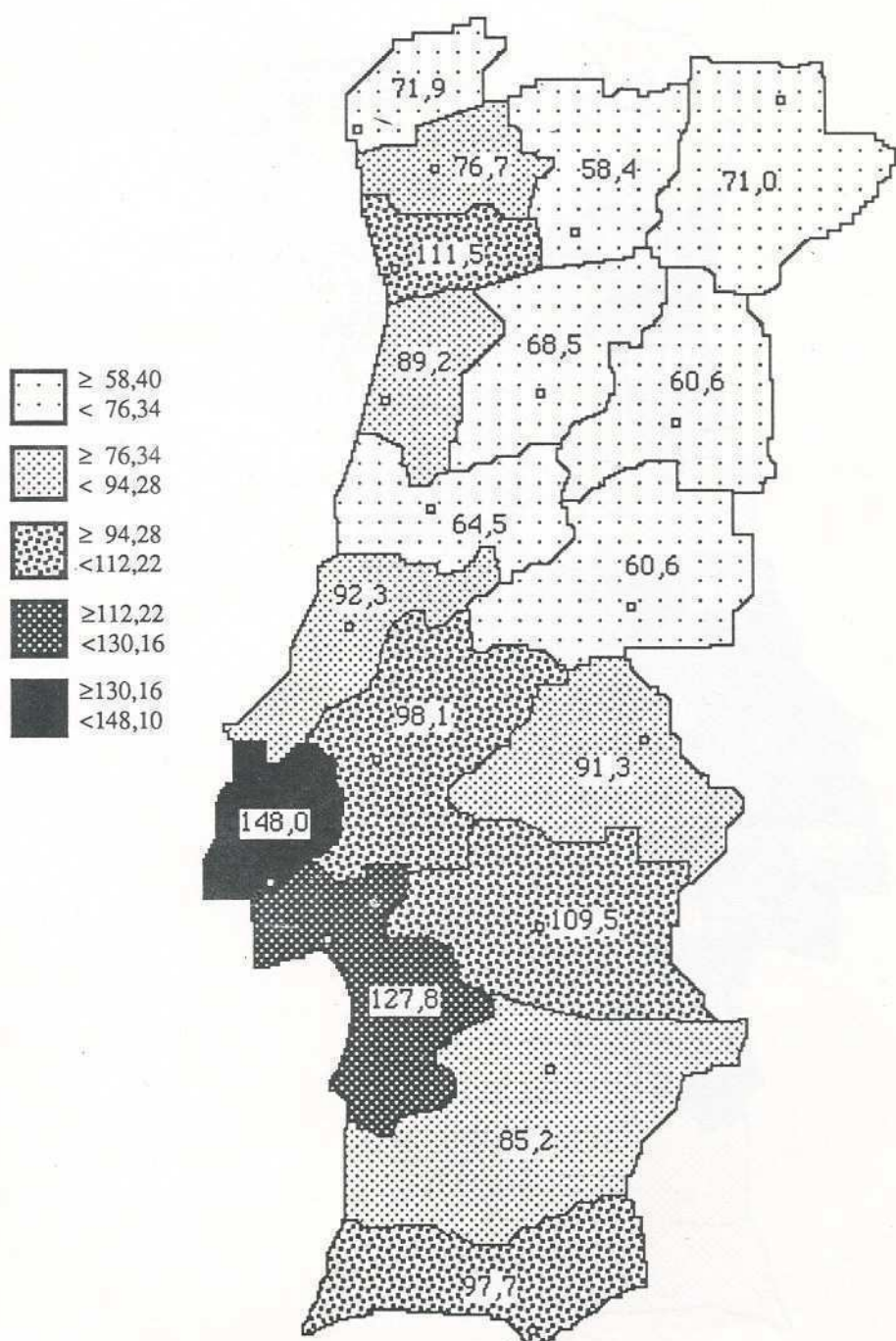


FIGURA 3.5  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR T.M. DO RECTO, DA JUNÇÃO  
RECTOSSIGMÓIDE E DO ÂNUS (CID-9:094)

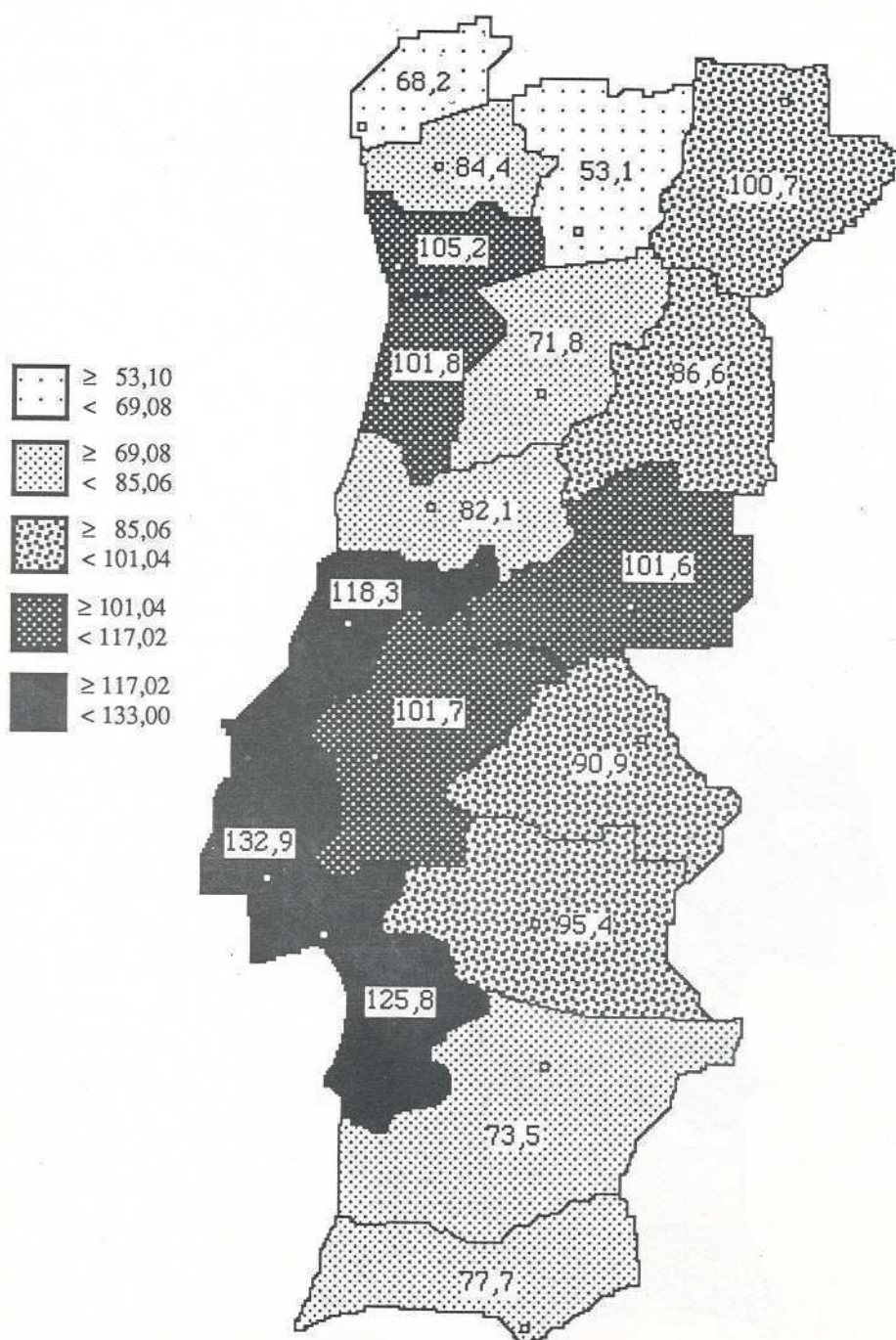
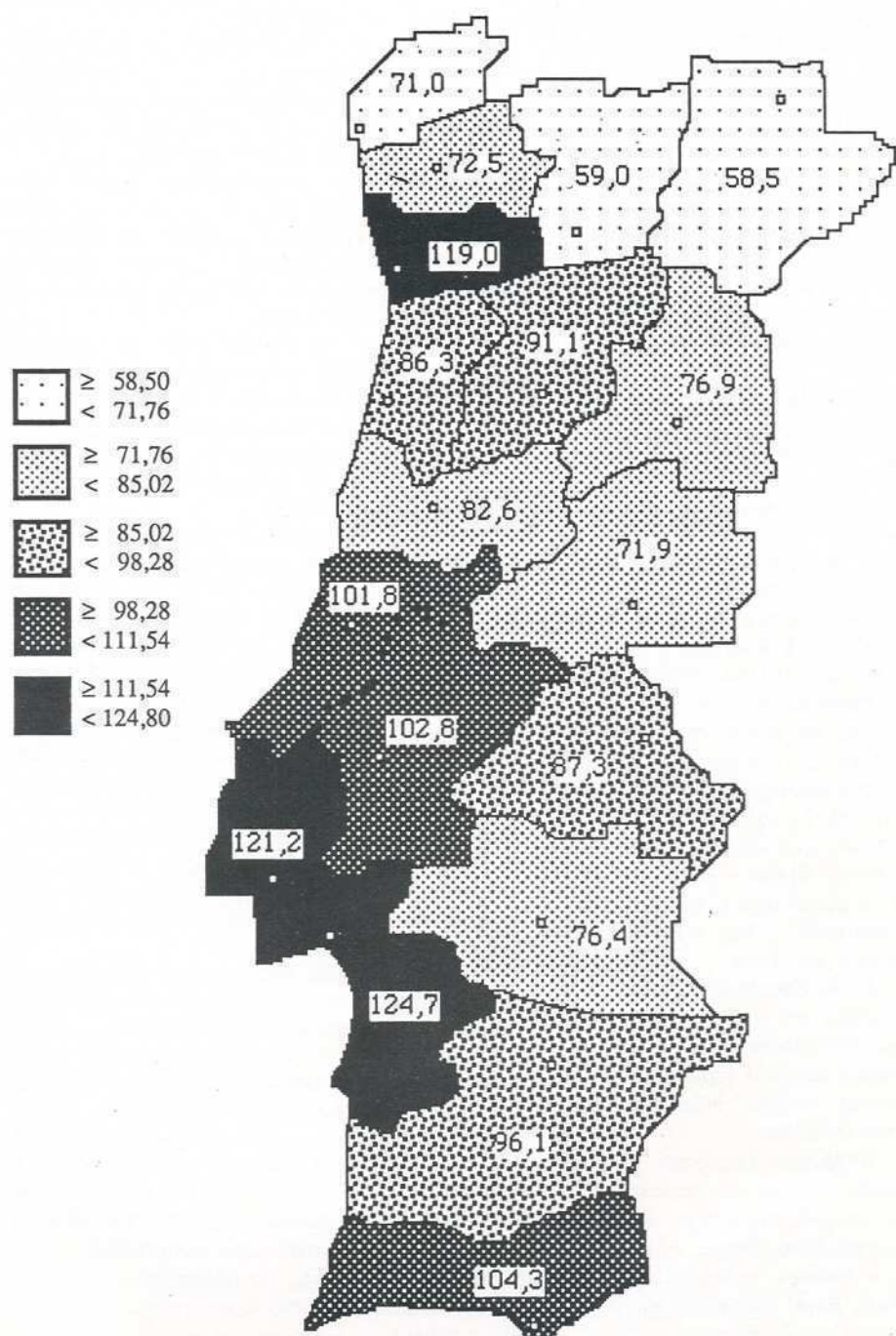


FIGURA 3.6  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR T.M. DO PÂNCREAS (CID-9:096)



nacional também em Faro, Santarém e Leiria, e valores bastante baixos nos distritos de Bragança, Vila Real e Viana do Castelo.

A RPM por T.M. da Laringe (Figura 3.7) tem uma amplitude de resultados algo elevada, com valores superiores à média nacional nos distritos de Beja e Setúbal, Viana do Castelo, Lisboa e Faro, e Leiria, Porto e Braga. De notar que os valores mais baixos se encontram sobretudo no Interior Norte e Centro.

A RPM por T.M. da Traqueia, Brônquios e Pulmão (Figura 3.8) tem valores superiores à média nacional nos distritos de Porto, Beja, Setúbal, Lisboa e Faro, e valores muito baixos nos distritos de Bragança, Leiria, Guarda, Santarém, Castelo Branco e Vila Real, distribuição algo semelhante à RPM da localização anatómica imediatamente superior e evidenciada na figura anterior (Figura 3.7).

A RPM por T.M. da Mama Feminina (Figura 3.9) possui um «Pico» nos distritos de Lisboa e Setúbal, e valores muito baixos nos distritos de Vila Real, Braga, Viana do Castelo, Bragança, Guarda, Castelo Branco e Viseu (Norte e Interior Norte).

A RPM por T.M. do Colo do Útero (Figura 3.10) tem valores «destacados» nos distritos do Porto, Lisboa e Setúbal, e valores baixos nos distritos do Interior Norte e Interior Centro.

A RPM por T.M. da Próstata (Figura 3.11) alcança um valor bastante alto no distrito de Lisboa, apreciando-se, de algum modo, que o Litoral, sobretudo Norte e Centro, tem valores mais altos que as outras regiões do País.

A RPM por T.M. da Bexiga Urinária (Figura 3.12) mostra um padrão tumoral com «picos» em Lisboa e Setúbal, Porto, Braga e Aveiro e Faro, parecendo haver alguns pólos de atracção geográfica, nomeadamente Lisboa e Porto, com um valor bastante alto em Faro.

A RPM por T.M. do Encéfalo (Figura 3.13) mostra uma distribuição em que os valores de Lisboa, Faro, Braga, Portalegre, Setúbal e Porto são superiores à média nacional, repartindo-se os valores dos restantes distritos algo dispersamente pelo restante território.

Finalmente, a RPM por Leucemia (Figura 3.14) parece evidenciar uma distribuição algo heterogénea, com valores, superiores à média nos distritos de Lisboa, Faro, Braga, Portalegre, Setúbal e Porto, e valores muito baixos nos distritos de Vila Real, Beja, Santarém, Viana do Castelo, Bragança e Castelo Branco.

As «manchas» geográficas da distribuição da mortalidade por cancro mostram assim, e como seria de esperar, vários padrões de comportamento, mas muitas vezes com alguma continuidade geográfica ao longo de dois eixos principais: Norte/Sul e Interior/Litoral.

Nesta fase, o grande número de localizações tumorais consideradas, algumas das quais com uma distribuição geográfica algo semelhante, tornava aconselhável a utilização de alguma técnica que, com uma perda de informação mínima, permitisse reduzir uma tão grande informação num menor número de variáveis. Por outro lado, além da redução do número de variáveis, havia interesse em que tais «factores» pudessem explicar as inter-relações entre as variáveis originais (AFIFI & CLARK, 1984).

Para avaliar da necessidade de uma tal técnica, as RPM destas catorze localizações tumorais foram introduzidas numa matriz de correlação, de molde a quantificá-la (Quadro 3.2), tendo esta evidenciado a anteriormente suspeitada semelhança de comportamento geográfico de algumas localizações.

No notar, imediatamente, a correlação inversa entre a RPM por T.M. do Estômago e do Esófago e as RPM por T.M. do Cólon, do Recto, do Pâncreas, da Mama e do Encéfalo, entre a RPM por T.M. do Esófago e a RPM por Leucemia, e entre a RPM por T.M. do Estômago e a RPM por T.M. do Colo do Útero e da Próstata.

Por outro lado, é evidente a alta correlação entre as variáveis em causa, o que, conjuntamente com o seu elevado número, justificará a sua introdução numa Análise Factorial. Esta, através do método das componentes principais (quadro 3.3) forneceu-nos quatro factores com raiz própria («eigenvalue») superior a 1 e com uma percentagem de variância explicada de cerca de 83%.

De notar a não exclusividade de algumas localizações tumorais por apenas um dos factores extraídos, «espalhando-se» por dois ou mais factores, e a alta «communality» da maior parte das localizações tumorais nestes quatro factores.

Os pesos factoriais («factor loadings») destes 4 factores tumorais foram então submetidos a uma rotação oblíqua — «direct quartimin» (KIM & MUELLER, 1988; DIXON, 1985) que forneceu os resultados apresentados no quadro 3.4; este foi adaptado para permitir uma visualização mais rápida e fácil, através do desaparecimento dos pesos factoriais  $< 0,250$  e do arranjo da ordem das localizações tumorais, de modo a que, para

FIGURA 3.7  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR T.M. DA LARINGE 8CID-9:100

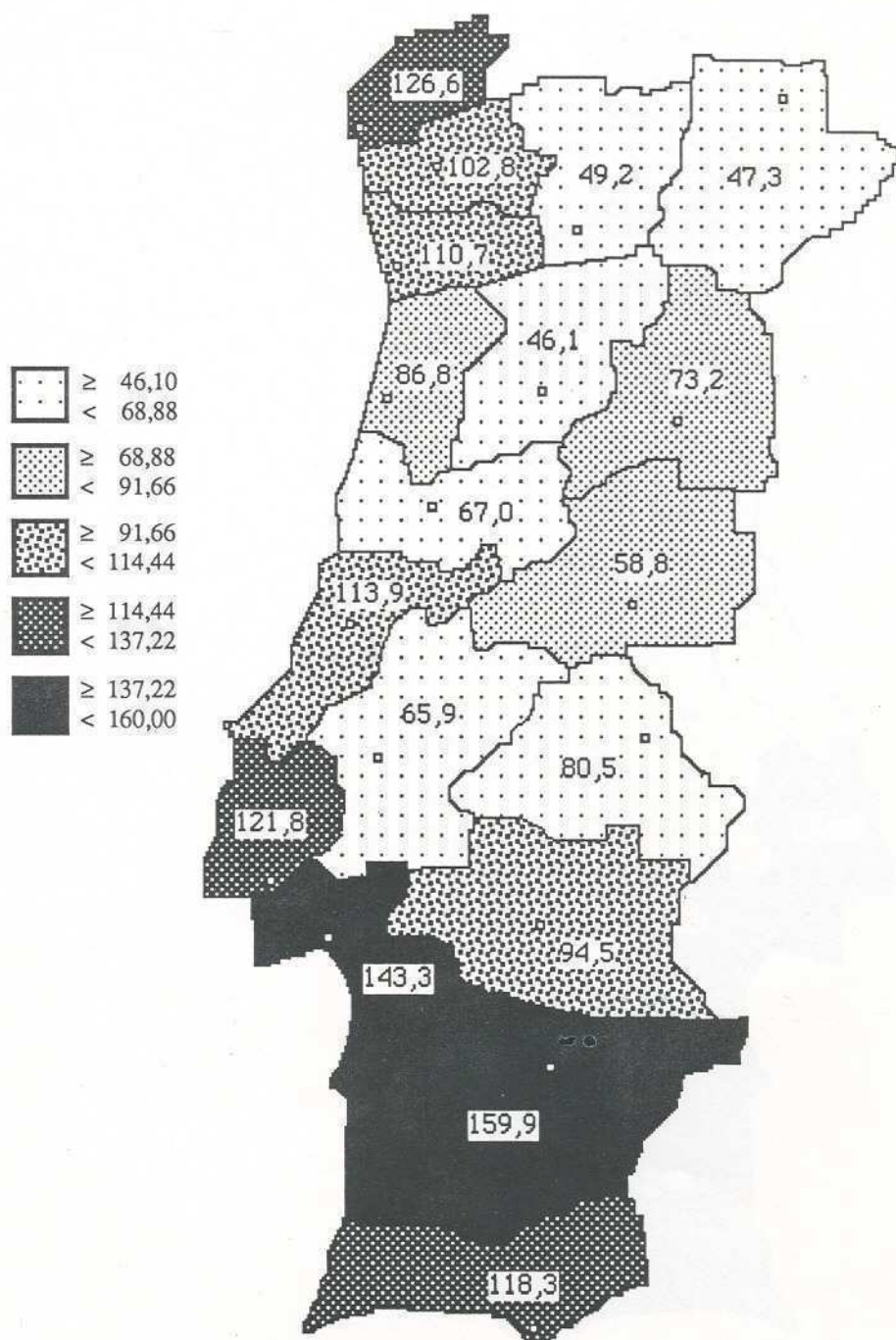


FIGURA 3.8

DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR T.M. DA TRAQUEIA, DOS BRÔNQUIOS E DO PULMÃO (CID-9:101)

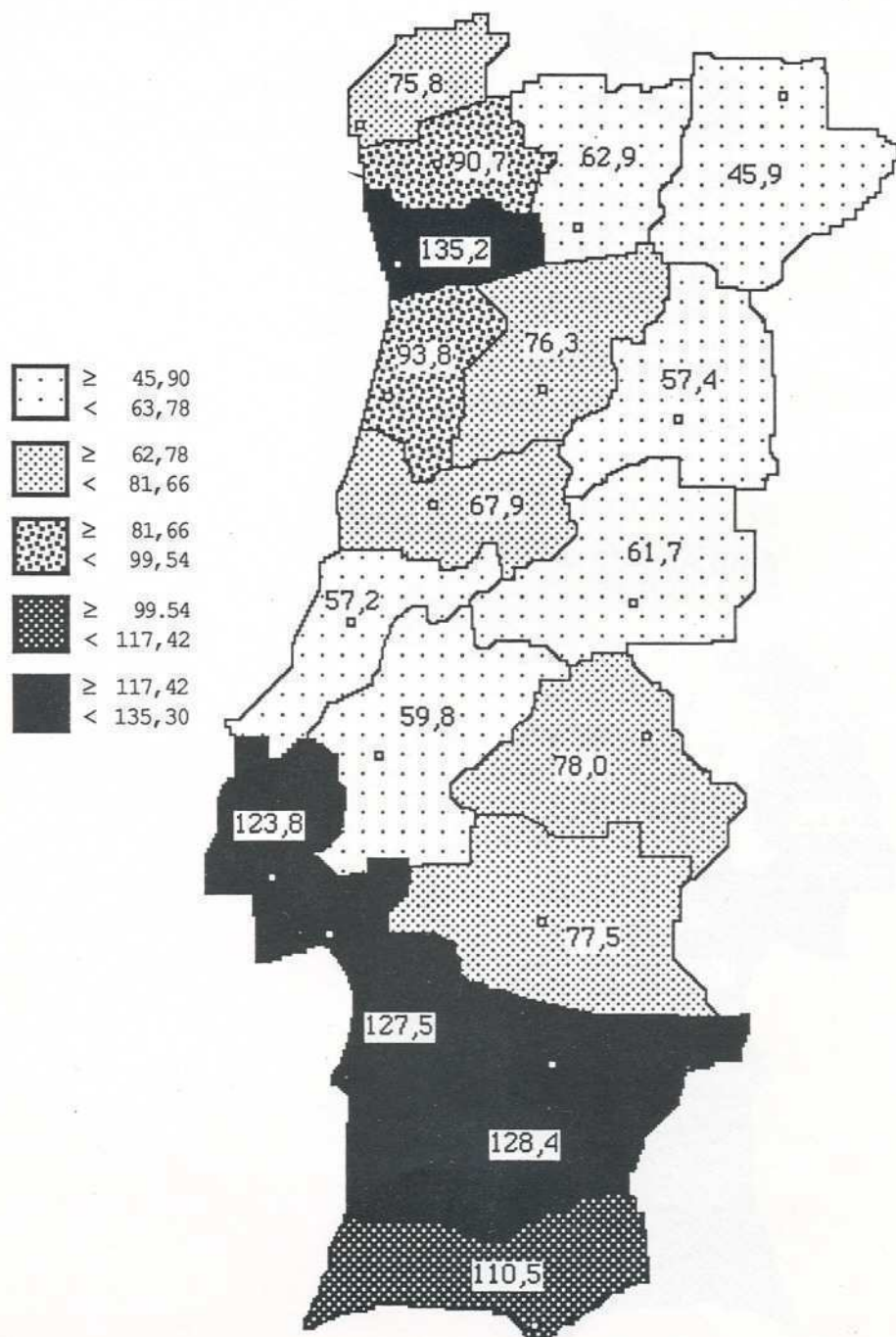


FIGURA 3.9  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR T.M. DA MAMA FEMININA (CID-9:113)

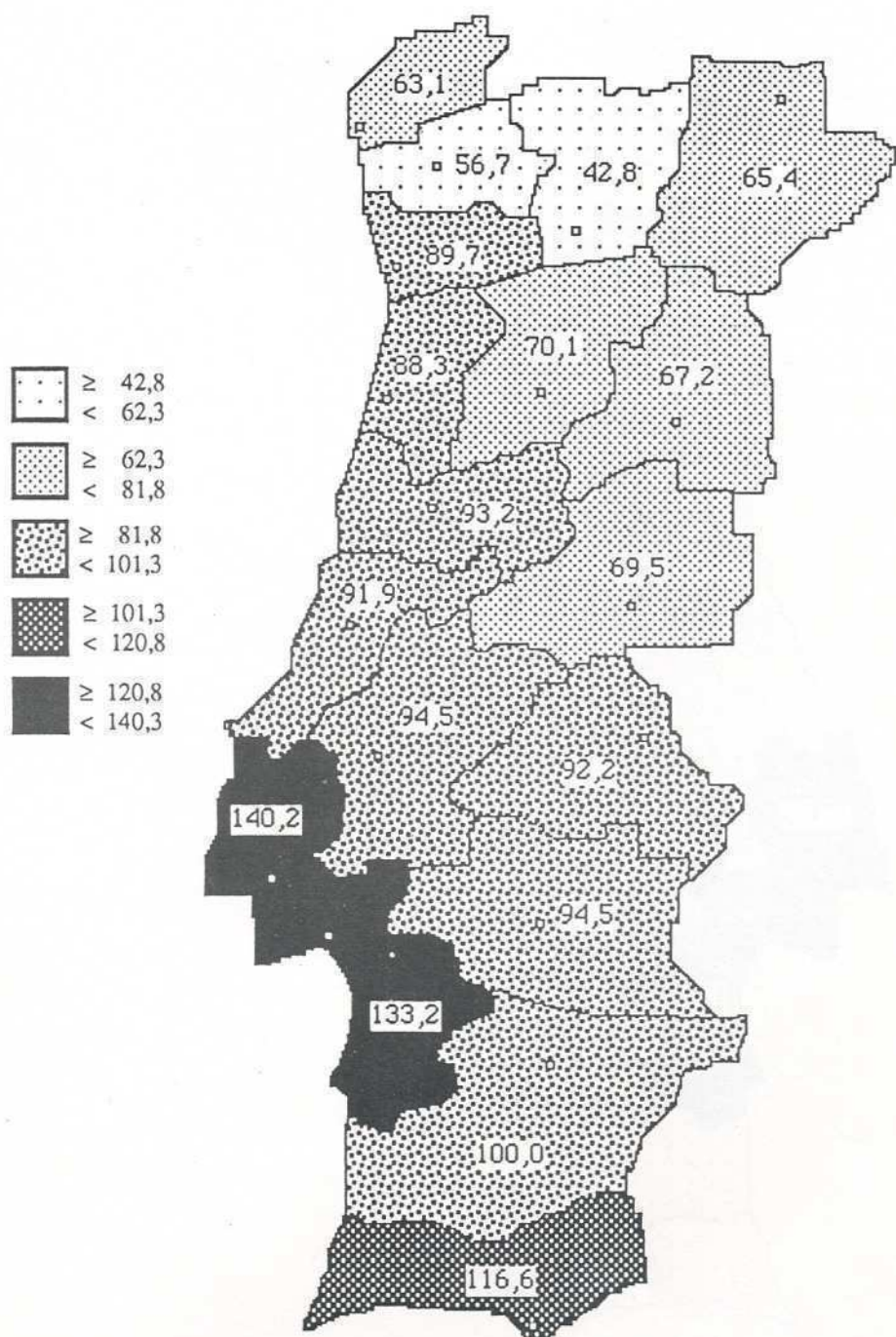


FIGURA 3.10  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR T.M. DO COLO DO ÚTERO (CID-9:120)

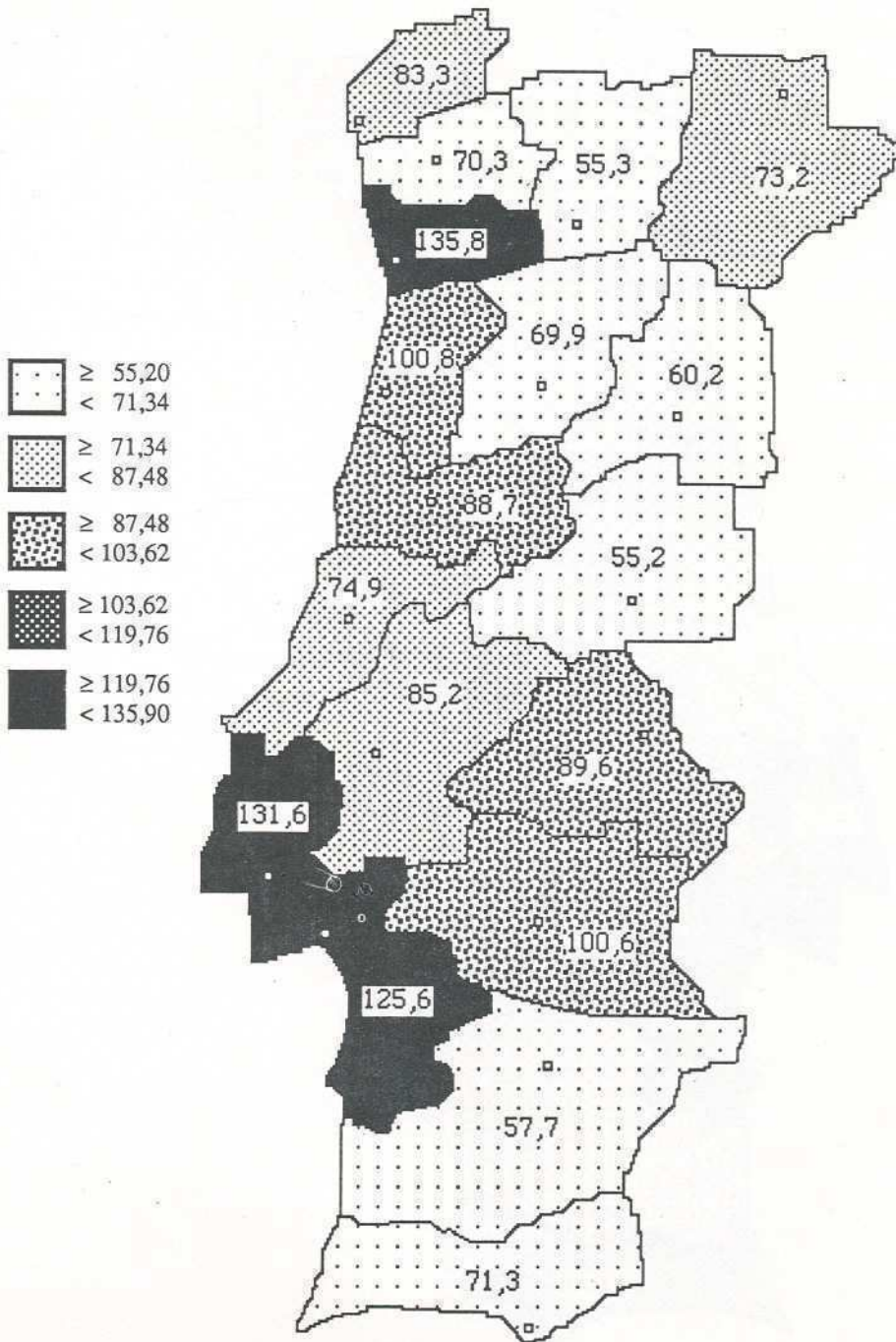


FIGURA 3.11  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR T.M. DA PRÓSTATA (CID-9:124)

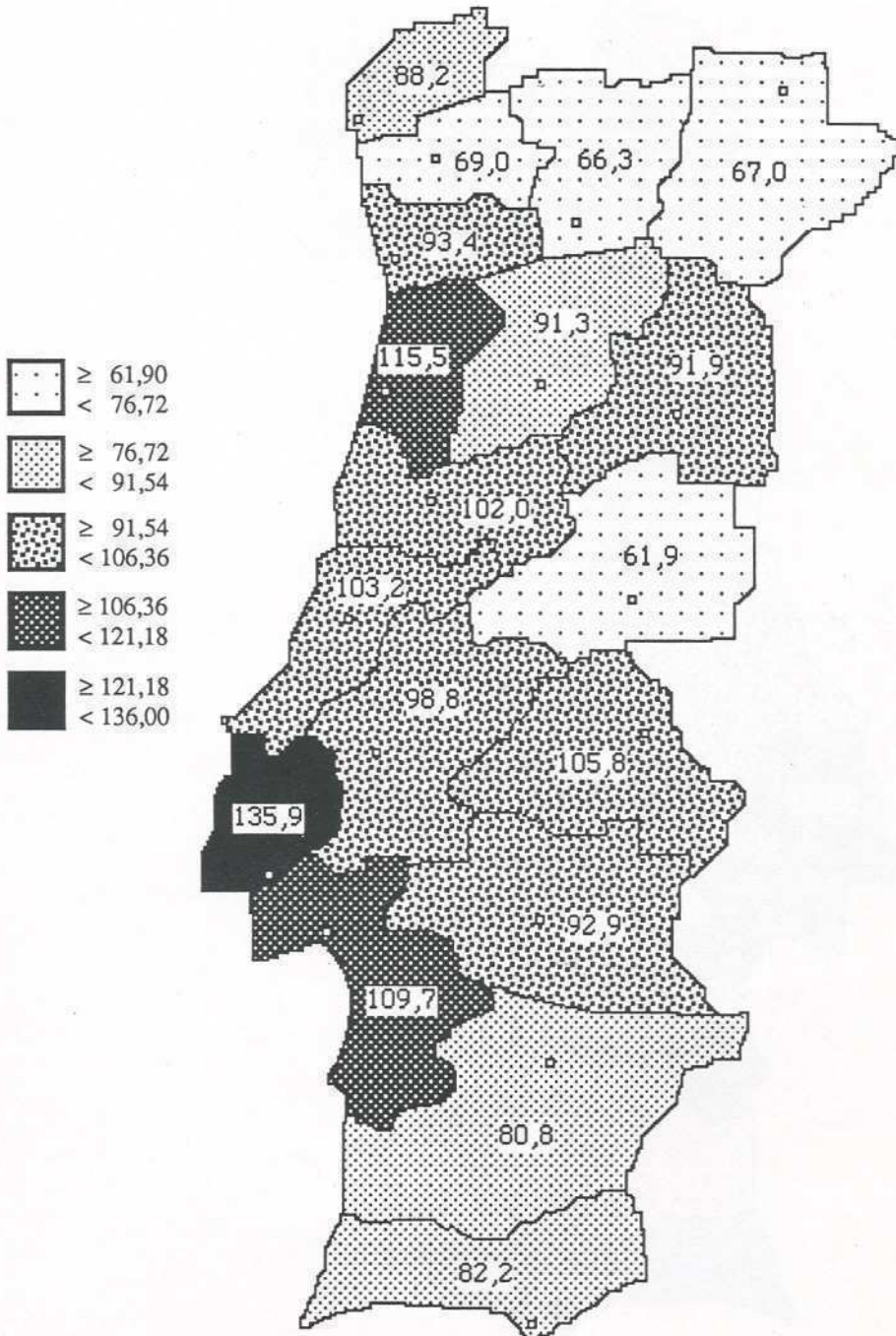


FIGURA 3.12  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR T.M. DA BEXIGA URINÁRIA (CID-9:126)

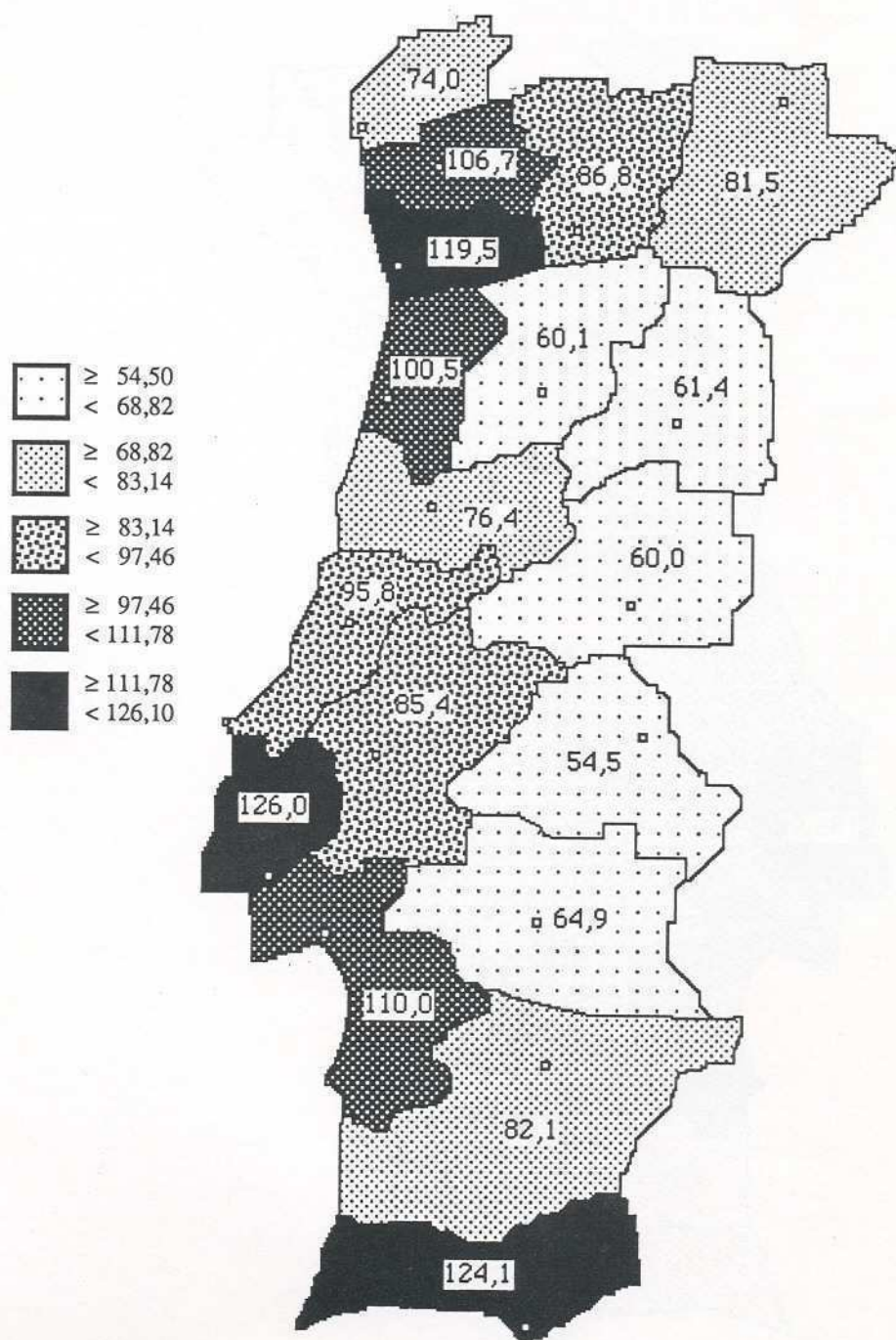


FIGURA 3.13  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR T.M. DO ENCÉFALO (CID-9:130)

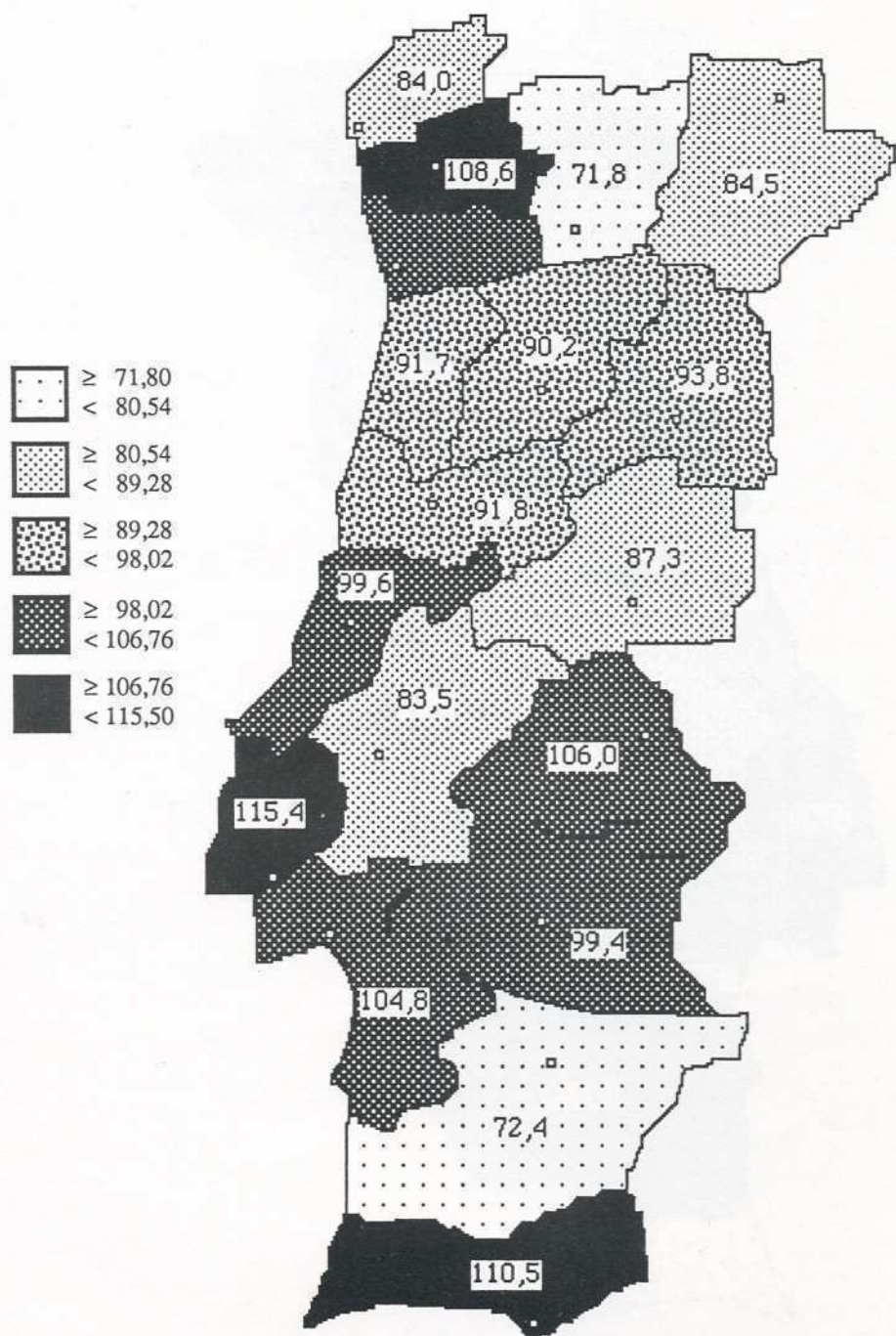
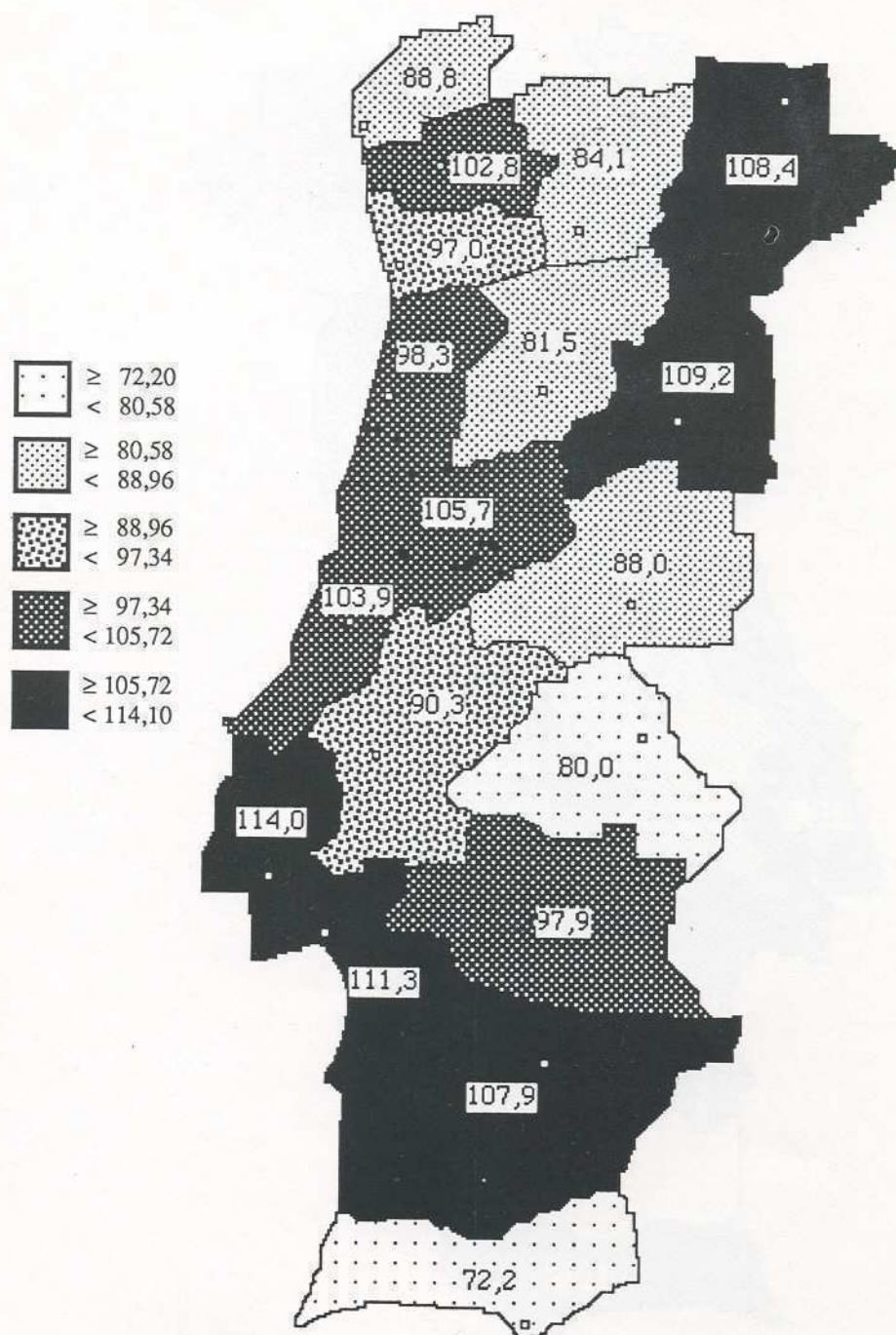


FIGURA 3.14  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DA RPM POR LEUCEMIA (CID-9:141)



## QUADRO 3.2

## MATRIZ DE CORRELAÇÃO ENTRE AS RPM DAS LOCALIZAÇÕES TUMORAIS CONSIDERADAS

Localização tumoral	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Lábios, cavidade bucal e faringe	1	1.000													
Esófago	2	-0.194	1.000												
Estômago	3	-0.272	0.522	1.000											
Cólon	4	0.642	-0.110	-0.086	1.000										
Recto, junção r. e ânus	5	0.367	-0.282	-0.133	0.722	1.000									
Pâncreas	6	0.698	-0.058	-0.201	0.817	0.612	1.000								
Traqueia, brônquios e pulmão	7	0.702	0.109	0.195	0.690	0.256	0.727	1.000							
Laringe	8	0.778	0.150	0.272	0.586	0.263	0.586	0.758	1.000						
Mama	9	0.822	-0.317	-0.396	0.850	0.655	0.846	0.642	0.593	1.000					
Colo útero	10	0.396	0.120	-0.005	0.840	0.663	0.686	0.596	0.375	0.652	1.000				
Próstata	11	0.563	0.011	-0.354	0.693	0.597	0.675	0.367	0.327	0.722	0.723	1.000			
Bexiga	12	0.395	0.219	0.178	0.638	0.407	0.609	0.657	0.518	0.515	0.527	0.300	1.000		
Encéfalo	13	0.311	-0.110	-0.070	0.636	0.565	0.537	0.407	0.310	0.563	0.581	0.496	0.488	1.000	
Leucemia	14	-0.298	-0.015	-0.322	0.290	0.537	0.184	0.171	0.314	0.273	0.323	0.317	0.219	0.086	1.000

pesos factoriais > 0,500, as filas estejam em ordem decrescente de pesos.

Conseguiu-se, assim, uma certa individualização dos factores, sendo estes constituídos por:

— factor 1, pelas RPM dos T.M. do Colo do Útero, do Encéfalo, do Recto, Junção Rectosigmóide e Ânus, da Próstata, do Cólon, do Pâncreas e da Bexiga Urinária;

— factor 2, pelas RPM dos T.M. da Laringe, Lábios, Cavidade Bucal e Faringe, do Pulmão e da Mama;

— factor 3, pelas RPM dos T.M. do Esófago e do Estômago;

— factor 4, pela RPM da Leucemia.

Deverá notar-se a dispersão dos T.M. da Mama e da Bexiga Urinária pelos factores 1, 2 e 3, do Pâncreas e do Cólon pelos factores 1 e 2 e do T.M. do Recto, Junção Rectosigmóide e

Ânus pelos factores 1 e 4. De notar também que os factores são dominados por pesos factoriais do mesmo sinal dentro de cada factor.

A matriz de correlação destes 4 factores permite detectar uma correlação relativamente alta entre o factor 1 e o factor 2 ( $r = 0,489$ ), sendo as restantes correlações praticamente nulas (Quadro 3.5).

Nesta fase do estudo, a redução da informação inicialmente disponível, isto é, de 14 localizações tumorais para 4 factores tumorais, tornava imperioso estudar novamente a distribuição distrital do seu comportamento; os «scores» factoriais foram então distribuídos em 5 classes, o que se pode visualizar nas figuras 3.15 a 3.18.

O factor 1 (Figura 3.15) possui duas «manchas» principais, uma constituída pelo distrito de Lisboa e espalhando-se um pouco para os distritos limítrofes, e outra no distrito de Lisboa e espalhando-se um pouco para os distritos

QUADRO 3.3  
FACTORES EXTRAÍDOS A PARTIR DAS CATORZE RPM ATRAVÉS DO MÉTODO DAS COMPONENTES PRINCIPAIS

Localização tumoral	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	h <sup>2</sup>
Lábios, Cavidade bucal e Faringe	0,780	—0,080	—0,459	—0,333	0,935
Esófago	—0,083	0,756	0,082	—0,365	0,718
Estômago	—0,118	0,892	0,248	0,147	0,892
Cólon	0,938	0,024	0,078	—0,95	0,895
Recto, Junção R. e Ânus	0,725	—0,243	0,527	0,137	0,881
Pâncreas	0,899	—0,053	—0,137	—0,118	0,843
Traqueia, Brônquios e Pulmão	0,771	0,380	—0,366	—0,026	0,873
Laringe	0,693	0,432	—0,380	0,281	0,889
Mama	0,919	—0,284	—0,156	0,077	0,956
Colo Útero	0,814	0,067	0,328	—0,255	0,839
Próstata	0,758	—0,256	0,193	—0,106	0,688
Bexiga	0,680	0,387	—0,012	—0,225	0,662
Encéfalo	0,663	—0,093	0,218	—0,369	0,631
Leucemia	0,386	0,218	0,521	0,684	0,934
Raiz própria	7,049	2,123	1,347	1,123	
Variância explicada	50,35 %	15,16 %	9,63 %	8,02 %	

h<sup>2</sup>: «communality»

## QUADRO 3.4

## FACTORES RODADOS POR ROTAÇÃO OBLÍQUA («DIRECT QUARTIMIN»)

Localização tumoral	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
Colo Útero	0,896			
Encéfalo	0,883			
Recto, Junção R. e Ânus	0,778			0,458
Próstata	0,736			
Cólon	0,918	0,340		
Pâncreas	0,569	0,494		
Laringe		0,937		
Lábios, Cavidade bucal e Faringe		0,914	-0,345	
Traqueia, Brônquios e Pulmão		0,812		
Mama	0,496	0,535	-0,385	
Esófago			0,841	
Estômago			0,840	0,379
Leucemia				0,926
Bexiga	0,494	0,366	0,383	
Raiz própria	4,059	3,193	2,029	1,306

limitrófes, e outra no distrito do Porto, estendendo-se para o distrito de Aveiro.

O factor 2 (Figura 3.16) tem um valor alto sobretudo nos distritos de Beja, Setúbal, Lisboa e Faro, distritos do Sul do País, tendo o resto do País (sobretudo o Interior Centro e Norte) uma mortalidade baixa por este factor, com excepção do distrito do Porto.

O factor 3 (Figura 3.17) está bem individualizado nos distritos contíguos de Viana do Castelo, Braga e Porto, assemelhando-se o País

a uma «mancha de petróleo» que daí se estende para o Sul e o Interior. De notar o valor do distrito de Setúbal, algo «aberrante» nesta distribuição.

Finalmente, o factor 4 (Figura 3.18) continua, tal como a localização tumoral que o domina (Leucemia), a evidenciar uma distribuição algo heterogénea, sem um padrão de continuidade ou atracção geográfica definido.

Para melhor se estudar o comportamento conjunto dos distritos para estes factores, e uma vez que, por um lado, não existem gráficos

## QUADRO 3.5

## MATRIZ DE CORRELAÇÃO ENTRE OS QUATRO FACTORES

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
Factor 1	1,000			
Factor 2	0,489	1,000		
Factor 3	-0,099	0,031	1,000	
Factor 4	0,135	0,123	-0,009	1,000

FIGURA 3.15  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DO FACTOR 1

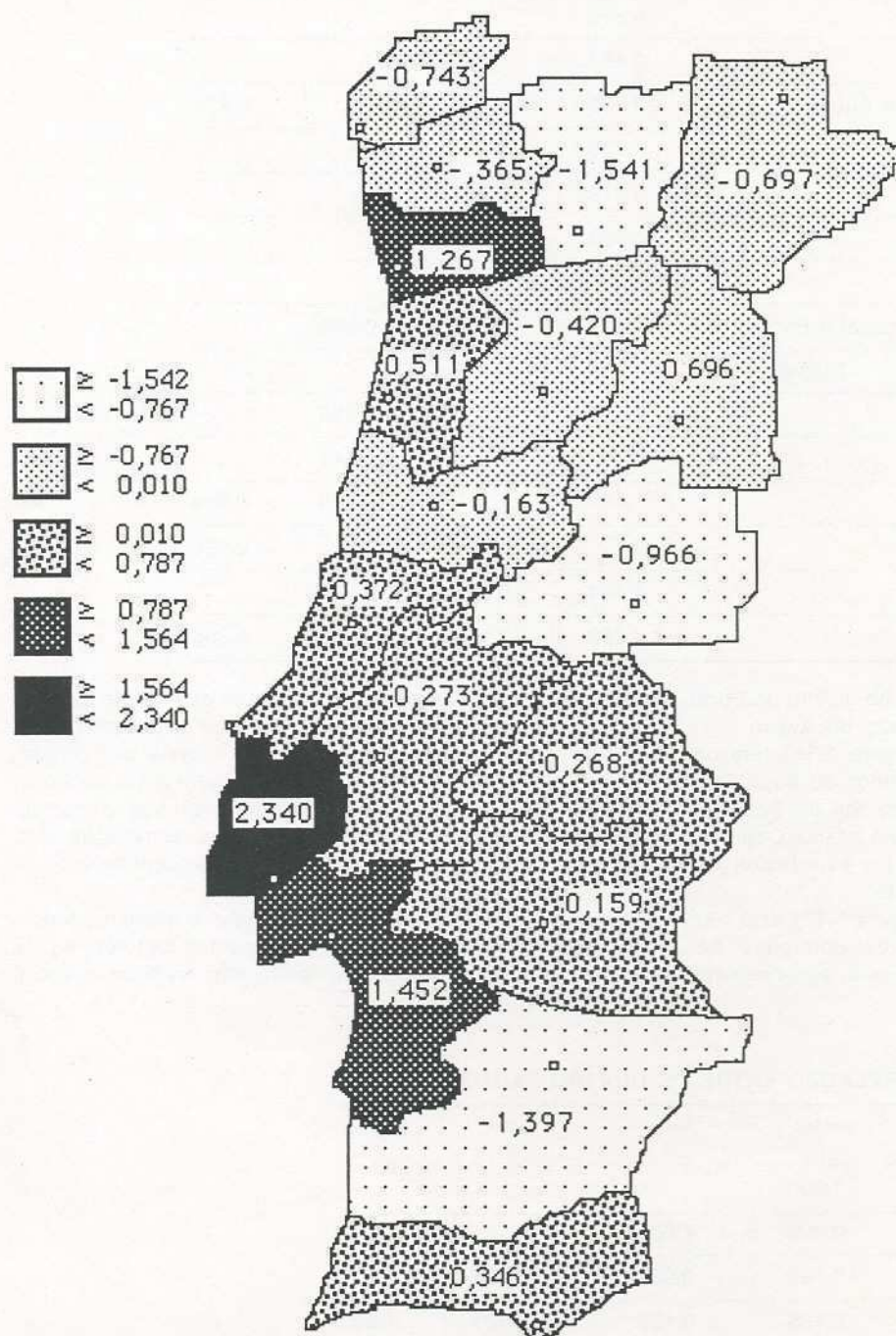


FIGURA 3.16  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DO FACTOR 2

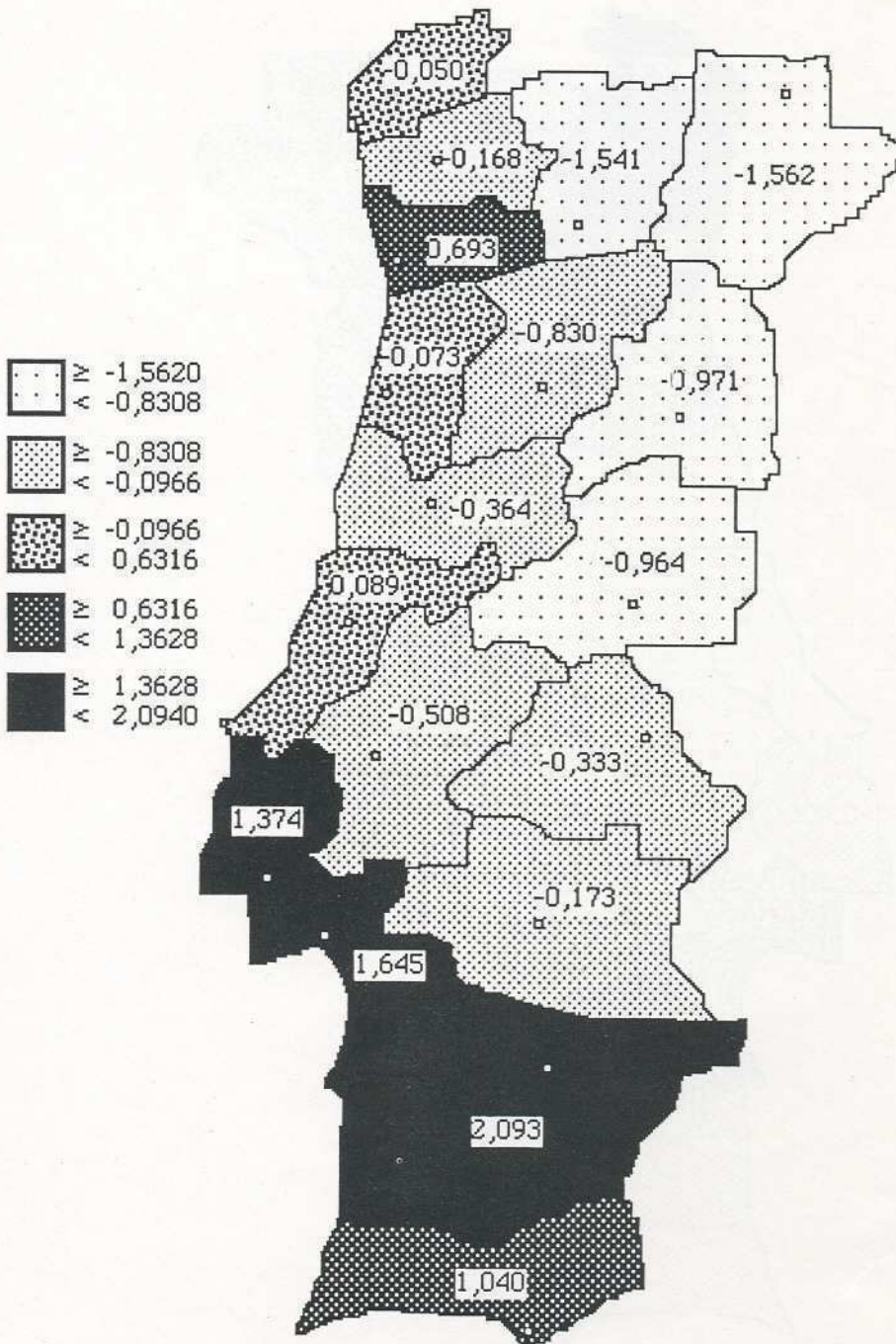


FIGURA 3.16  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DO FACTOR 3

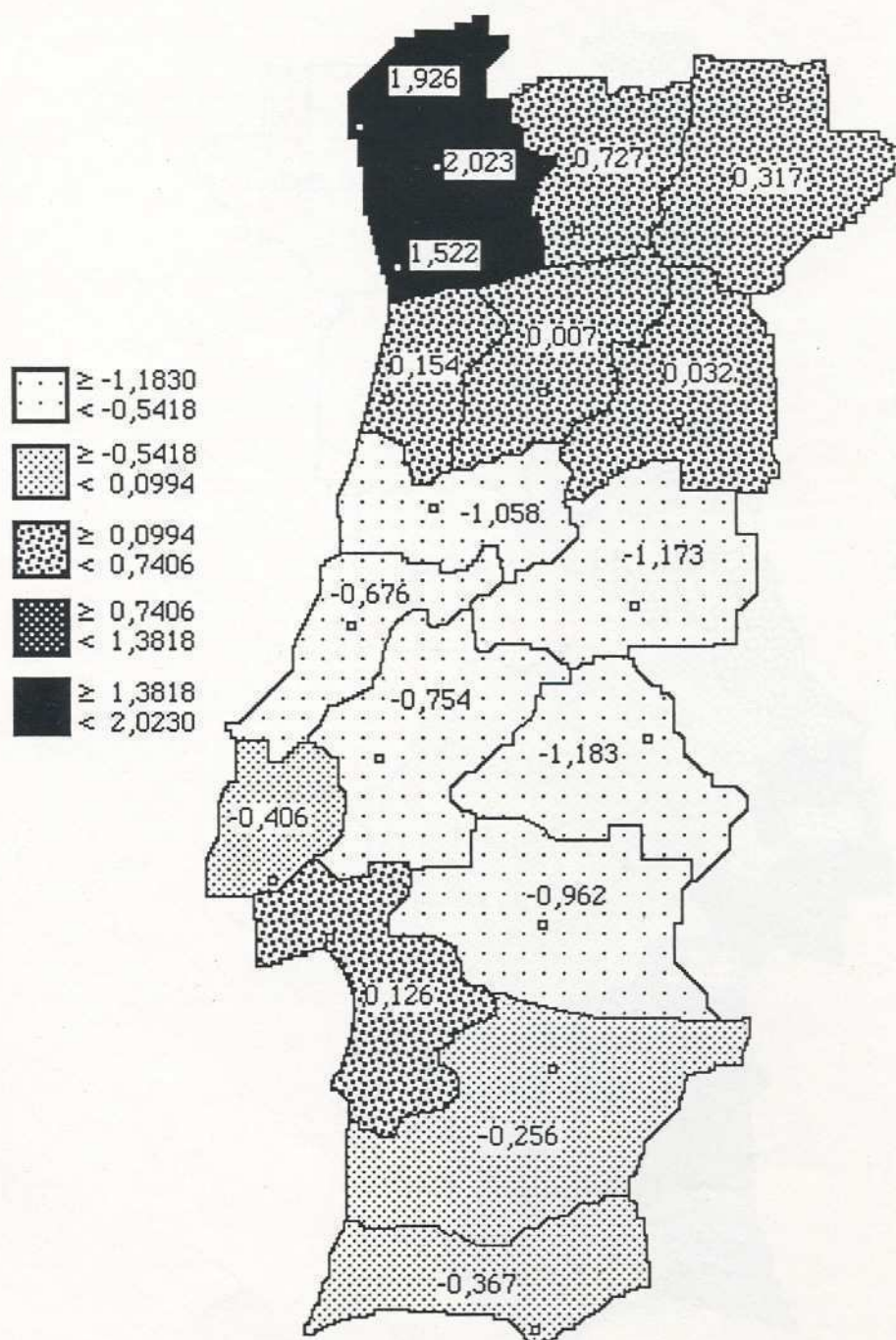
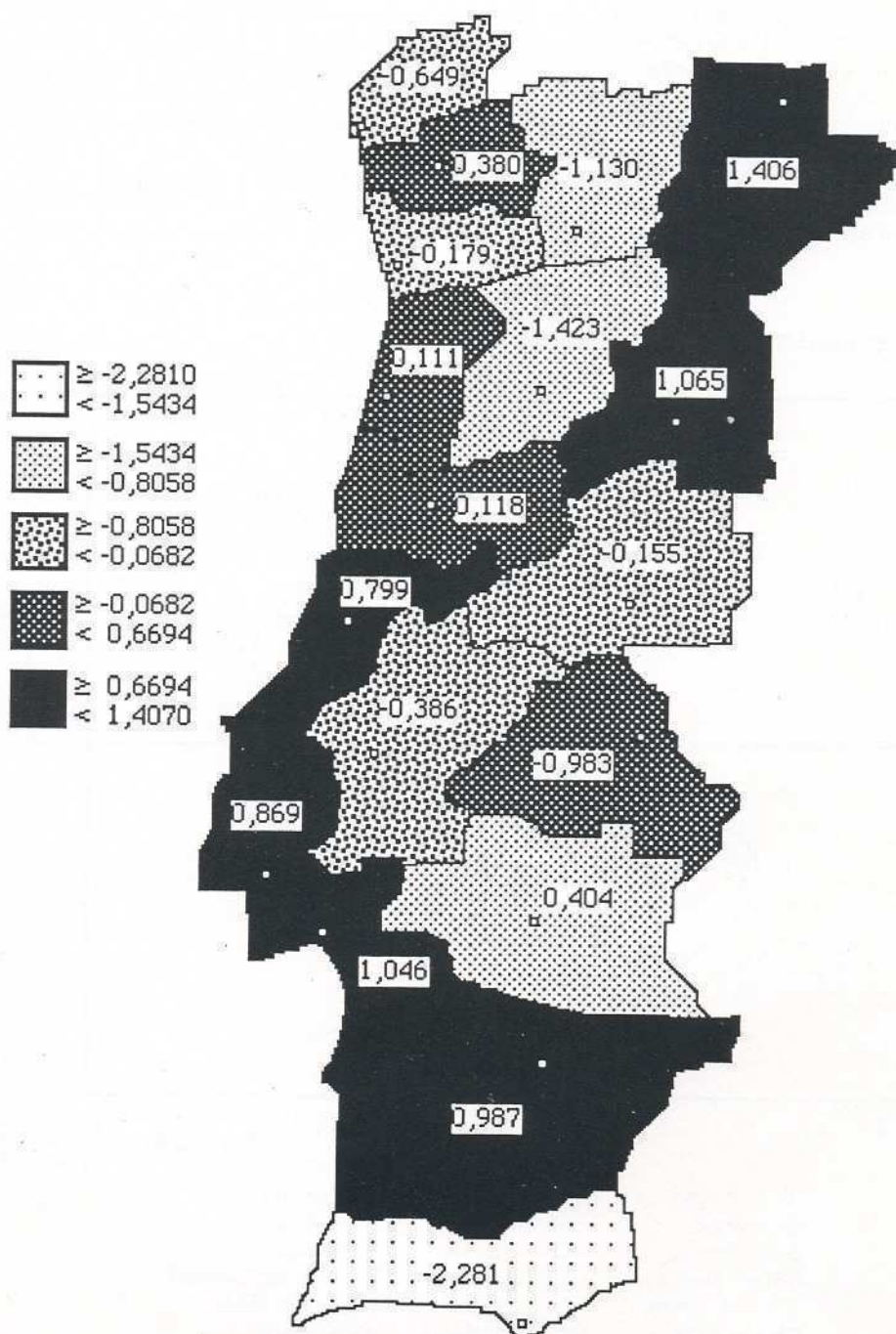


FIGURA 3.18  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL POR CLASSES DO FACTOR 4



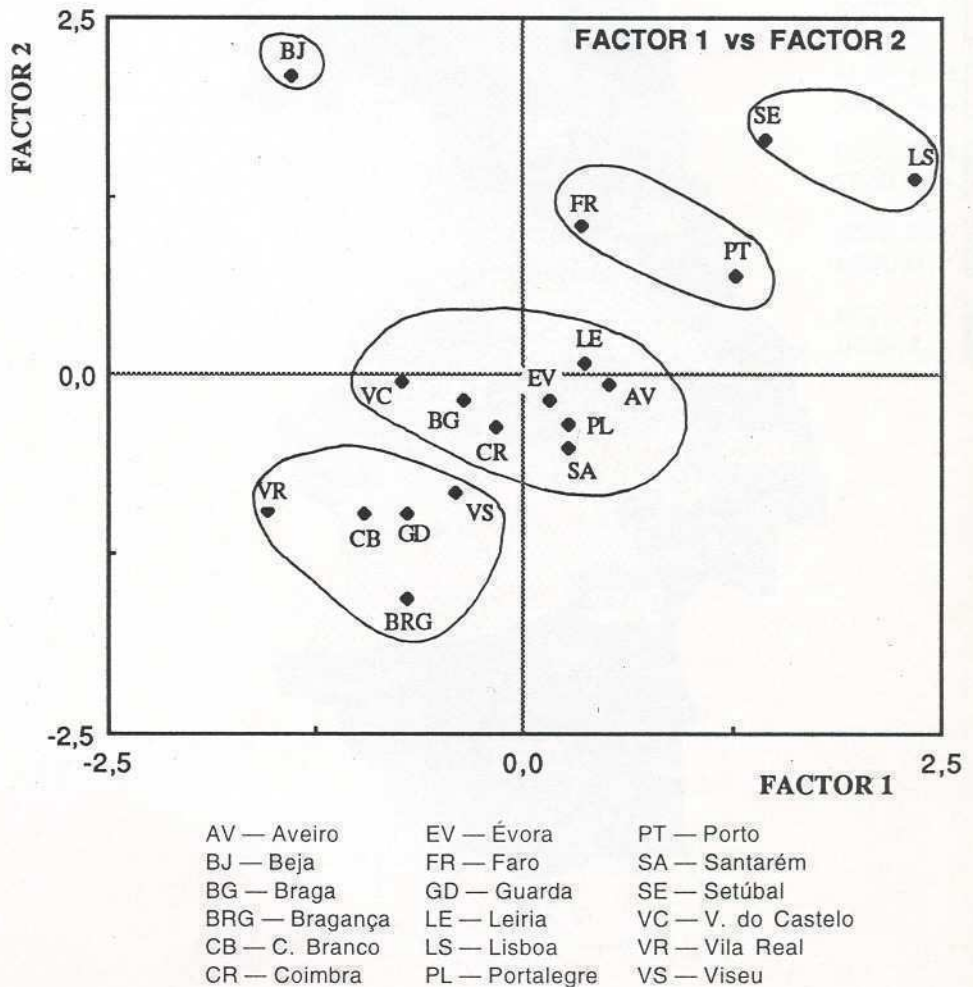
quadridimensionais e, por outro, os gráficos tridimensionais não permitem uma visualização rápida e fácil, utilizaram-se diagramas de dispersão entre os 4 factores (Figuras 3.19 a 3.24).

Utilizou-se, também, uma Análise Classificatória («Análise de Custers») para estudar o agrupamento dos distritos para a semelhança de comportamento para os factores. A escolha recaiu sobre o método de «average-linkage» com «distância Euclidiana», que a experiência parece mostrar ser o mais adequado para este caso (DILLON, 1984, citado por GROVES et al., 1987). Trata-se de um método hierárquico que, através dos «scores» factoriais padronizados da Análise

Factorial já aplicada à RPM das localizações tumorais, calcula a média aritmética das «similarities» entre os casos (ALDENDERFER & BLASHFIELD, 1984), fornecendo-nos grupos com comportamento semelhante de mortalidade dos factores introduzidos na análise, sugerindo possíveis características etiológicas comuns (os resultados que permitiram a individualização gráfica dos grupos de distritos apresentada nos diagramas de dispersão seguintes encontram-se nos Anexos).

A alta correlação entre os factores 1 e 2 (Quadro 3.5) é mais facilmente visualizada através da figura 3.19, o qual imediatamente eviden-

FIGURA 3.19  
DIAGRAMA DE DISPERSÃO ENTRE OS FACTORES 1 E 2



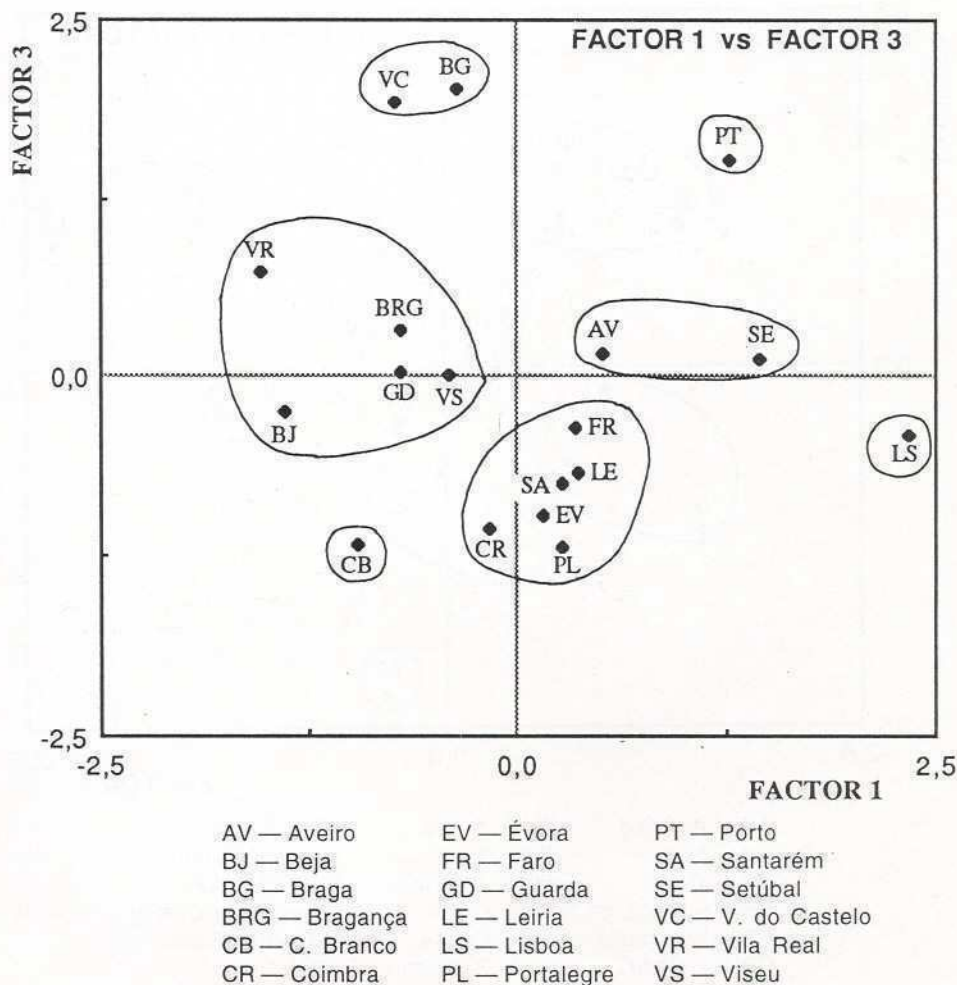
cia um distrito «aberrante», o de Beja, com um baixo valor de factor 1 e alto valor de factor 2, de certo modo «estragando» a linearidade da correlação positiva entre estes dois factores. Nota-se o destacar dos distritos de Lisboa, Setúbal, Porto e Faro, com valor alto nos dois factores, e dos distritos de Vila Real, Castelo Branco, Guarda, Viseu e Bragança, com baixo valor nos dois factores.

O diagrama de dispersão entre os factores 1 e 3 (Figura 3.17) mostra vários grupos de distritos com características diferentes; o «mau» resultado global do distrito de Porto é contrabalançado pelo distrito de Castelo Branco, ha-

viendo outras individualizações como o distrito de Lisboa, os distritos de Aveiro e Setúbal, Viana do Castelo e Braga; os outros distritos repartem-se entre o grupo Faro, Leiria, Santarém, Évora, portalegre e Coimbra (com baixo valor no factor 3) e o grupo Vila Real, Bragança, Guarda, Viseu e Beja (Com baixo valor no factor 1).

A relação entre os factores 1 e 4 (Figura 3.21) mostra o grupo dos distritos de Lisboa e de Setúbal, e o grupo dos distritos de Vila Real, de Viana do Castelo e de Castelo Branco, em oposição de comportamento. Existem outras associações de distritos, como o dos distritos de Portalegre, de Viseu e de Faro, e dos distritos

FIGURA 3.20  
DIAGRAMA DE DISPERSÃO ENTRE OS FACTORES 1 E 3

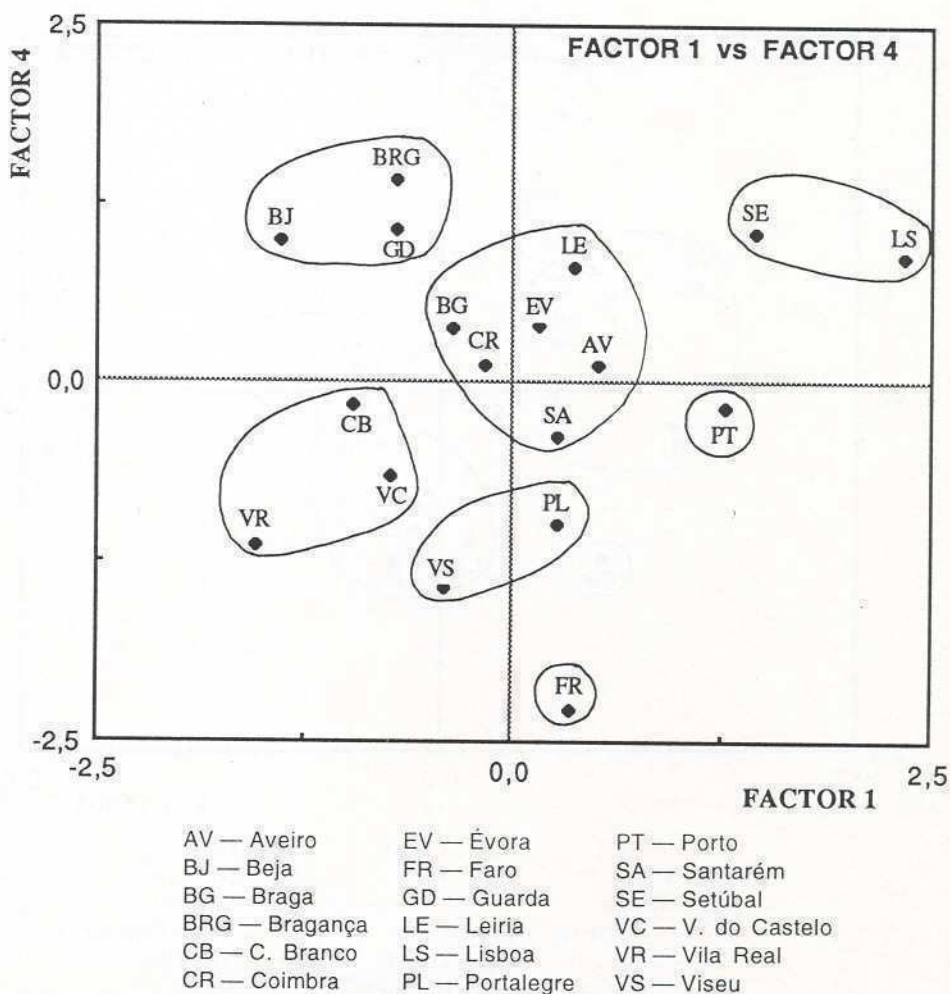


de Leiria, de Évora, de Aveiro, de Braga, de Coimbra e de Santarém, havendo um certo isolamento dos distritos do Porto e de Faro.

A relação entre os factores 2 e 3 (Figura 3.22) mostra uma certa individualização de grupos de distritos, como sejam os de Braga, de Viana do Castelo e do Porto com alto factor 3, em contraposição com os distritos de Santarém, de Leiria, de Évora, de Coimbra, de Portalegre e de Castelo Branco, os distritos de Beja, de Setúbal, de Lisboa e de Faro com alto factor 2, em contraposição com os distritos do Interior Norte. Note-se a posição média para os dois factores do distrito de Aveiro.

O diagrama de dispersão entre factores 2 e 4 (Figura 3.23) demonstra facilmente o «bom» resultado do distrito de Faro para o factor 4, o que, apesar de um comportamento «médio» para o factor 2, o faz considerá-lo «aberrante» no comportamento para o conjunto destes dois factores. Detecta-se, igualmente, a individualização dos distritos de Lisboa, Setúbal e Beja («mau» valor para os dois factores) dos distritos de Bragança e da Guarda (alto valor para o factor 4 e baixo factor para o factor 2), dos distritos de Castelo Branco, de Santarém, de Viana do Castelo, de Vila Real, de Portalegre e de Viseu («bom» valor para os dois factores) e dos res-

FIGURA 3.21  
DIAGRAMA DE DISPERSÃO ENTRE OS FACTORES 1 E 4



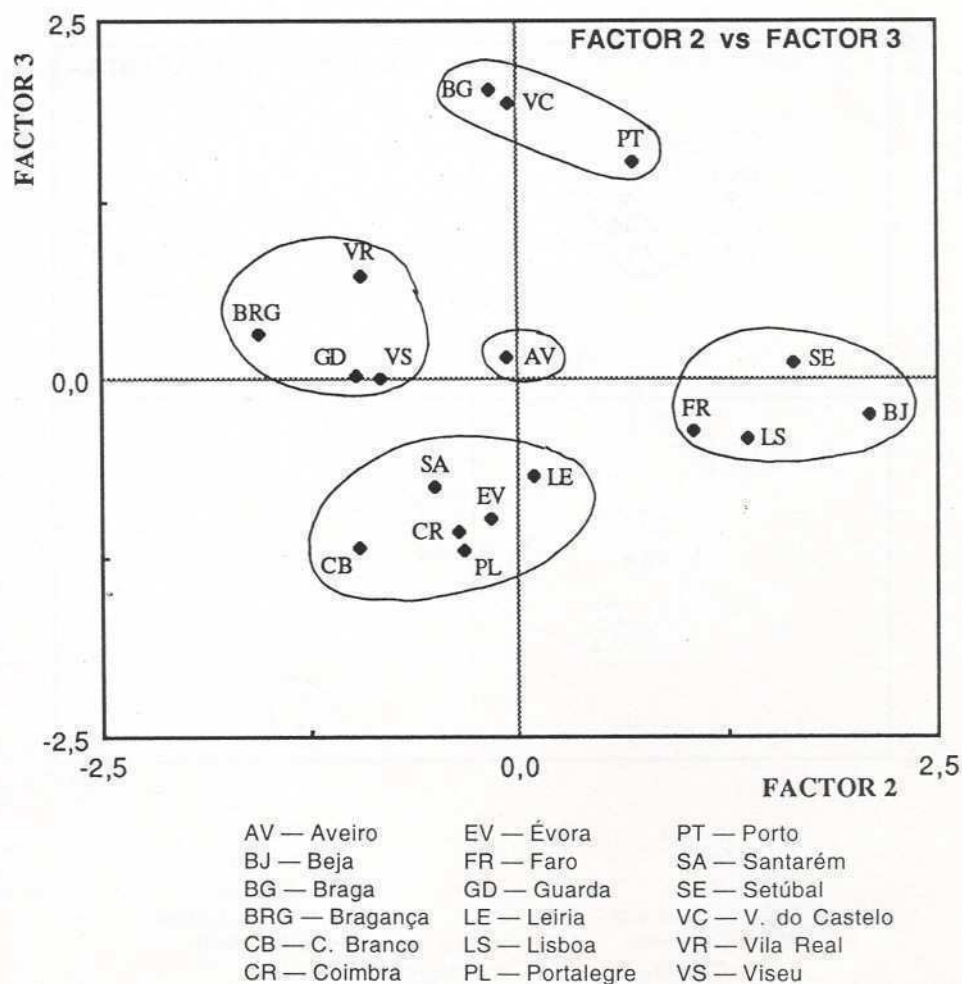
tantes distritos com resultado «médio» para estes factores.

Finalmente, o diagrama de dispersão e a Análise Classificatória para os factores 3 e 4 (Figura 3.24) detectam o isolamento do distrito de Aveiro com um valor médio para os dois factores, e mais quatro grupos de distritos: um grupo constituído pelos distritos de Braga, do Porto e de Viana do Castelo com um valor alto para o factor 3, em oposição aos distritos de Évora, de Coimbra, de Castelo Branco, de Santarém e de Portalegre, e o grupo constituído

pelos distritos de Vila Real, Viseu e Faro com baixo valor para o factor 4 em oposição com os distritos de Bragança, de Setúbal, da Guarda, de Beja, de Lisboa e de Leiria.

A identificação de um padrão de mortalidade geográfica por tumores malignos, com um reduzido número de variáveis, vai permitir a sua introdução em análises de correlação com variáveis «preditoras» ou «explicadoras» ambientais, suspeitas, directa ou indirectamente, como sendo ou englobando eventuais factores de risco oncológicos.

FIGURA 3.22  
DIAGRAMA DE DISPERSÃO ENTRE OS FACTORES 2 E 3



Foram, assim, retiradas de várias fontes as seguintes variáveis:

**ÍNDICE DE CONSUMO** — Trata-se de um índice construído pela «Selgec» que pretende quantificar o rendimento económico e o poder de compra das populações distritais, de modo a classificá-las segundo o seu padrão de comportamento em relação ao consumo (em geral) (MOTTA, 1985).

Deste modo, através de um «Índice de Poder de Compra Regional» contemplado, por agregado populacional, o consumo de energia, o imposto de selo, o imposto complementar, o imposto de

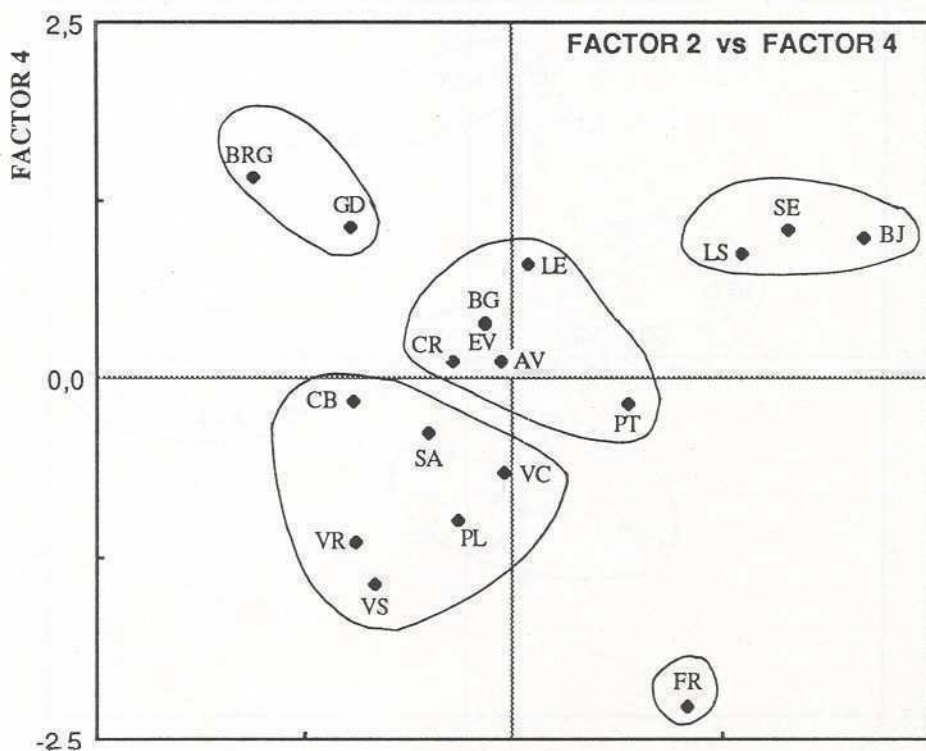
sisia, o número de telefones, o número de veículos e o valor de venda a retalho, é possível calcular o referido «Índice de Consumo» por distrito, em que a média nacional possui o valor 1.

Da sua análise (Figura 3.25) resulta imediatamente o enorme valor dos distritos de Lisboa e Porto e uma clara dicotomia Interior/Litoral.

Será doravante referido como «I. Consumo».

**ÍNDICE DE INDUSTRIALIZAÇÃO** — trata-se de um índice utilizado por Borrega (BORREGA et al., 1979) e Salvador M. Cardoso (CARDOSO, 1983; CARDOSO, 1985), quantificando (numa escala de 0 a 20) o nível de desenvolvimento industrial de cada distrito. É construído com base

FIGURA 3.23  
DIAGRAMA DE DISPERSÃO ENTRE OS FACTORES 2 E 4



- |                |                 |                    |
|----------------|-----------------|--------------------|
| AV — Aveiro    | EV — Évora      | PT — Porto         |
| BJ — Beja      | FR — Faro       | SA — Santarém      |
| BG — Braga     | GD — Guarda     | SE — Setúbal       |
| BRG — Bragança | LE — Leiria     | VC — V. do Castelo |
| CB — C. Branco | LS — Lisboa     | VR — Vila Real     |
| CR — Coimbra   | PL — Portalegre | VS — Viseu         |

na percentagem da população industrial 20-59 anos em função da população activa, no valor bruto da produção, no valor acrescentado bruto e número de estabelecimentos industriais, parâmetros com uma ponderação igual, referidos ao «Distrito».

A sua distribuição distrital (Figura 3.26) mostra valores superiores nos distritos de Lisboa e Porto, seguidos pelos distritos de Aveiro, Braga e Setúbal. Nota-se, igualmente, uma clara dicotomia Interior/Litoral.

Será doravante referido como «I. Ind».

**DESPEAS FAMILIARES COM O TABACO**  
 — A inexistência de dados sobre o consumo de tabaco a nível distrital levou-nos a utilizar os resultados do «Inquérito às receitas e despesas familiares, 1980-1981» realizado pelo INE (INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA, 1985) através da extrapolação para os 18 distritos dos resultados das regiões (7) adoptadas pelo referido organismo.

FIGURA 3.24  
 DIAGRAMA DE DISPERSÃO ENTRE OS FACTORES 3 E 4

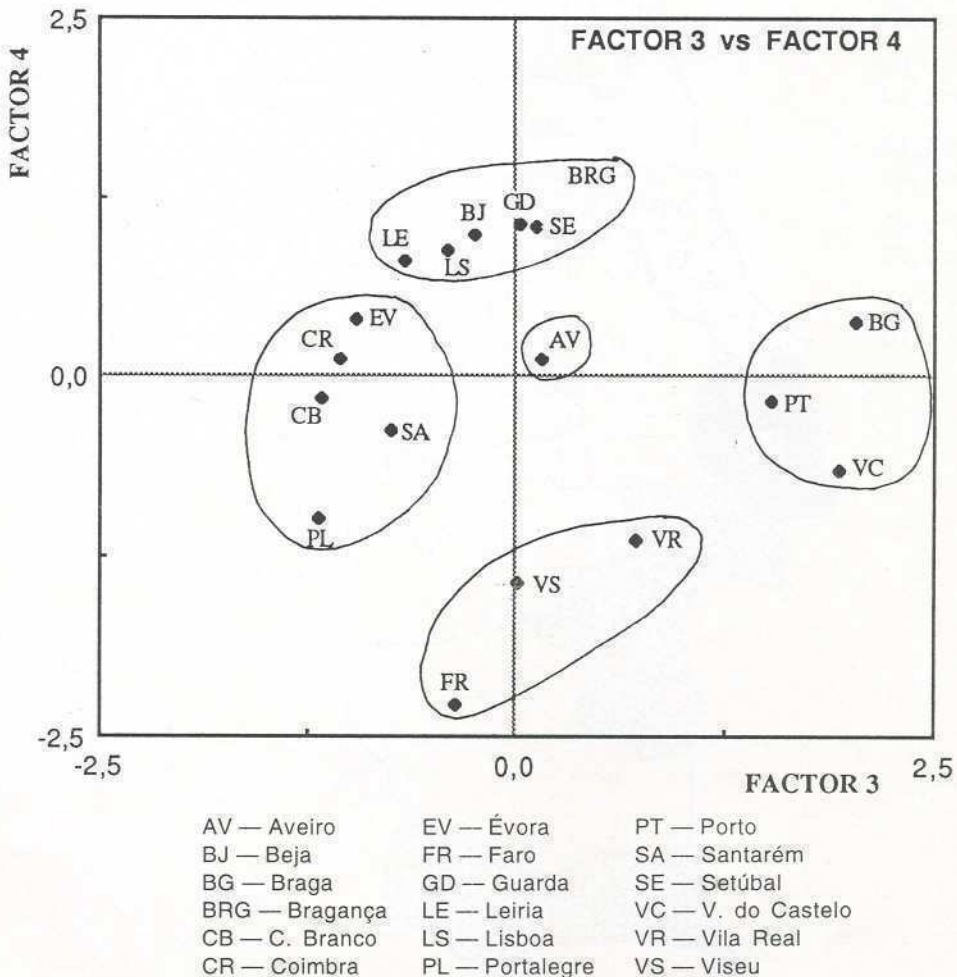


FIGURA 3.25  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL EM CLASSES DO «ÍNDICE DE CONSUMO» (I. CONSUMO)

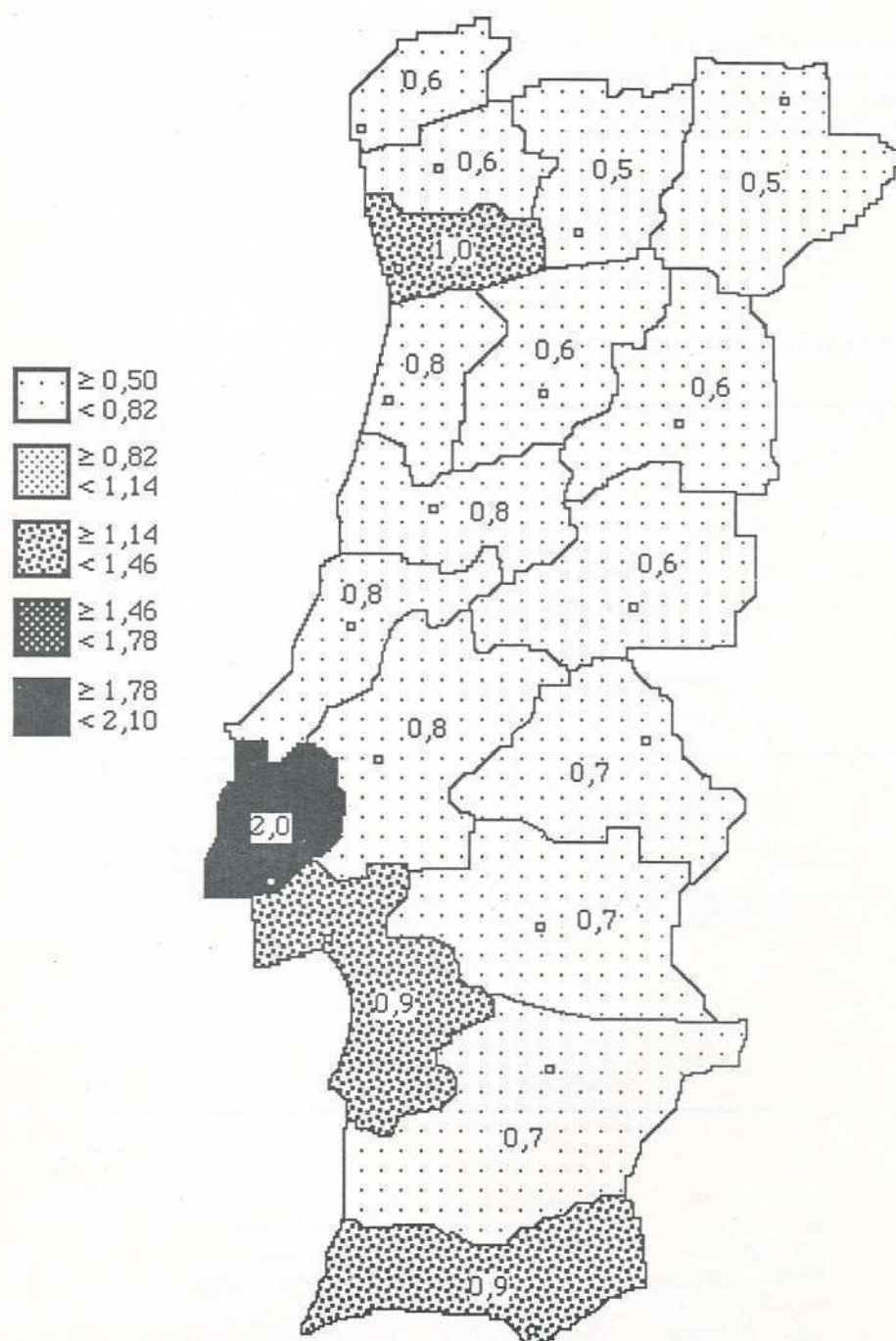
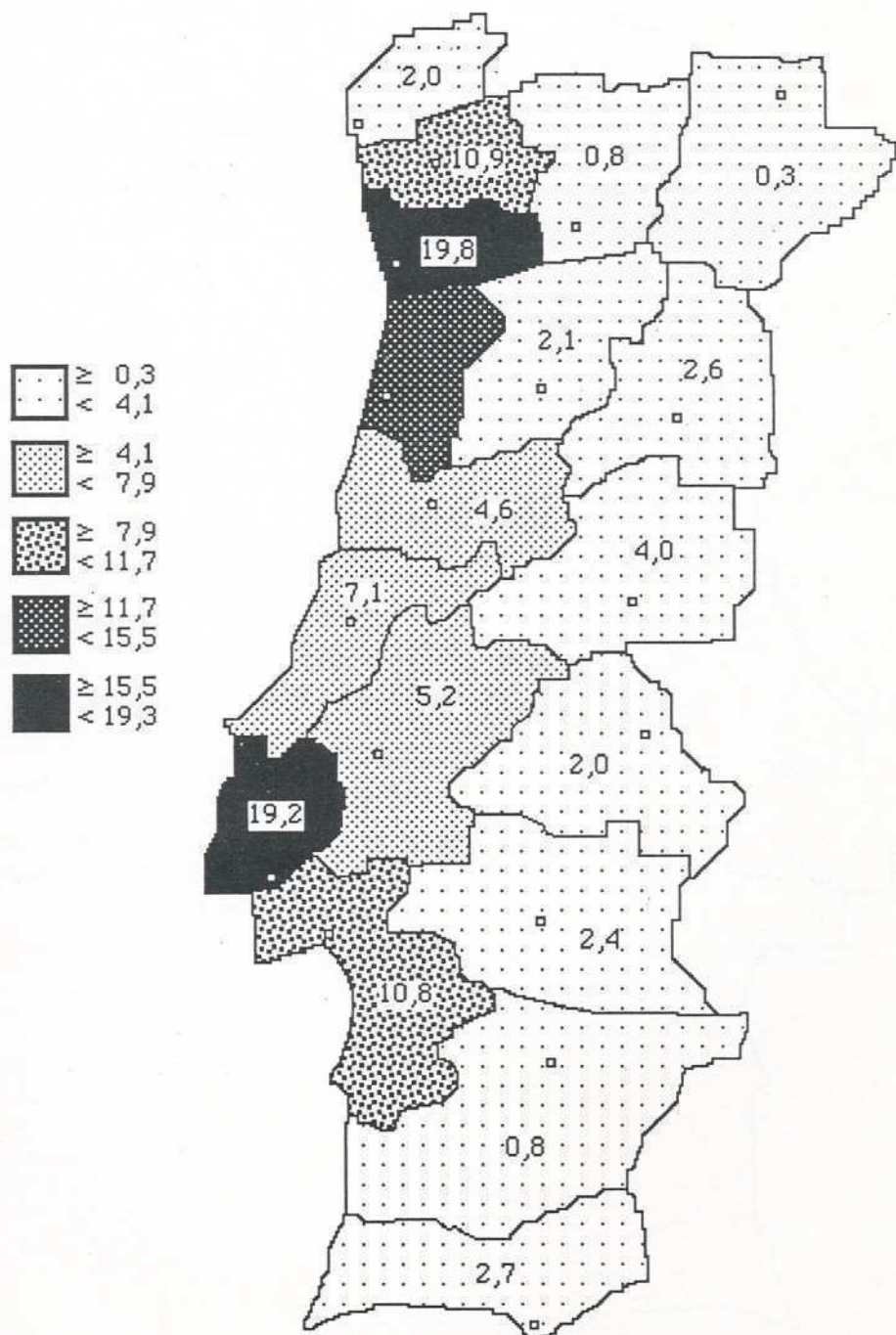


FIGURA 3.326  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL EM CLASSES DO «ÍNDICE DE INDUSTRIALIZAÇÃO» (I. IND.)



Nota: Aveiro - 13,3

FIGURA 3.27  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL EM CLASSES DAS «DESPESAS FAMILIARES COM O TABACO» (DFT)

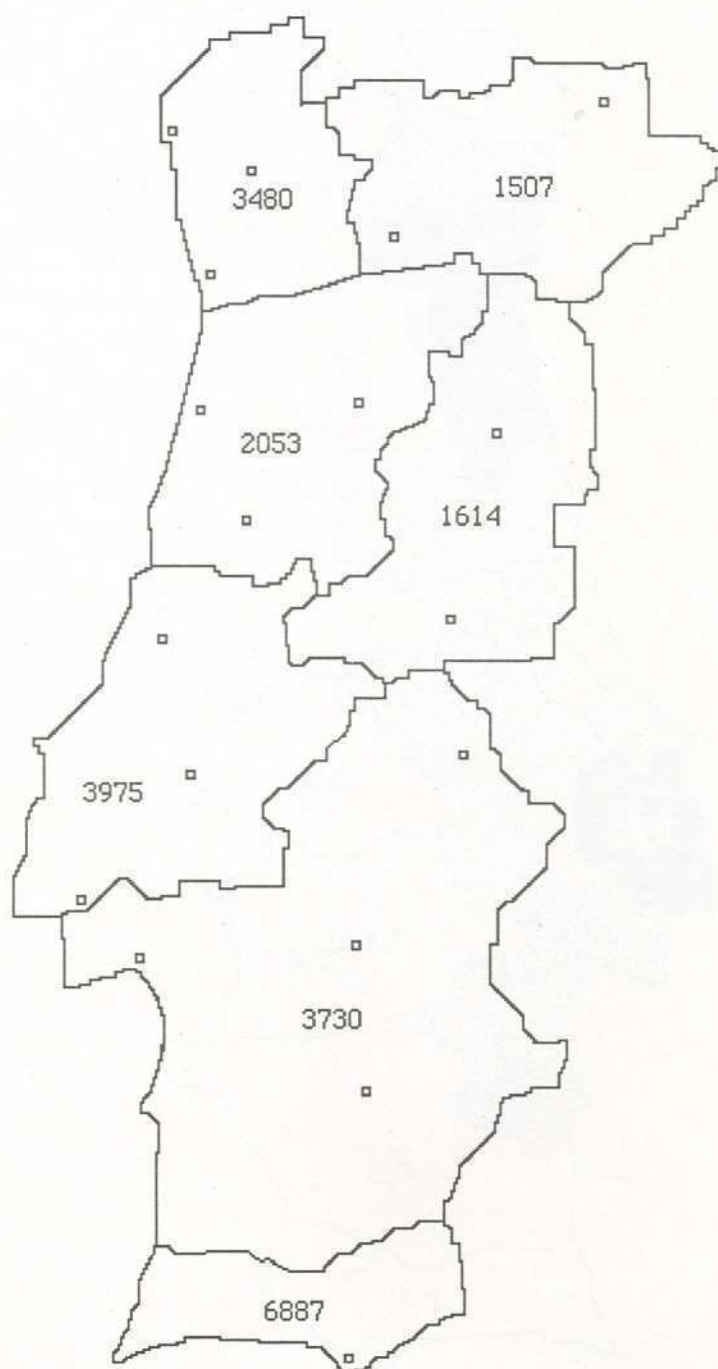
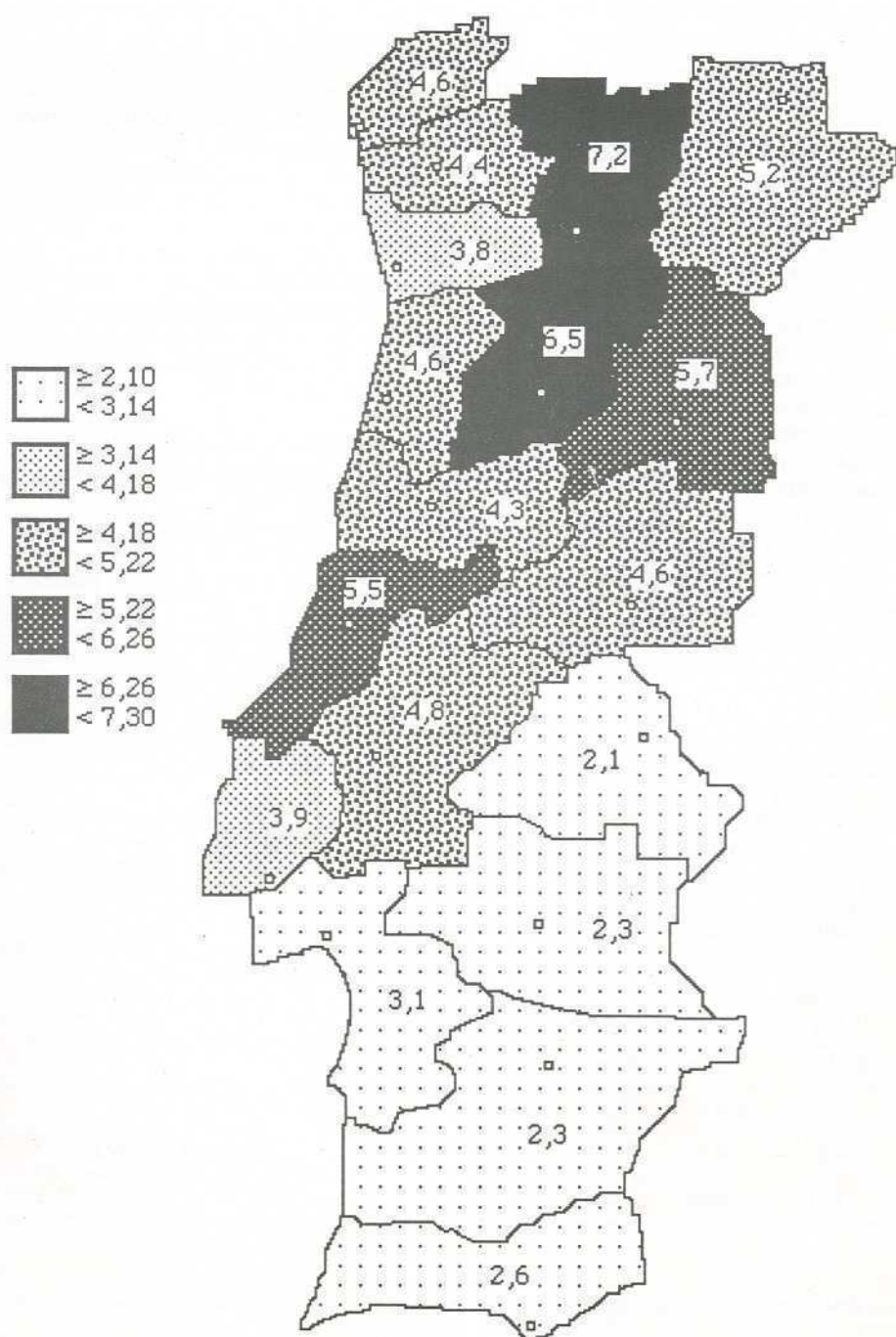


FIGURA 3.28  
DISTRIBUIÇÃO DISTRITAL EM CLASSES DA «PERCENTAGEM DISTRITAL DE ALCOÓLICOS»



Ao contrário das anteriores distribuições geográficas com base no mapa de Portugal, este índice não foi dividido em classes com o fim de permitir uma fácil visualização de modo como foi feita a extrapolação.

Da sua análise ressalta que as famílias do Sul, particularmente de Faro, têm uma «Despesa Familiar com o Tabaco» claramente superior ao resto do País, diminuindo aquela ao dirigirmo-nos para o Norte e Este.

Será doravante referido como «DFT» (Figura 3.27).

**PERCENTAGEM DISTRITAL DE ALCOÓLICOS** — A extrema dificuldade de conseguir uma quantificação directa do consumo de álcool *per capita* a nível distrital (!) levou-nos a fazer uma quantificação indirecta desse mesmo consumo através da aplicação da fórmula de Jellinek (MELLO, 1988) aos óbitos distritais por «Doença crónica do fígado e cirrose» (CID-9:347). A fórmula foi aplicada a uma média de 5 anos (1983-1987) dessa causa de morte.

Este Índice possui uma distribuição claramente dicotómica (Sul/Norte), com valores crescentes do Sul para o Norte (Figura 3.28).

Será doravante referida como «PDA».

As variáveis disponíveis nesta fase do estudo, isto é, factores tumorais (variáveis depen-

dent), por um lado, e I. Consumo, I. Ind., DFT e PDA (variáveis independentes) por outro lado, foram introduzidas numa matriz de correlação (Quadro 3.6).

Além da já referida correlação entre os factores 1 e 2, de notar as altas correlações entre o factor 1, o I. Consumo e o I. Ind., o factor 2 e o I. Consumo, o factor 2 e as DFT e o factor 2 e a PDA (de sinal contrário). Por outro lado, a PDA mostra uma correlação negativa com as outras variáveis independentes.

De notar também a existência de multicolinearidade não negligenciável entre algumas das variáveis ambientais.

A primeira etapa do estudo subsequente, isto é, a introdução do aspecto «explicador» das variáveis independentes sobre a distribuição distrital da mortalidade por cancro, consiste na quantificação do efeito ponderado de cada uma delas (bem como do seu conjunto) em cada um dos factores identificados anteriormente; o método classicamente utilizado para esse fim é a Análise de Regressão Linear Múltipla, cujos resultados se encontram no quadro 3.7.

Verifica-se a existência de uma apreciável percentagem de variância dos factores 1 e 2 explicada pelo conjunto das variáveis independentes, nomeadamente o factor 1 pelos I. Consumo e I. Ind. e o factor 2 pelos DFT e PDA.

QUADRO 3.6

**MATRIZ DE CORRELAÇÃO ENTRE OS QUATRO FACTORES E AS QUATRO VARIÁVEIS INDEPENDENTES**

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	I. Cons.	I. Ind.	DFT	PDA
Factor 1	1,000							
Factor 2	0,489	1,000						
Factor 3	-0,099	0,031	1,000					
Factor 4	0,135	0,123	-0,009	1,0000				
I. Consumo	0,187	0,570	-0,148	0,161	1,000			
I. Ind.	0,795	0,434	0,271	0,242	0,716	1,000		
DFT	0,463	0,671	-0,075	-0,303	0,391	0,163	1,000	
PDA	-0,359	-0,633	0,271	-0,053	-0,273	-0,117	-0,641	1,000

(!) Não nos foi possível obter a estimativa do consumo de cerveja a nível distrital, variável que, pensamos, seria de bastante interesse para este estudo

QUADRO 3.7  
ANÁLISE DE REGRESSÃO LINEAR MÚLTIPLA

Variável	Factor 1		Factor 2		Factor 3		Factor 4	
	CE*	p	CE*	p	CE*	p	CE*	p
I. Consumo	0,37	0,07	0,20	0,43	-0,74	0,04	0,19	0,60
I. Ind.	0,49	0,01	0,19	0,44	0,79	0,02	0,16	0,63
DFT	0,18	0,28	0,34	0,15	0,32	0,29	-0,66	0,20
PDA	-0,08	0,62	-0,33	0,14	0,36	0,21	-0,40	0,20
<b>R2 ajustado</b>	<b>0,75</b> (p=0,000)		<b>0,53</b> (p=0,006)		<b>0,21</b> (p=0,13)		<b>0,08</b> (p=0,31)	

\* CE — Coeficiente Estandarizado

No entanto, e dada a multicolinearidade anteriormente verificada (Quadro 3.6), torna-se imperioso estudar uma eventual falta de estabilidade por ela induzida no comportamento dos coeficientes estandarizados (SCHROEDER et al., 1986), o que poderá ser realizado com

recurso a uma técnica especial de regressão, a Análise de Regressão «Ridge» (BERRY & FELDMAN, 1985). De um modo sucinto, esta consiste num processo iterativo de ajustamento dos referidos coeficientes, conduzindo à sua estabilização (Figuras 3.29 a 3.32).

FIGURA 3.29

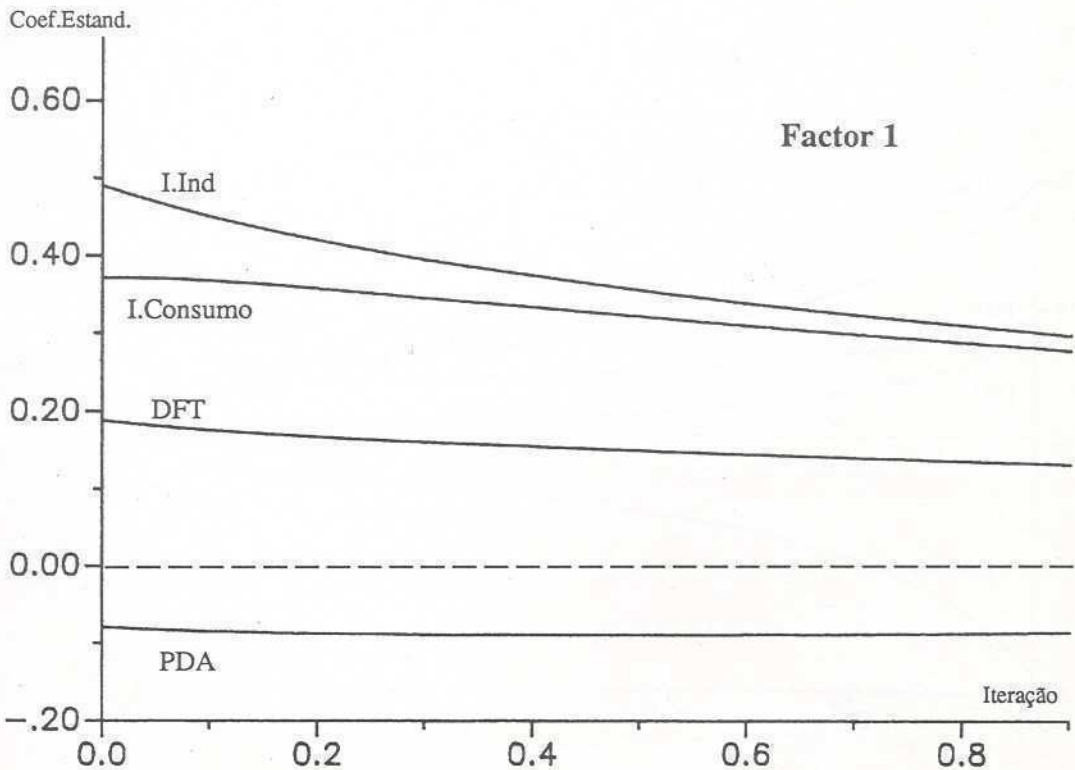


FIGURA 3.30

Coef.Estand.

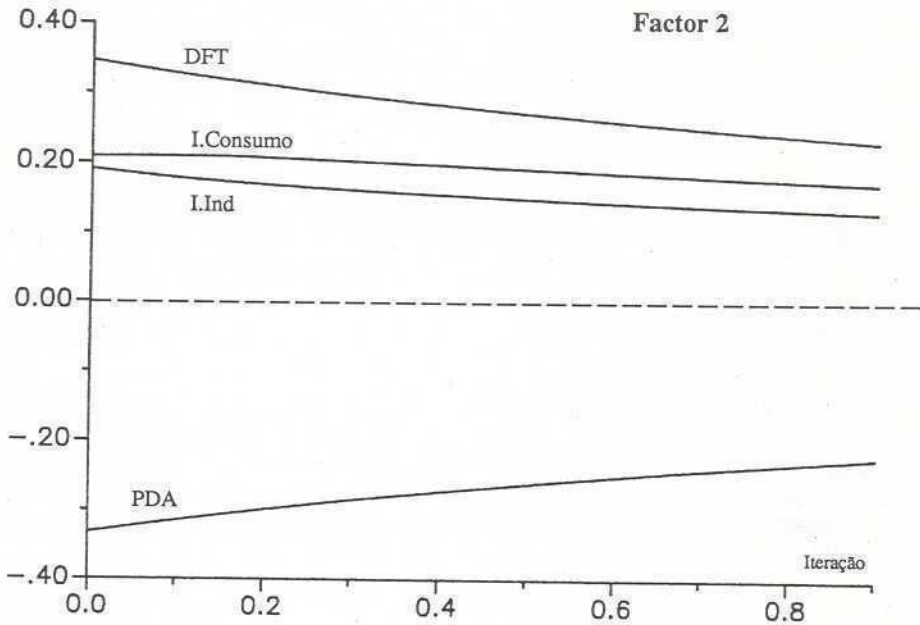


FIGURA 3.31

Coef.Estand.

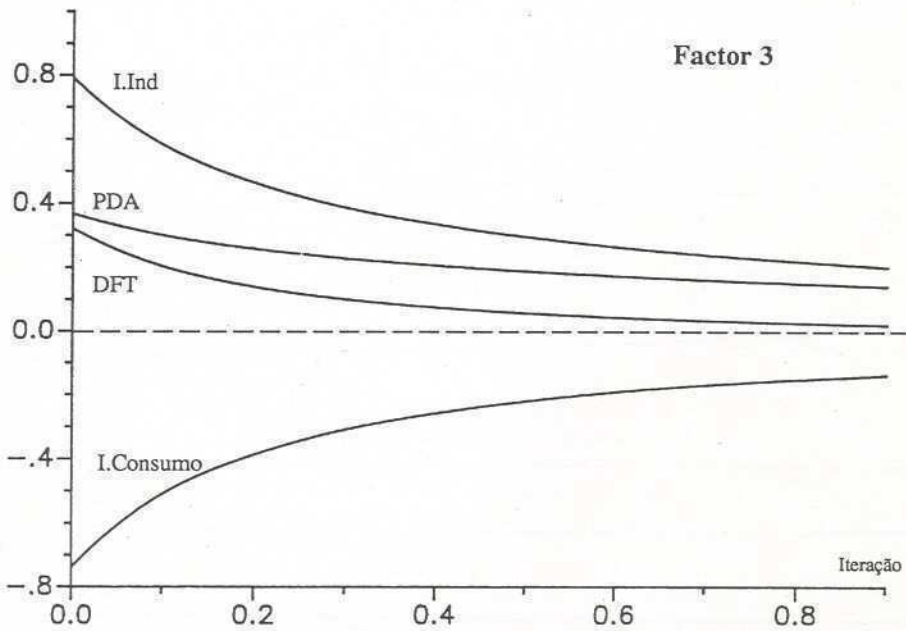
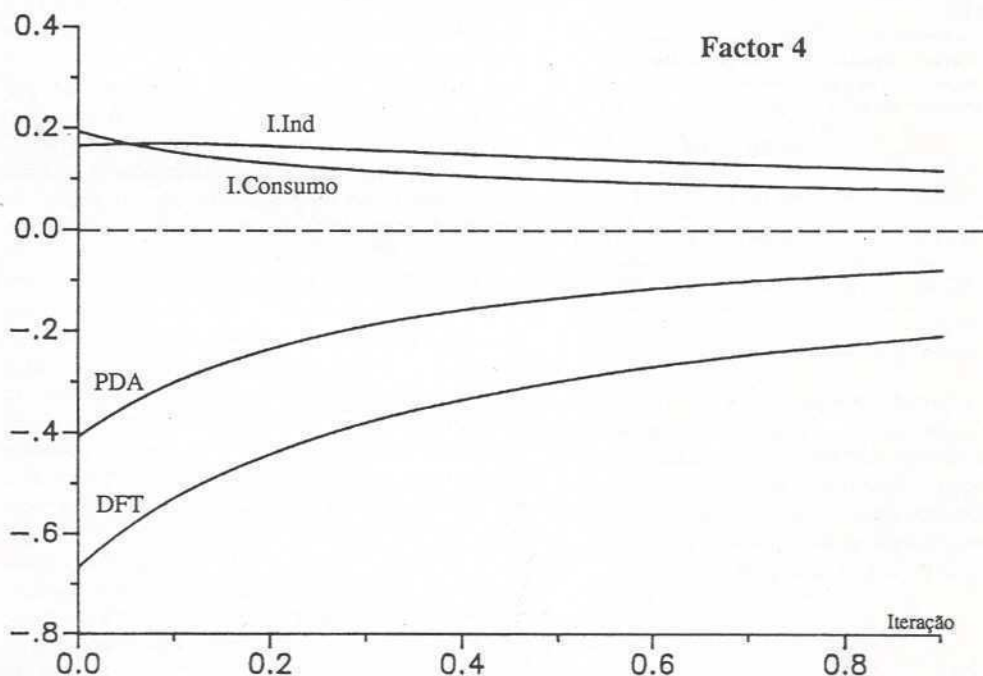


FIGURA 3.32

Coef.Estand.



A análise das figuras referentes à regressão «ridge» fornece-nos alguns pontos dignos de nota. Assim, e em qualquer dos casos, nota-se uma estabilização dos coeficientes (horizontalização das curvas), mantendo a posição relativa entre as variáveis ambientais na explicação dos factores, embora, e sobretudo para os factores 3 e 4, em valores absolutos algo distantes dos iniciais.

No entanto, as análises até agora efectuadas não permitem uma visão global das relações entre as variáveis ambientais e os factores identificados (de notar que a «explicação» da mortalidade tem sido feita em relação aos factores considerados isoladamente).

A Análise de Correlação Canónica (etapa seguinte do estudo) é outra técnica de análise multivariada, que consiste em examinar as relações lineares entre um conjunto de variáveis X («independentes», «preditoras», «explicadoras») e um conjunto de variáveis Y («dependentes», «preditivas», «explicativas»), de modo a identificar o modo como estas combinações lineares melhor exprimam as correlações entre os dois conjuntos. Estas combinações lineares são

chamadas «variáveis canónicas» e as correlações entre os pares correspondentes de variáveis canónicas são chamadas «correlações canónicas» (AFIFI & CLARK, 1984).

Tem sido uma análise pouco aplicada, tanto devido às dificuldades de computação (ultrapassadas pela sua inclusão nos actuais programas estatísticos para computador) como às dificuldades de interpretação dos resultados.

A sua introdução na Análise de Correlação Canónica evidenciou, através do teste de Barlett, dentre os conjuntos de correlações canónicas (4 correlações canónicas), duas correlações canónicas com correlação alta e significância estatística ( $p < 0,1$ ), isto é, a primeira e a segunda correlações canónicas (Quadro 3.8).

No entanto, a existência de uma significância estatística entre duas variáveis canónicas não nos quantifica a capacidade de predição, e, além disso, «a sua função linear pode não extrair porções significativas da variância entre elas» (STEWART & LOVE, 1968, citado por THOMPSON, 1984). Aquela é-nos dada através do Índice de Redundância, isto é, «a percentagem de variância de um conjunto de variáveis expli-

QUADRO 3.8  
SELECÇÃO DE CORRELAÇÕES CANÓNICAS  
SIGNIFICATIVAS ATRAVÉS DO TESTE  
DE BARNETT

Raiz própria	Corre- lação canónica	Número de raízes próprias	Teste de Barlett		
			$\chi^2$	p	g.l.
			45,58	16	0,0001
0,9124	0,955	1	16,14	9	0,0640
0,5419	0,736	2	6,38	4	0,1723
0,3539	0,595	3	0,92	1	0,3371
0,0710	0,266				

cada pelo correspondente conjunto» (LEVINE, 1977), que será igual a 1,0 apenas se as duas variáveis canónicas partilham exactamente 100 % da sua variância (quadro 3.9).

A interpretabilidade dos resultados obtidos tornou desnecessária a rotação dos pesos canónicos («canonical loadings»).

QUADRO 3.9  
PESOS CANÓNICOS E ÍNDICE  
DE REDUNDÂNCIA ENTRE AS VARIÁVEIS  
CANÓNICAS

	1. <sup>a</sup> variável canónica	2. <sup>a</sup> variável canónica	3. <sup>a</sup> variável canónica	4. <sup>a</sup> variável canónica
Factor 1	0,922	0,132	0,244	-0,288
Factor 2	0,771	-0,380	-0,126	0,496
Factor 3	0,037	0,763	-0,430	0,480
Factor 4	0,067	0,162	0,856	0,486
Índice de Redundância	33,0 % 47,9 %	10,4 % 12,0 %	8,7 % 4,5 %	1,4 % 0,8 %
I. Consumo	0,851	-0,076	0,329	-0,402
I Ind.	0,811	0,532	0,240	0,033
DFT	0,670	-0,454	-0,585	0,051
PDA	-521	0,628	-0,040	-0,577

(<sup>1</sup>) Os diagramas de dispersão da segunda, terceira e quarta correlações canónicas podem observar-se nos Anexos.

Das duas variáveis canónicas seleccionadas pelo teste de Barlett, apenas a 1.<sup>a</sup> possui uma variância apreciável, com uma contribuição importante do I. Cons. (0,851), do I. Ind. (0,811 e das DFT (0,670) para a relação com os factores 1 (0,912 e 2 (0,771)

Finalmente, os «scores» canónicos da primeira correlação canónica (correlação canónica significativa e com índice de redundância apreciável) foram representados graficamente através de um diagrama de dispersão com o intuito de estudar a linearidade da associação e a distribuição dos distritos.

Na realidade, aquele (Figura 3.33) (<sup>1</sup>) evidenciou uma linearidade bastante acentuada, notando-se perfeitamente um afastamento dos distritos de Lisboa, Porto, Setúbal e Faro, com altos valores para os dois conjuntos de variáveis, em oposição aos distritos do Interior Norte (Vila Real, Bragança, Guarda e Viseu) e Centro (Castelo Branco); os restantes distritos colocam-se numa posição homogénea e intermédia entre os dois conjuntos de distritos referidos.

A Análise Factorial, a Análise de Correlação Canónica, a Análise de Regressão Linear Múltipla e a Análise de Regressão «Ridge» foram efectuadas com recurso ao programa estatístico BMDP num computador VAX pertencente ao Centro de Informática da Universidade de Coimbra; a Análise Classificatória foi realizada através do programa estatístico SYSTAT v.3.2 num computador Apple Macintosh SE1 HD20.

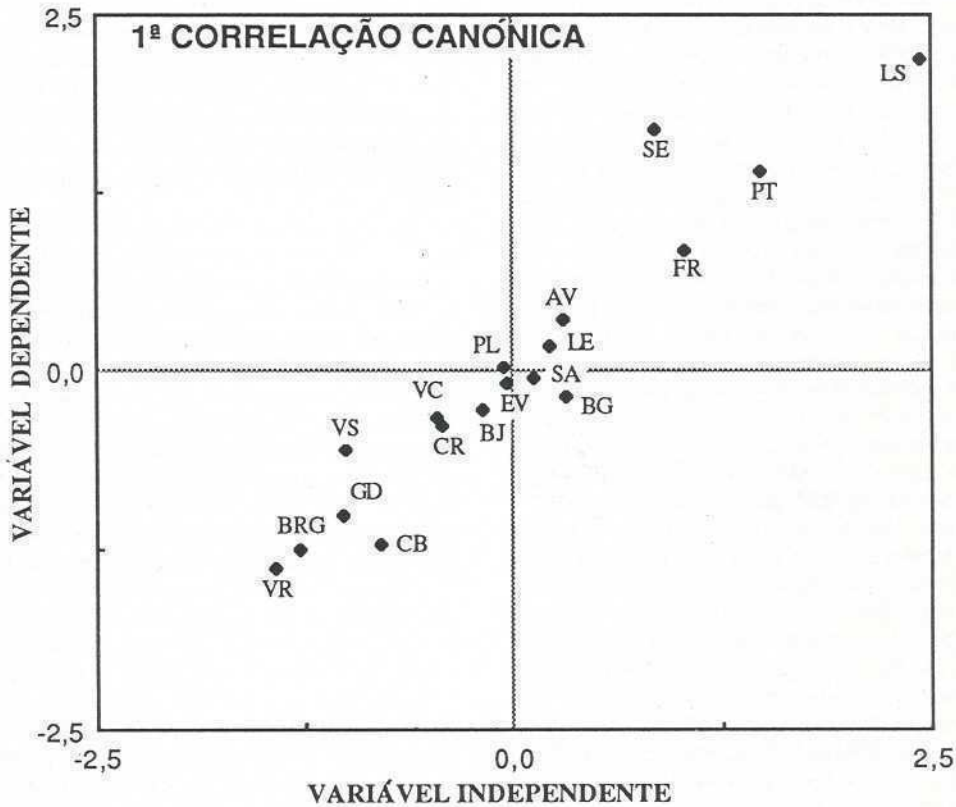
## 3.2 Discussão

Como já foi referido, o presente estudo possui algumas importantes limitações que deverão ser tomadas em conta para a análise dos resultados obtidos, como sejam o facto de:

— se utilizarem dados de mortalidade, e não de incidência, retirados a partir de certificados de óbito (processo reconhecidamente possuindo algumas imprecisões), e que criam alguma disparidade na «factorização» das várias localizações tumorais, já que elas possuem letalidades diferentes, por vezes bastante díspares (como, por exemplo, entre o T.M. do Colo do Útero e o T.M. da Traqueia, Brônquios e Pulmão);

— se tratar de um estudo de correlação, de base populacional (e não «casos»), que apenas fornece graus de associação (e não causalidade);

FIGURA 3.33  
 DIAGRAMA DE DISPERSÃO ENTRE O 1.º CONJUNTO DE VARIÁVEIS DEPENDENTES  
 E O 1.º CONJUNTO DE VARIÁVEIS



AV — Aveiro	EV — Évora	PT — Porto
BJ — Beja	FR — Faro	SA — Santarém
BG — Braga	GD — Guarda	SE — Setúbal
BRG — Bragança	LE — Leiria	VC — V. do Castelo
CB — C. Branco	LS — Lisboa	VR — Vila Real
CR — Coimbra	PL — Portalegre	VS — Viseu

— a unidade de análise ser o «Distrito», os quais são apenas em número de dezoito, número bastante pequeno para as análises utilizadas. Além disso, esta unidade de análise não será a melhor em termos de homogeneidade, pois ela agrupa populações que, muitas vezes, tem características extremamente diferentes; a população do concelho da Pampilhosa da Serra é algo diferente da do concelho de Coimbra, e a população da região interior do distrito de Faro possui

um comportamento totalmente diferente da população da região litoral do mesmo distrito;

— as variáveis «preditoras» não terem uma grande qualidade intrínseca, dificultando a associação entre a mortalidade por cancro e os eventuais factores carcinogénicos que elas possuem.

No entanto, pensamos que o presente estudo tem alguma validade, sendo importante que os

resultados obtidos sejam analisados com precaução e grande sentido crítico.

Embora a distribuição geográfica em Portugal das várias localizações tumorais seja algo heterogénea, possui realmente alguns aspectos comuns que possibilitaram a sua agregação em «factores tumorais». Não é de admirar que, por exemplo, as localizações tumorais do aparelho respiratório tenham uma distribuição da mortalidade algo semelhante já que os seus factores de risco também o são; que os T.M. do esófago e do estômago se individualizem já que, para além de estarem anatomicamente ligados possibilitando uma fácil metastização em contiguidade, possuem também alguns factores de risco comum; que neoplasias classicamente associadas ao desenvolvimento socioeconómico, como o T.M. do pâncreas e o T.M. do cólon, pertençam ao mesmo factor tumoral; que os dois primeiros factores tenham uma correlação alta, na medida em que possuem a contribuição conjunta de algumas localizações tumorais, como sejam o T.M. do cólon, o T.M. do pâncreas, o T.M. da mama e o T.M. da bexiga urinária.

Parece-nos, assim, que a Análise Factorial realizada realizou com algum rigor o agrupamento das várias localizações tumorais consideradas. Por outro lado, a percentagem de variância explicada pelos quatro factores foi apreciável (cerca de 83%), o que nos permite alguma segurança na avaliação dos resultados.

É fácil verificar que as regiões e os distritos portugueses possuem algumas características bem definidas no que se refere em relação à mortalidade por cancro.

O Interior Norte (constituído pelos distritos de Vila Real e Viseu, Bragança e Guarda) constitui quase individualmente uma «mancha» bastante homogénea, pressupondo que a natureza e prevalência dos seus factores de risco carcinogénicos são semelhantes. O seu baixo desenvolvimento socioeconómico e a sua baixa industrialização parecem ser aspectos que condicionam o seu agrupamento mútuo e as suas diferenças para o resto do País.

Os distritos de Viana do Castelo e de Braga, além de limítrofes, comportam-se de um modo bastante semelhante para a mortalidade por cancro. A sua característica mais importante refere-se à alta mortalidade que possuem por T.M. do esófago e por T.M. do estômago, sobretudo aquele distrito de Viana do Castelo. O seu desenvolvimento socioeconómico poderá não ser determinante para este comportamento, na medida em que o

distrito do Porto, muito desenvolvido e industrializado, possui também alta mortalidade para o aparelho digestivo superior. Reconhecendo-se a grande importância da alimentação como factor de risco para essas localizações tumorais, não será de admirar que ela possa influenciar a provável alta prevalência destas neoplasias. Será igualmente de colocar em questão o papel que o álcool possa ter neste comportamento, não só a quantidade média ingerida, reconhecidamente alta durante toda a vida dessas populações, mas também o seu tipo e técnica utilizada no seu fabrico.

Os distritos de Lisboa e Setúbal têm igualmente um comportamento algo semelhante, talvez evidenciando o facto de algumas zonas do segundo serem «cidades dormitório» da cidade de Lisboa, o que poderá indicar que a sua divisão em dois distritos poderá ser um pouco artificial em termos de padrões de comportamento das suas populações. Por outro lado, embora a sua industrialização seja quantitativamente diferente, ela partilha características comuns em termos de tipos de indústria existentes nos dois distritos, factor reconhecidamente importante na etiologia de algumas neoplasias, nomeadamente da Bexiga.

Existem, para algumas localizações tumorais, «pólos» de atracção geográfica, nomeadamente os distritos de Lisboa e do Porto. São sobretudo o T.M. do pâncreas, o T.M. do colo do útero, o T.M. da próstata e o T.M. da bexiga.

O distrito de Beja é um distrito bastante diferente dos outros, sendo o seu comportamento tumoral singular, pois tem altos factores 2 e 4, e baixos factores 1 e 3. A sua característica dominante parece ser a alta mortalidade que apresenta por neoplasias do aparelho respiratório, nomeadamente por T.M. da laringe, e por T.M. do estômago. Poderá pensar-se na eventual importância do tabagismo, de algum modo evidenciada pela distribuição geográfica das DFT, e do padrão alimentar, factores que poderão ter um papel bastante importante na sua etiologia neste distrito; no entanto seria interessante a elaboração de estudos sobre os hábitos de vida das populações deste distrito de modo a pesquisar dos motivos que conduzem ao seu singular comportamento no conjunto do País.

O distrito de Faro é também um caso curioso nas suas características de mortalidade tumoral e comportamento para as variáveis geralmente utilizadas em estudos de correlação. Trata-se de um distrito com enormes disparidades Interior/Litoral, combinando uma população rural extrema-

mente pobre e subdesenvolvida, e uma população de características urbanas ao longo do litoral; por outro lado, os índices de consumo e desenvolvimento são extremamente viciados pela existência de um turismo intenso, com consequente «importação» de hábitos estrangeiros, resultando numa mescla de comportamentos praticamente impossíveis de sumarizar ou descrever. Por exemplo, a exclusão do distrito de Faro das análises realizadas no presente estudo resultaram sempre num «fortalecimento» dos resultados, com correspondente melhoria de interpretação dos mesmos.

A Região Centro do País assemelha-se a um «oásis» na mortalidade pelas várias neoplasias consideradas. Não conhecemos as razões para esse facto, mas pensamos existirem vários factores que poderão condicioná-lo. Uma relação mais favorável de cuidados médicos/habitantes, uma razoável acessibilidade a centros de diagnóstico e terapêuticos, nomeadamente na cidade de Coimbra, as campanhas de educação do público viradas para a prevenção e diagnóstico precoce há longos anos empreendidas pelo Núcleo Regional do Centro da Liga Portuguesa Contra o Cancro, a tradição do rastreio e do diagnóstico precoce da Faculdade de Medicina de Coimbra, dos Hospitais da Universidade de Coimbra e do Instituto Português de Oncologia (Coimbra) (nomeadamente para o cancro do colo do útero e para o cancro da mama), alguma menor prevalência dos factores de risco mais conhecidos, poderão ser aspectos que condicionam a referida boa colocação da Região Centro para a mortalidade por cancro.

É evidente que, e como já referido, a abordagem feita através de um estudo de correlação, ao comparar populações e não «casos», tem o perigo de não filtrar aspectos que poderão ter uma importância fundamental na etiologia das neoplasias. Por exemplo, o papel da industrialização poderá não ser detectado com rigor, já que, por um lado, apenas alguns trabalhadores de uma determinada indústria poderão estar sujeitos aos factores de risco profissionais, e, por outro lado, cada indústria tem as suas características «carcinogénicas» específicas, conduzindo a uma igualização incorrecta dos elementos de uma população. Parece-nos que o papel da industrialização poderá ser estudado com maior eficácia, em termos de epidemiologia geográfica, através de análises que tomem em consideração a eventual existência de «bolsas» industriais, dificilmente detectáveis em análises mais «globalistas».

Já o comportamento derivado de uma melhor ou pior situação socioeconómica de uma população se torna mais fidedigna, na medida em que esses aspectos (padrão alimentar, comportamentos sexuais e reprodutores, consumismo medicamentos, nomeadamente em relação ao uso de anticoncepcionais), tendo um cariz «social», induzem um nivelamento das pessoas, permitindo a assumpção de determinados comportamentos. Isso permite que os resultados extraídos de um estudo de correlação sejam mais fidedignos que os anteriores.

Será provavelmente um dos motivos que influenciou a individualização de apenas uma correlação canónica significativa, linear e com apreciável índice de redundância, permitindo uma associação entre o padrão de comportamento de consumo, a industrialização e o tabagismo, por um lado, e as neoplasias epiteliais, hormonodependentes e respiratórias (embora as análises de regressão múltipla e «ridge», por considerarem os factores isoladamente, consigam claramente individualizar a relação entre tabagismo e tumores malignos respiratórios). Não nos podemos esquecer que, em Portugal, o desenvolvimento socioeconómico está intimamente ligado à industrialização (o que foi claramente visível nas matrizes de correlação apresentadas), aspectos igualmente associados com factores como a poluição das águas, tabagismo (enquanto factor social) e alimentação «ocidental». Seria, assim, bastante interessante a disponibilidade de elementos que permitissem essa quantificação, pois esse facto permitiria um enriquecimento de estudos semelhantes ao presente.

No entanto, o facto de estarmos a quantificar a variância de variáveis em que já houve perda de informação, poderá influenciar os resultados obtidos, podendo colocar-se a hipótese de as correlações canónicas não valorizadas poderem ser estatisticamente significativas e importantes; de resto, a segunda correlação canónica ( $p = 0.06$ , ind. redund. de 10 a 12%) deixa entrever alguma relação entre o binómio industrialização/PDA e o factor 3, dominado pelos T.M. do esófago e estômago, o que também já transparecia das análises de regressão múltipla e «ridge».

Por outro lado, se assumíssemos como verdadeira e quantitativamente importante a associação entre o desenvolvimento socioeconómico e algumas localizações tumorais (positiva com os factor 1 e 2), seria interessante efectuar uma tal correlação, não por distritos mas sim por conce-

lhos, de modo a apreciar, com um maior número de unidades de análise e populações mais homogêneas, a referida associação. Um dos aspectos que o permitiriam seria a associação de concelhos com características socioeconómicas semelhantes (já que seria extremamente alto o número de concelhos com um quantitativo de óbitos extremamente baixo), mais ou menos contíguos, dentro da mesma região (FIGUEIREDO, 1988).

De notar que, neste trabalho, não tivemos em consideração aspectos de autocorrelação espacial, quer a nível das variáveis independentes quer a nível das taxas de mortalidade; pensamos ser um aspecto que será passível de implementação próxima, embora as unidades de análise imediatamente disponíveis («Distrito» e «Concelho») possam não ser as mais adequadas, já que o seu número e a sua caracterização pertencem manifestamente a dois extremos.

Na realidade, a distribuição do País faz-se em bases puramente administrativas e políticas, algo inadequadas para a análise da maior parte dos problemas de saúde, e que, no caso do estudo das neoplasias, estará provavelmente a mascarar alguns aspectos importantes, como sejam a reconhecida existência de comunidades com taxas de incidência bastante elevadas de algumas neoplasias, pressupondo alta prevalência de factores de risco específicos. O seu reconhecimento e individualização permitiriam uma atitude preventiva extremamente benéfica, tanto no afastamento desses factores como no rastreio localizado de alguns cancros mais acessíveis a esta atitude.

### 3.3 Conclusões

1. A mortalidade por cancro em Portugal possui bastantes disparidades regionais, embora sejam extremamente importantes as divisões Interior/Litoral e Norte/Sul. Para algumas localizações, existem alguns «pólos» de atracção geográfica, como sejam o distrito de Lisboa e o distrito do Porto.

2. Apesar dessas disparidades, é possível agregar a mortalidade por algumas localizações tumorais em variáveis que, sem grande perda de informação, as possam descrever com bastante fidedignidade.

3. O comportamento distrital e regional para a mortalidade pelas várias neoplasias e para os factores tumorais permite uma individualização

geográfica provavelmente reflexo da existência de factores de risco mais ou menos localizados.

4. Verifica-se em Portugal a associação do desenvolvimento socioeconómico, do padrão de comportamento cultural e social, da industrialização e do tabagismo com a mortalidade por localizações tumorais já detectada noutros Países e mesmo em Portugal.

5. Deverá estudar-se a possibilidade de realizar estudos de correlação utilizando unidades de análise mais homogêneas e em maior número.

6. As associações detectadas justificarão estudos mais aprofundados e rigorosos.

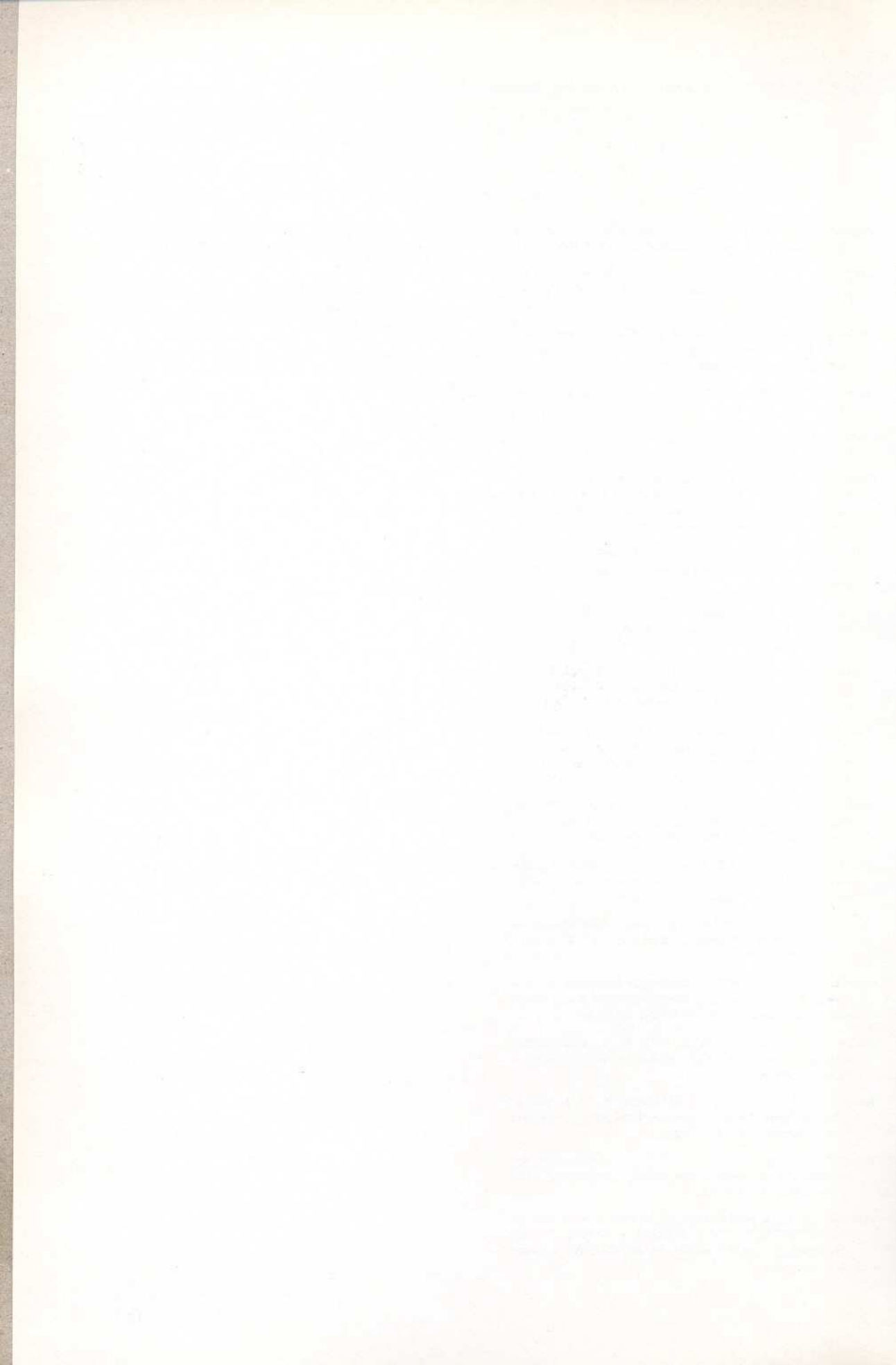
### 4. BIBLIOGRAFIA

- AFIFI, A. A. & CLARK, V. (1984) *Computer-Aided Multivariate Analysis*. Belmont, Lifetime Learning Publications.
- AKIBA, S., KATO, H., BLOT, W. J. (1986) «Passive smoking and lung cancer among Japanese». *Cancer Res.*; 46: 4804-4807.
- ALDENDERFER, M. S. & BLASHFIELD, R. K. (1984) *Cluster Analysis*. Sage University Paper Series on Quantitative Applications in the Social Sciences, 07-044, Beverly Hills & London, Sage Pubns.
- ALDERSON, M. R. (1976) *An Introduction to Epidemiology*. London, Macmillan.
- ALDRIDGE, W. N. & CONNORS, T. A. (1982) «Rapid Communication: Toxic oil syndrom in Spain». *Food Chem. Toxicol.*; 20: 989-992.
- ANTUNES, C. M. F., STOLLEY, P. D., ROSENSHEIN, N. B., et. al. (1979) «Endometrial cancer and estrogen use. Report of a large case control study» *N. Engl. J. Med.*; 300: 9-13.
- ARMITAGE, P. & DOLL, R. (1954) «The age distribution of cancer and multistage theory of carcinogenesis». *Br. J. Cancer*; 8: 1-12.
- ARMITAGE, P. & BERRY, G. (1987) *Statistical Methods in Medical Research*. Oxford, Blackwell Scientific Publications.
- ARMSTRONG, B. & MANN, J. J. (1985) «Diet». In: VESSEY, M. P., GRAY, M. (eds.) *Cancer: Risks and Prevention*. Oxford, Oxford University Press.
- BARON, J. (1984) «Smoking and estrogen-related disease». *Am. J. Epidemiol.*; 119: 9-22.
- BAUM, J. K., HOLTZ, F., BOOKSTEIN, J. J., et al. (1973) «Possible association between benign hepatomas and oral contraceptives». *Lancet*; i: 1552-1555.
- BERRY, W. D. & FELDMAN, S. (1985) *Multiple Regression in Practice*. Sage University Paper Series on Quantitative Applications in the Social Sciences, 07-050. Beverly Hills & London, Sage Pubns.

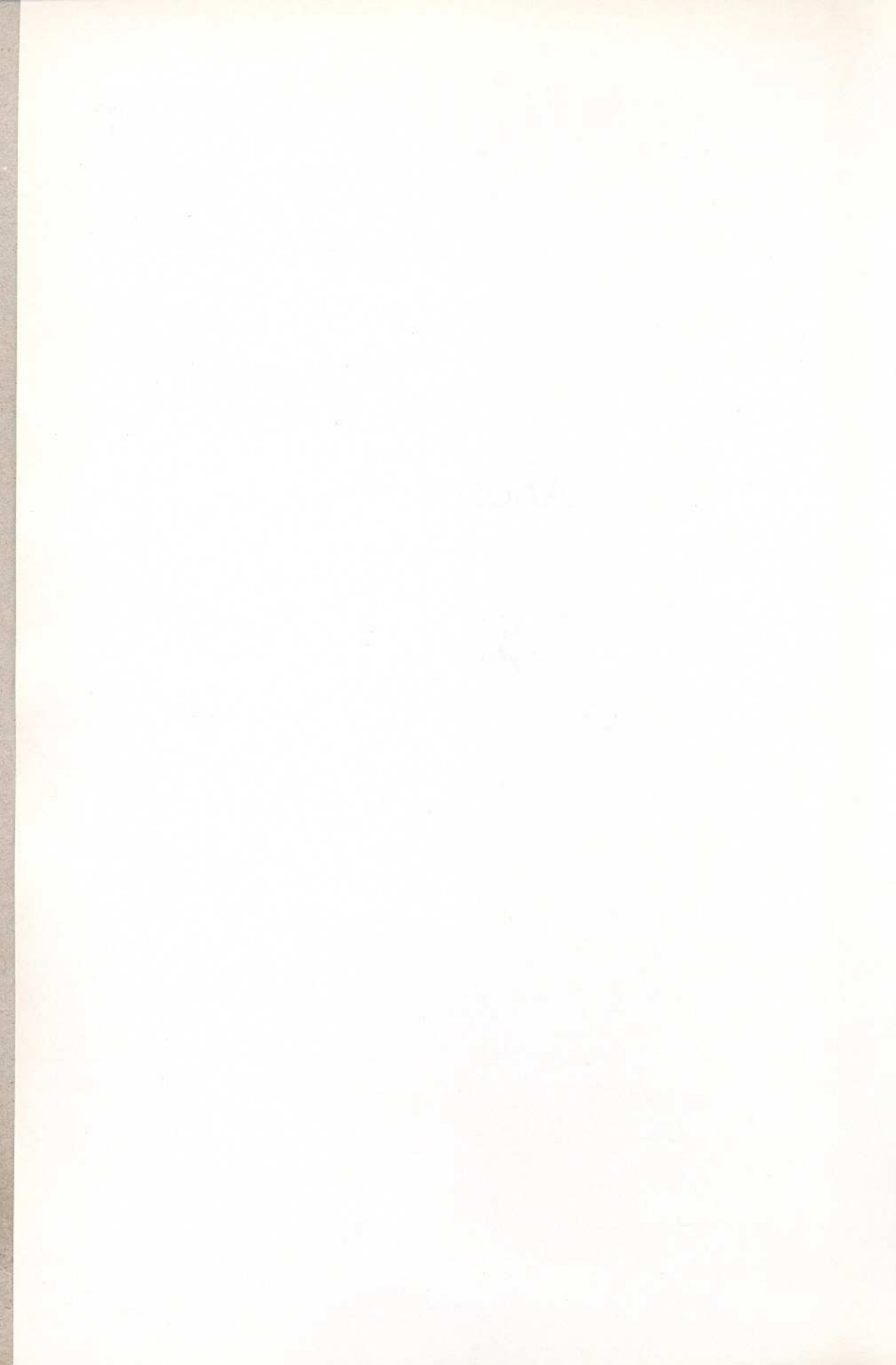
- BORREGA, A., KORNEWELL, C., MAYER, J. (1979) *Employment and Basic Needs in Portugal*. Geneva, International Labour Organization.
- BOYCE, J. D. & LAND, C. E. (1982) «Ionizing radiation». In: SCHOTTENFELD, D. & FRAUMENI, J. F. (eds.) *Cancer Epidemiology and Prevention*. Philadelphia, W. B. Saunders Company.
- BOYLAND, E. (1967) «The correlation of experimental carcinogenesis and cancer in man». *Prog. Exp. Tumor Res.*; 11: 222-234.
- BYERS, T. (1988) «Diet and cancer». *Cancer*; 62: 1713-1724.
- CARDOSO, S. M. (1983) *Epidemiologia das Doenças Cardiovasculares (Dissertação de Doutoramento)*. Coimbra, Ed. Autor.
- CARDOSO, S. M. (1985) «Cancro do pulmão e industrialização». *Med. Cir.*; 5: 69-82.
- CARDOSO, S. M., RAMALHEIRA, A. C. RODRIGUES, V. L., et al. (1989) «Acidentes de viação por veículos a motor. Análise regional do fenómeno». (Comunicação pessoal aos III Debates de Epidemiologia). Porto.
- CHANG, W. & FUNG, S. (1982) «Lung cancer in non-smokers in Hong-Kong». In: GRUDMAN, E. (Ed.) *Cancer Campaign. Vol. 6. Geographical Pathology in Cancer Epidemiology*, Stuttgart, G. Fisher Verlag.
- COOK, P. J., DOLL, R., FELLINGHAM, S. A. (1969) «A mathematical model for the age distribution of cancer in man». *Int. J. Cancer*; 4: 93-112.
- CORREA, P., PICKE, L. W., FONTHAM, E., et al. (1983) «Passive smoking and lung cancer». *Lancet*; ii: 595-597.
- DANIELL, H. (1984) «Breast cancer and cigarette smoking». *N. Engl. J. Med.*; 310: 1531.
- DECOUFLÉ, P. (1982) «Occupation». In: SCHOTTENFELD, D. & FRAUMENI, J. F. (eds.) *Cancer Epidemiology and Prevention*. Philadelphia, W. B. Saunders Company.
- DIXON, W. J. (1985) *BMDP Statistical Software*. Berkeley, University of California Press.
- DOLL, R. (1980) «The epidemiology of cancer». *Cancer*; 45: 2475-2485.
- DOLL, R. & PETO, R. (1981) *The Causes of Cancer*. Oxford, Oxford University Press.
- DURBEC, J. P., CHEVILLOTE, G., BIDORT, J. M. et al. (1983) «Diet, alcohol, tobacco and risk of cancer of the pancreas: a case-control study». *Br. J. Cancer*; 47: 463-470.
- FIELDING, J. E. & PHENOW, K. J. (1988) «Health effects of involuntary smoking». *N. Engl. J. Med.*; 319: 1452-1640.
- FIGUEIREDO, E. V. S. (1988) *Portugal: Que Regiões? Algumas Propostas de Delimitação Regional para o Continente Português*. Braga, Instituto Nacional de Investigação Científica.
- GARABRANT, D. H., PETERS, J. M., MACK, T. M. et al. (1984) Job activity and colon cancer risk. *Am. J. Epidemiol.*; 119: 1005-1014.
- GARFINKEL, L., AUERBACH, O., JOUBERT, L. (1985) «Involuntary smoking and lung cancer: a case-control study». *JNCI*; 75: 463-469.
- GERHARDSSON, M., NORELL, S. E., KIVIRANTA, H., et al. (1986) «Sedentary jobs and colon cancer». *Am. J. Epidemiol.*; 123: 775-780.
- GERHARDSSON, M., FLODERUS, B., NORELL, S. E. (1988) «Physical activity and colon cancer risk». *Int. J. Epidemiol.*; 17: 743-746.
- GRAHAM, S., DAYAL, H., SWANSON, M. et al. (1978) «Diet in the epidemiology of cancer of the colon and rectum». *JNCI*; 61: 709-714.
- GROVES, F. D., ZAVALA, D. E., CORREA, P. (1987) «Variation in international cancer mortality: factor and cluster analysis». *Int. J. Epidemiol.*; 16: 501-508.
- HAMMOND, E. C. (1966) «Smoking in relation to the death rates of one million men and women». *Natl. Cancer Inst. Monogr.*; 19: 127-204.
- HIGGINSON, J. (1966) «Etiological factors in gastrointestinal cancer in man». *JNCI*; 37: 527-544.
- HIGGINSON, J. & MUIR, C. S. (1979) «Environmental carcinogenesis: misconceptions and limitations to cancer control». *JNCI*; 73: 1291-1298.
- HILL, A. B. (1965) «The environmental and disease: association or causation?». *Proc. Royal Soc. Med.*; 58: 295-300.
- HIRAYAMA, T. (1975) «Prospective studies on cancer epidemiology based on census population in Japan». In: BUCALOSI, P., VERONESI, U., CASCINELLI, N. (eds.) *Cancer Epidemiology Environmental Factors, Vol. 3*. Amsterdam, Excerpta Medica.
- HOOVER, R. & FRAUMENI, J. F. (1981). «Drug-induced cancer». *Cancer*; 47: 1071-1080.
- HUMBLE, C. G., SAMET, J. M., PATHAK, D. R. (1987) «Marriage to a smoker and lung cancer risk». *Am. J. Public Health*; 77: 598-602.
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA (1984) *XII Recenseamento Geral da População, 1981*. Lisboa, Imprensa Nacional - Casa da Moeda.
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA (1985) *Inquérito às Receitas e Despesas Familiares 1980/1981*. Lisboa, Imprensa Nacional - Casa da Moeda.
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (1989) *Prospective Studies on Diet and cancer in Europe (I.A.R.C. report of ongoing activities, n.º 1)*. Lyon, International Agency for Research on Cancer.
- INSKIP, H., BERAL, V., FRASER, P., et al. (1983) «Methods for age-adjustment of rates». *Stat. Med.*; 2: 455-466.

- JENSEN, O. M. (1979) «Cancer morbidity and causes of death among Danish brewery works». *Int. J. Cancer*; 23: 454-463.
- JOHNSON, F. L., FEAGLER, J. R., LERNER, K. G., et al. (1972) «Association of androgenic anabolic steroid therapy with development of hepatocellular carcinoma». *Lancet*; ii: 1273-1276.
- KABAT, G. C. & WYNDER, E. L. (1984) «Cancer in non-smokers». *Cancer*; 53: 277-283.
- KELSEY, J. L., FISCHER, D. B., HOLFORD, T. R., et al. (1981) «Exogenous estrogens and other factors in the epidemiology of breast cancer». *JNCI*; 67: 327-333.
- KIM, J.-O. & MUELLER, C. W. (1988) *Factor Analysis. Statistical Methods and Practical Issues*. Sage University Paper Series on Quantitative Applications in the Social Sciences, 07-014. Beverly Hills & London, Sage Pubns.
- KINLEN, L. J. (1985) «Infections and Immune impairment». In: VESSEY, M. P., GRAY, M. (eds.) *Cancer: Risks and Prevention*. Oxford, Oxford University Press.
- LAM, T. H., KUNG, I. T., WONG, C. M., et al. (1987) «Smoking and histological types in lung cancer in Hong Kong Chinese Women». *Br. J. Cancer*; 56: 673-679.
- LEE, P. N., CHAMBERLAIN, J., ALDERSON, M. R. (1986) «Relationship of passive smoking to risk of lung cancer and other smoking-associated diseases». *Br. J. Cancer*; 54: 97-105.
- LEVINE, M. S. (1977) *Canonical Analysis and Factor Comparison*. Sage University Paper Series on Quantitative Applications in the Social Sciences, 07-006. Beverly Hills & London, Sage Pubns.
- MACMAHON, B. & PUGH, T. F. (1970) *Epidemiology, Principles and Methods*. Boston, Little, Brown & Co.
- MELLO, M. L. M., PINTO, A. P., FRAZÃO, M. H., et al. (1988) *Manual de alcoologia para o clínico geral*. Coimbra, DeLagrange.
- MOOLGAVKAR, S. H. (1978) «The multistage theory of carcinogenesis and the age distribution of cancer in man». *JNCI*; 61: 49-52.
- MOTTA, L. C. (1985) «A Saúde em Portugal em meados da década de 70. Desigualdades regionais». *Arquivos do Instituto Nacional de Saúde*; 11: 117-213.
- MOTTA, L. C. & FALCÃO, L. M. (1987) *Atlas do Cancro em Portugal, 1980-1982*. Lisboa, Ministério da Saúde — Departamento de Recursos Humanos.
- O'CONNELL, D. L., HULKA B. S., CHAMBLESS, L. E., et al. (1987) «Cigarette smoking, alcohol consumption, and breast cancer risk». *JNCI*; 78: 229-234.
- OLIVEIRA, H. M., CARDOSO, S. M. & MOTA, F. (1988) Incidence and mortality of breast and cervical cancer in Continental Portugal. *Coimbra Médica*, 9: 313-322.
- PERCY, C., STANEK, E., GLOECKLER, L. (1981) «Accuracy of cancer death certificates and its effects on cancer mortality statistics». *Amer. J. Public Health*; 71: 242-250.
- PERSKY, V., DYER, A. R., LEONAS, J., et al. (1981) Heart rate: a risk factor for cancer?. *Am. J. Epidemiol.*; 114: 477-487.
- PERSHAGEN, G., HRUBEC, Z., SVENSSON, C. (1987) «Passive smoking and lung cancer in Swedish women». *Am. J. Epidemiol.*; 125: 17-24.
- PETO, R. (1980) «The epidemiology of cancer». *Cancer*; 45: 2475-2485.
- PETO, R. (1985) «The preventability of cancer». In: VESSEY, M. P., GRAY, M. (eds.) *Cancer: Risks and Prevention*. Oxford University Press.
- PORTER, J. B. & JICK, H. (1983) «Breast cancer and cigarette smoking». *N. Engl. J. Med.*; 309: 186.
- QUEMADA, P. V. (1987) *Epidemiologia del Cancer de Mama*. Pamplona, Curso del Epidemiologia del Cancer.
- RODRIGUES, V. L., VEIGA, F. A., CARDOSO, S. M. (1989) «Padrão de mortalidade por tumores malignos do aparelho digestivo» (Comunicação pessoal aos IV Debates de Epidemiologia). Coimbra.
- ROSEMBERG, L., SCHWINGL, P. J., KAUFMAN, D. W., et al. (1984) «Breast cancer and cigarette smoking». *N. Engl. J. Med.*; 319: 92-94.
- ROTHMAN, K. & KELLER, A. (1972) «The effect of joint exposure to alcohol and tobacco on risk of cancer of the mouth and pharynx». *J. Chron. Dis.*; 25: 711-716.
- ROTHMAN, K. J. (1982) «Causation and causal inference». In: SCHOTTENFELD, D. & FRAUMENI, J. F. (eds.) *Cancer Epidemiology and Prevention*. Philadelphia, W. B. Saunders Company.
- SAMET, J. (1989) «Random and lung cancer». *JNCI*; 81: 745-757.
- SARACCI, R. (1985) «Occupation». In: VESSEY, M. P., GRAY, M. (eds.) *Cancer: Risks and Prevention*. Oxford University Press.
- SARACCI, R. (1987) «The interactions of tobacco smoking and other agents in cancer etiology». *Epidemiol. Rev.*; 9: 175-193.
- SCHROEDER, L. D., SJOQUIST, D. L., STEPHAN, P. E. (1986) *Understanding Regression Analysis. An introductory guide*. Sage University Paper Series on Quantitative Applications in the Social Sciences, 07-057. Beverly Hills & London, Sage Pubns.
- SCOTTO, J., FEARS, T. R., FRAUMENI, J. F. (1982) «Solar radiation». In: SCHOTTENFELD, D. & FRAUMENI, J. F. (eds.) *Cancer Epidemiology and Prevention*. Philadelphia, W. B. Saunders Company.
- STEWART, D. K. & LOVE, W. A. (1986) «A general canonical correlation index». *Psychological Bulletin*; 70: 160-163.
- STREINER, N. (1986) *PDQ Statistics*. Toronto, B. C. Decker Inc.
- STOLLEY, P. D. & HIBBERD, P. L. (1982) «Drugs». In: SCHOTTENFELD, D. & FRAUMENI, J. F. (eds.) *Cancer Epidemiology and Prevention*. Philadelphia, W. B. Saunders Company.

- SWANSON, G. M. (1988) «Cancer prevention in the workplace and natural environment». **Cancer**; 62: 1725-1646.
- TABUENCA, J. M. (1981) «Toxi-allergic syndrome caused by ingestion of rapeseed oil denatured with aniline». **Lancet**; ii: 567-568.
- THOM, M., P., WILLIAMS, R. M., et al (1979) «Prevention and treatment of endometrial disease in climactive women receiving oestrogen therapy». **Lancet**; ii: 455-457.
- THOMAS, D. B. (1984) «Do hormones cause breast cancer?». **Cancer**; 53: 595-604
- THOMAS, D. B. (1988) «Steroid hormones and medications that alter cancer risks». **Cancer**; 62: 1755-1767.
- THOMPSON, B. (1984) *Canonical Correlation Analysis: Uses and Interpretation*. Sage University Paper Series on Quantitative Applications in the Social Sciences, 07-047. Beverly Hills and London, Sage Pubns.
- TRICHOPOULOS, D., KALANDINI, A., SPARROS, L., et al. (1981) «Lung cancer and passive smoking». **Int. J. Cancer**; 27: 1-4.
- TUYINS, A. J. (1982) «Alcohol». In: SCHOTTENFELD, D. & FRAUMENI, J. F. (eds.) *Cancer Epidemiology and Prevention*. Philadelphia, W. B. Saunders Company.
- WALDRON, H. A. & VICKERSTAFF, L. (1977) «Accuracy of diagnosis of fatal condition and quality of certification». London, Nuffield Provincial Hospitals Trust.
- WATERHOUSE, J., MUIR, C., CORREA, P., POWELL, J. (eds.) (1976) *Cancer Incidence in Five Countries — Vol. III (Scientific Publications N.º 15)*. Lyon, International Agency for Research on Cancer.
- WEISS, N. S., SZEKELEY, D. R., AUSTIN, D. F. (1976) «Increasing incidence of endometrial cancer in the United States». **N. Engl. J. Med.**; 294: 1259-1262.
- WEISS, N. S. & SAYVETZ, T. A. (1980) «Incidence of endometrial cancer in relation to the use of oral contraceptives». **N. Engl. J. Med.**; 302: 551-554.
- WILLETT, W. C. & MACMAHON, B. (1984) «Diet and cancer — An overview». **N. Engl. J. Med.**; 310: 633-638, 697-703.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (1983) *Guidelines on Studies in Environmental Epidemiology (Environmental Health Criteria 27)*. Geneva, World Health Organization.
- WU, A. H., HENDERSON, B. E., PIKE, M. C., et al. (1985) «Smoking and other risk factors for lung cancer in women». **JNCI**; 74: 747-751.
- WINDER, E. L., COVEY, L. S., MABUCHI, K., et al. (1976) «Environmental factors in cancer of the larynx. A second look». **Cancer**, 38: 1591-1601.
- WINDER, E. L. & GORI G. B. (1977) «Contribution of the environment to cancer incidence: an epidemiologic exercise». **JNCI**; 58: 825-832.
- WINDER, E. L. & HOFFMANN, D. (1982) «Tobacco». In: SCHOTTENFELD, D. & FRAUMENI, J. F. (eds.) *Cancer Epidemiology and Prevention*. Philadelphia, W. B. Saunders Company.
- WYNDER, E. L. & GOODMAN, M. T. (1983) «Smoking and lung cancer: some unresolved issues». **Epidemiol. Rev.**; 5: 177-207
- VELEMA, J. P., WALKER, A. M., GOLD, E. B. (1986) «Alcohol and pancreatic cancer: insufficient epidemiologic evidence for a causal relationship». **Epidemiol. Rev.**; 8: 28-41.
- VENA, J. E., GRAHAM, S., ZIELEZNY, M., et al. (1985) «Lifetime occupational exercise and colon cancer». **Am. J. Epidemiol.**; 122: 357-365.



# Anexos



QUADRO A.1

LISTA BÁSICA PARA TABULAÇÃO — TUMORES MALIGNOS (CID-9:08-14)

---

- 08 — T.M. dos lábios, da cavidade bucal e da faringe
- 09 — T.M. dos órgãos do aparelho digestivo e do peritôneu
- 090 — T.M. do esôfago
  - 091 — T.M. do estômago
  - 092 — T.M. do intestino delgado, incluindo o duodeno
  - 093 — T.M. do cólon
  - 094 — T.M. do recto, da junção rectossigmóide e do ânus
  - 095 — T.M. do fígado, especificado como primário
  - 096 — T.M. do pâncreas
  - Resto 09 (099) — T.M. com outras localizações nos órgãos do aparelho digestivo e do peritôneu
- 10 — T.M. dos órgãos do aparelho respiratório e dos órgãos intratorácicos
- 100 — T.M. da laringe
  - 101 — T.M. da traqueia, dos brônquios e do pulmão
  - Resto 10 (109) — T.M. com outras localizações nos órgãos do aparelho respiratório e dos órgãos intratorácicos
- 11 — T.M. dos ossos, do tecido conjuntivo, da pele e da mama
- 110 — T.M. dos ossos e das cartilagens articulares
  - 111 — T.M. da pele
  - 112 — Outros T.M. da pele
  - 113 — T.M. da mesma feminina
  - Resto 11 (119) — T.M. com outras localizações no tecido conjuntivo, de outros tecidos moles e da mama masculina
- 12 — T.M. dos órgãos genitourinários
- 120 — T.M. cólo do útero
  - 121 — T.M. da placenta
  - 122 — T.M. do útero, outras localizações e das não especificadas
  - 123 — T.M. do ovário e de outros anexos do útero
  - 124 — T.M. da próstata
  - 125 — T.M. do testículo
  - 126 — T.M. da bexiga urinária
  - Resto 12 (129) — Outros T.M. dos órgãos genitourinários, genitais masculinos, do rim e outros órgãos especificados e não especificados.
- 13 — T.M. de outras localizações e de localizações não especificadas
- 130 — T.M. do encéfalo
  - Resto 13 (139) — T.M. do olho, do sistema nervoso e de localização não especificada
- 14 — T.M. do tecido linfático e dos órgãos hematopoiéticos
- 140 — Doença de Hodgkin
  - 141 — Leucemia
  - Resto 14 (149) — Outros T.M. do tecido linfático e dos órgãos hematopoiéticos
-

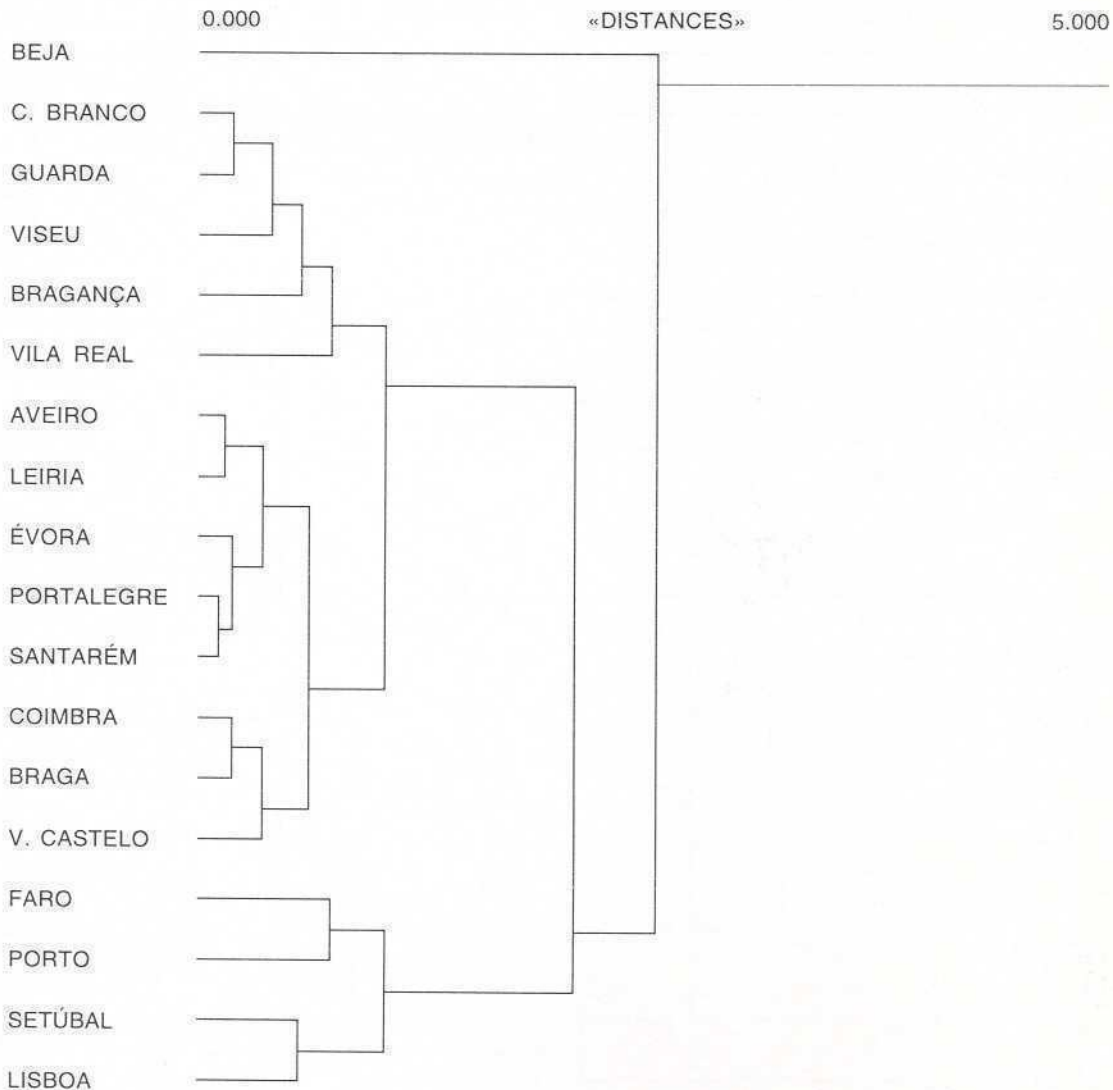
QUADRO A.2

NÚMERO DE ÓBITOS, TAXA DE MORTALIDADE GERAL (/10<sup>5</sup> HAB.) E MORTALIDADE PROPORCIONAL POR TUMORES MALIGNOS E POR SEXO (1983-1987)

08	374,4	2,45	3,81	305,6	3,45	6,45	68,8	1,07	1,35
09	6410,4	41,93	65,19	3919,0	44,27	82,72	2491,4	38,72	48,90
090	510,8	3,34	5,19	372,0	4,20	7,85	138,8	2,16	2,72
091	2884,6	18,87	29,34	1702,2	19,23	35,93	1182,4	18,37	23,21
092	41,2	0,27	0,42	21,4	0,24	0,45	19,8	0,31	0,39
093	1145,8	7,50	11,65	549,8	6,21	11,60	596,0	9,26	11,70
094	599,8	3,92	6,10	342,8	3,87	7,24	257,0	3,99	5,04
095	91,6	0,60	0,93	59,6	0,67	1,26	32,0	0,50	0,63
096	625,0	4,09	6,36	345,8	3,91	7,30	279,2	4,34	5,48
099	1136,6	7,44	11,56	527,0	5,95	11,12	609,6	9,47	11,96
10	2280,4	14,92	23,19	1904,0	21,51	40,19	376,4	5,85	7,39
100	372,4	2,44	3,79	343,6	3,88	7,25	28,8	0,45	0,57
101	1841,6	12,05	18,73	1518,2	17,15	32,04	323,4	5,03	6,35
109	66,6	0,44	0,68	42,2	0,48	0,89	24,2	0,38	0,47
11	1562,0	10,22	15,89	198,2	2,24	4,18	1363,8	21,19	26,77
110	153,6	1,000	1,56	91,4	1,03	1,93	62,2	0,97	1,22
111	50,8	0,33	0,52	26,0	0,29	0,55	24,8	0,39	0,49
112	70,6	0,46	0,72	37,4	0,42	0,79	33,2	0,52	0,66
113							1218,8	18,94	23,92
119	68,2	0,45	0,69	43,4	0,49	0,92	24,8	0,39	0,49
12	2502,0	16,37	25,44	1384,8	15,64	29,23	1117,2	17,36	21,93
120							168,6	2,62	3,31
121							0,8	0,01	0,02
122							463,0	7,20	9,09
123							225,6	3,51	4,43
124				896,6	10,13	18,92			
125				16,2	0,18	0,34			
126	443,0	2,90	4,51	330,0	3,73	6,97	113,0	1,76	2,22
129	288,2	1,89	2,93	142,0	1,60	3,00	146,2	2,27	2,87
13	1136,0	7,43	11,55	572,8	6,47	12,09	563,2	8,75	11,05
130	375,4	2,46	3,82	212,4	2,40	4,48	163,0	2,53	3,20
139	760,6	4,98	7,74	360,4	4,07	7,61	400,2	6,22	7,85
14	1021,4	6,68	10,39	567,2	6,41	11,97	454,2	7,06	8,91
140	70,4	0,46	0,72	45,4	0,51	0,96	25,0	0,39	0,49
141	544,6	3,56	5,54	302,4	3,42	6,38	242,2	3,76	4,75
149	406,4	2,66	4,13	219,4	2,48	4,63	187,0	2,91	3,67

FIGURA A.1  
ANÁLISE CLASSIFICATÓRIA PARA OS FACTORES 1 E 2

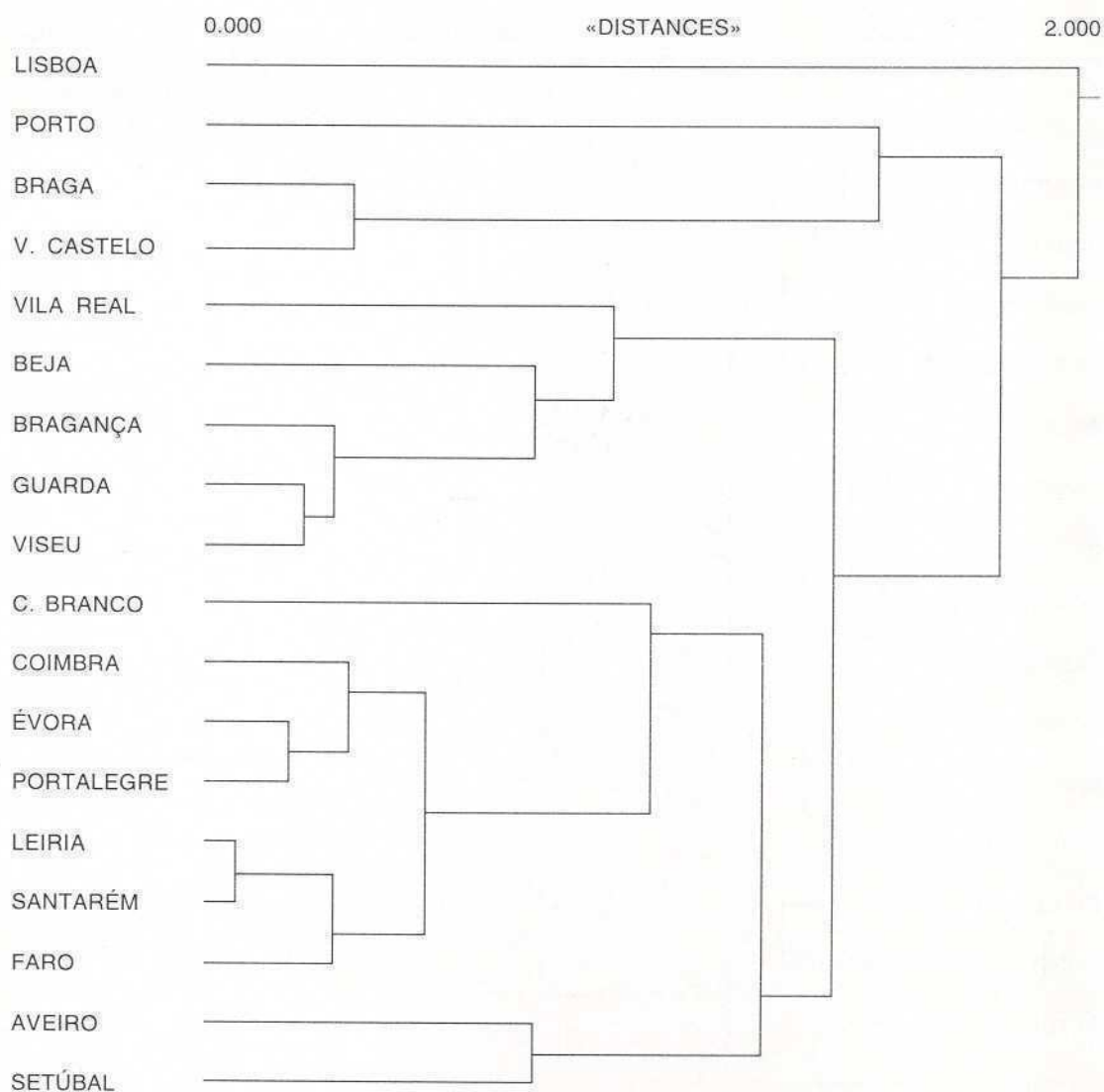
«TREE DIAGRAM»



«EUCLIDEAN DISTANCE»  
«AVERAGE LINKAGE METHOD»

FIGURA A.2  
ANÁLISE CLASSIFICATÓRIA PARA OS FACTORES 1 E 3

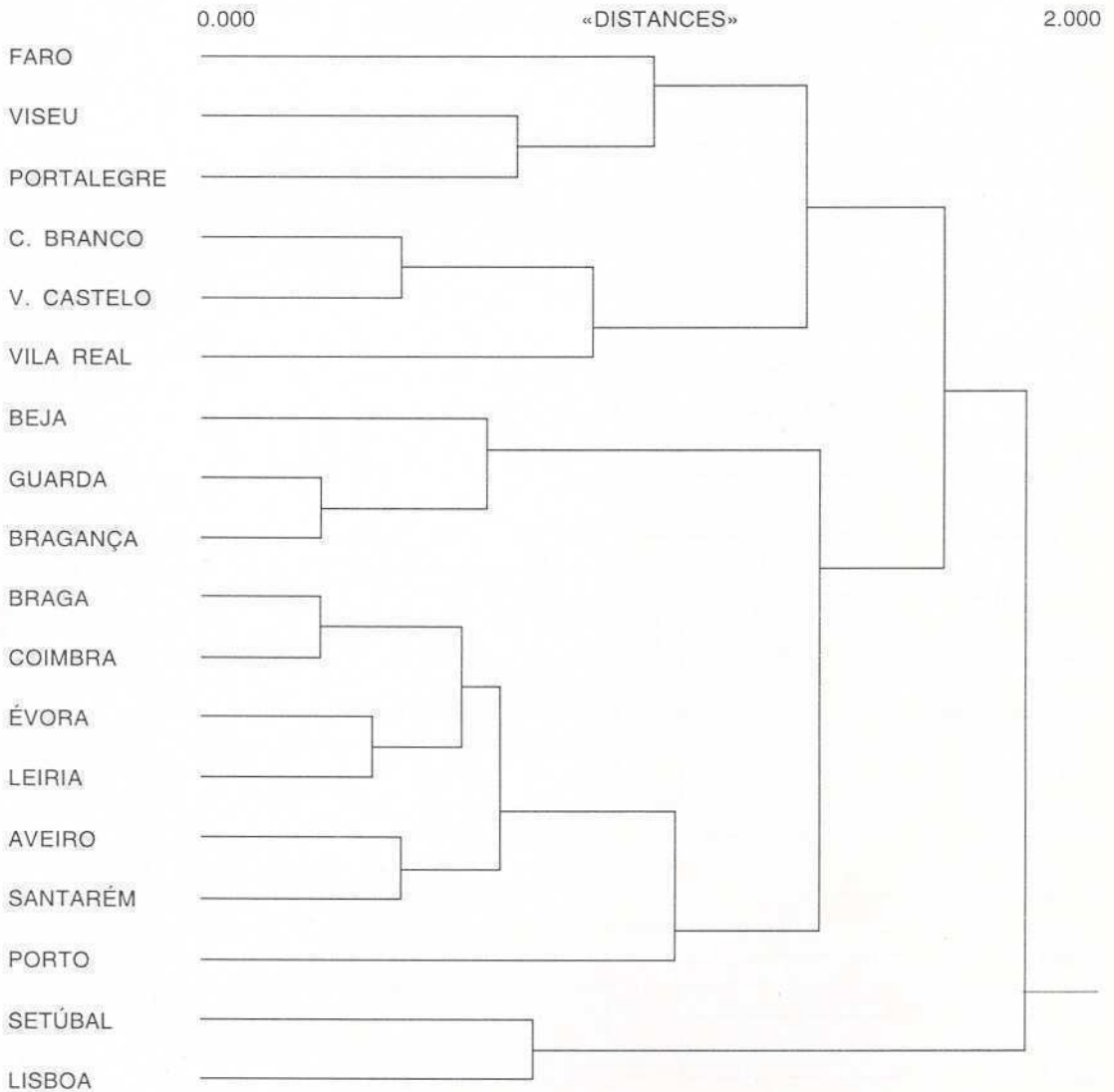
«TREE DIAGRAM»



«EUCLIDEAN DISTANCE»  
«AVERAGE LINKAGE METHOD»

FIGURA A.3  
ANÁLISE CLASSIFICATÓRIA PARA OS FACTORES 1 E 4

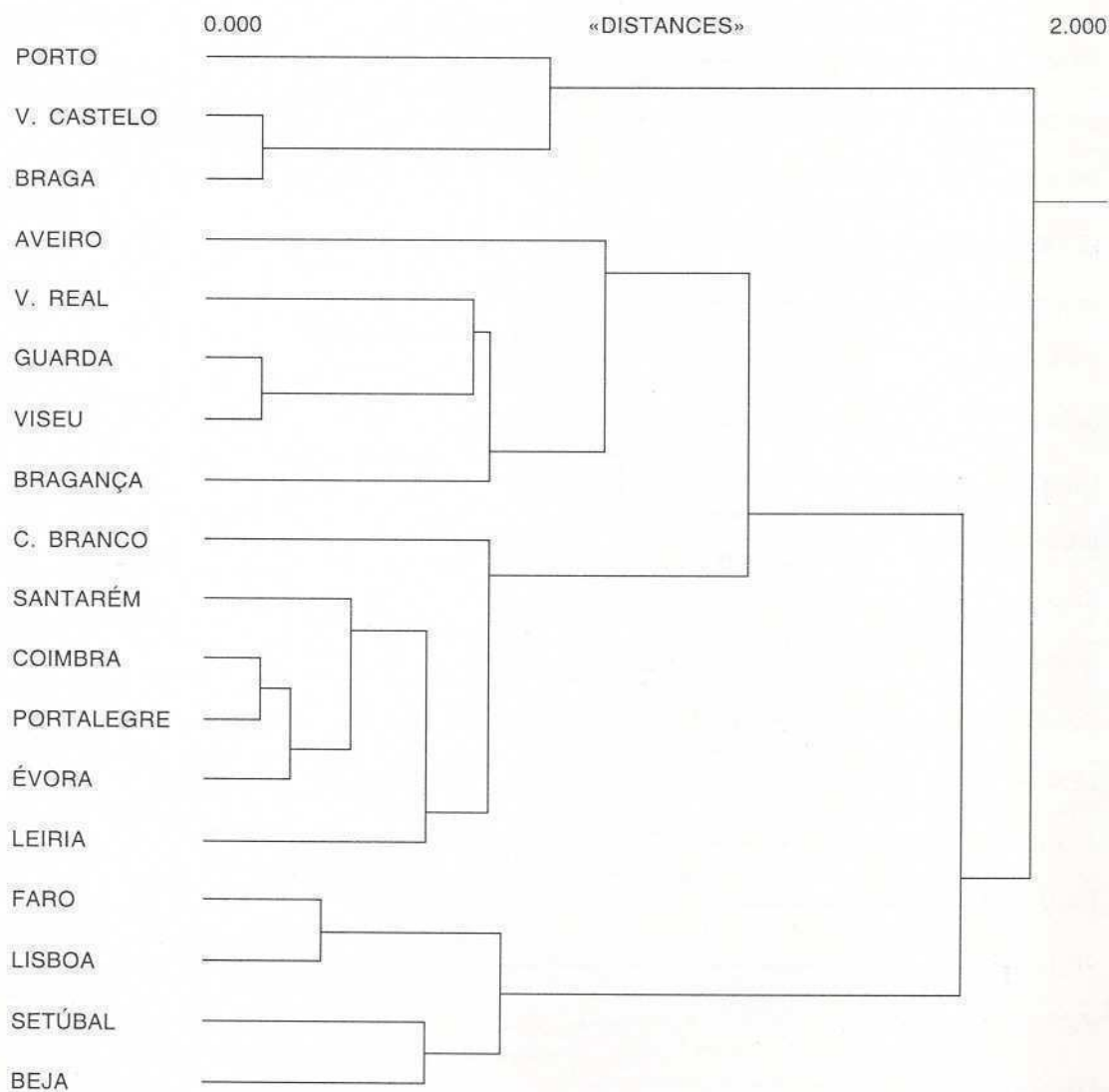
«TREE DIAGRAM»



«EUCLIDEAN DISTANCE»  
«AVERAGE LINKAGE METHOD»

FIGURA A.4  
ANÁLISE CLASSIFICATÓRIA PARA OS FACTORES 2 E 3

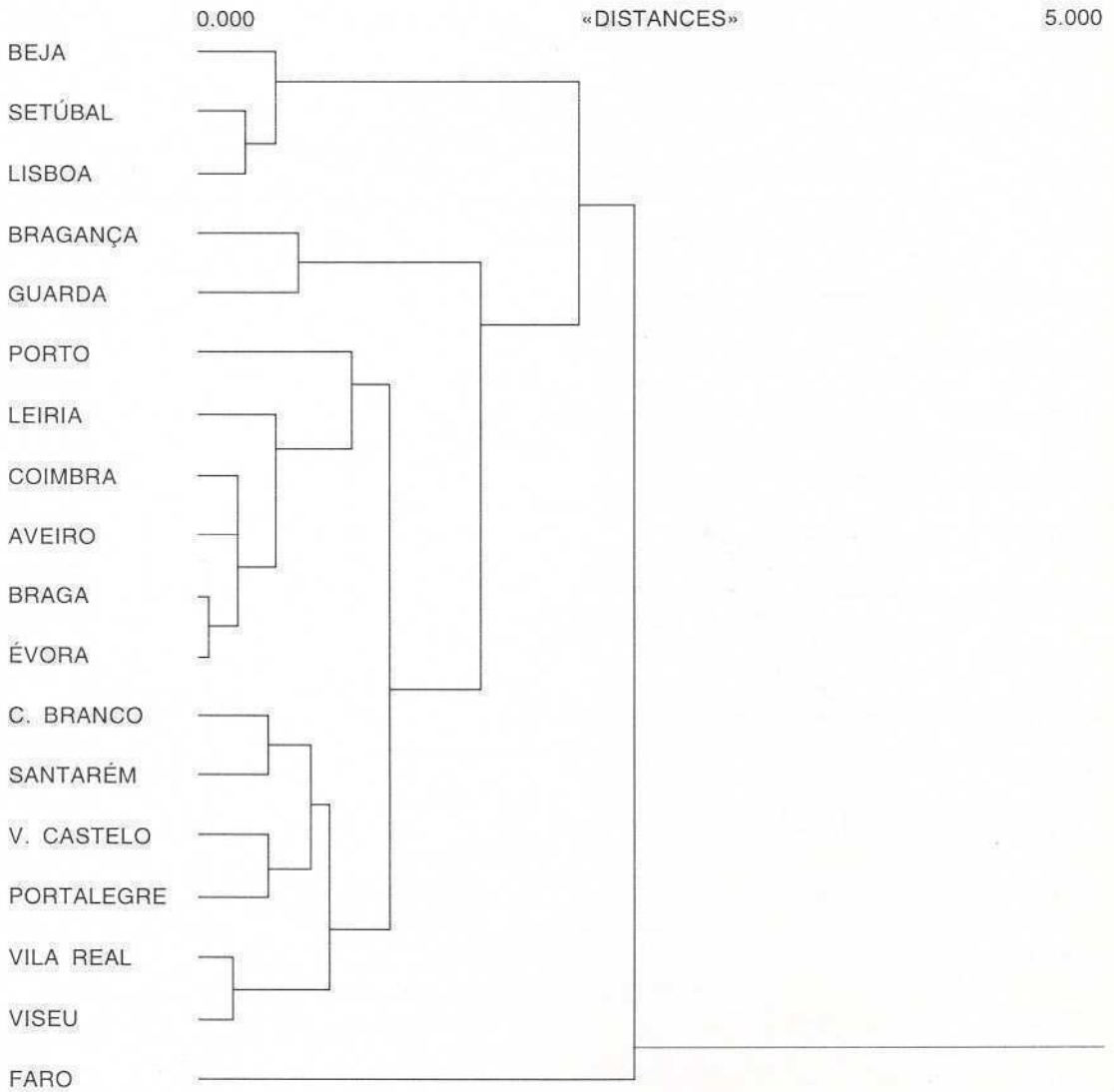
«TREE DIAGRAM»



«EUCLIDEAN DISTANCE»  
«AVERAGE LINKAGE METHOD»

FIGURA A.5  
ANÁLISE CLASSIFICATÓRIA PARA OS FACTORES 2 E 4

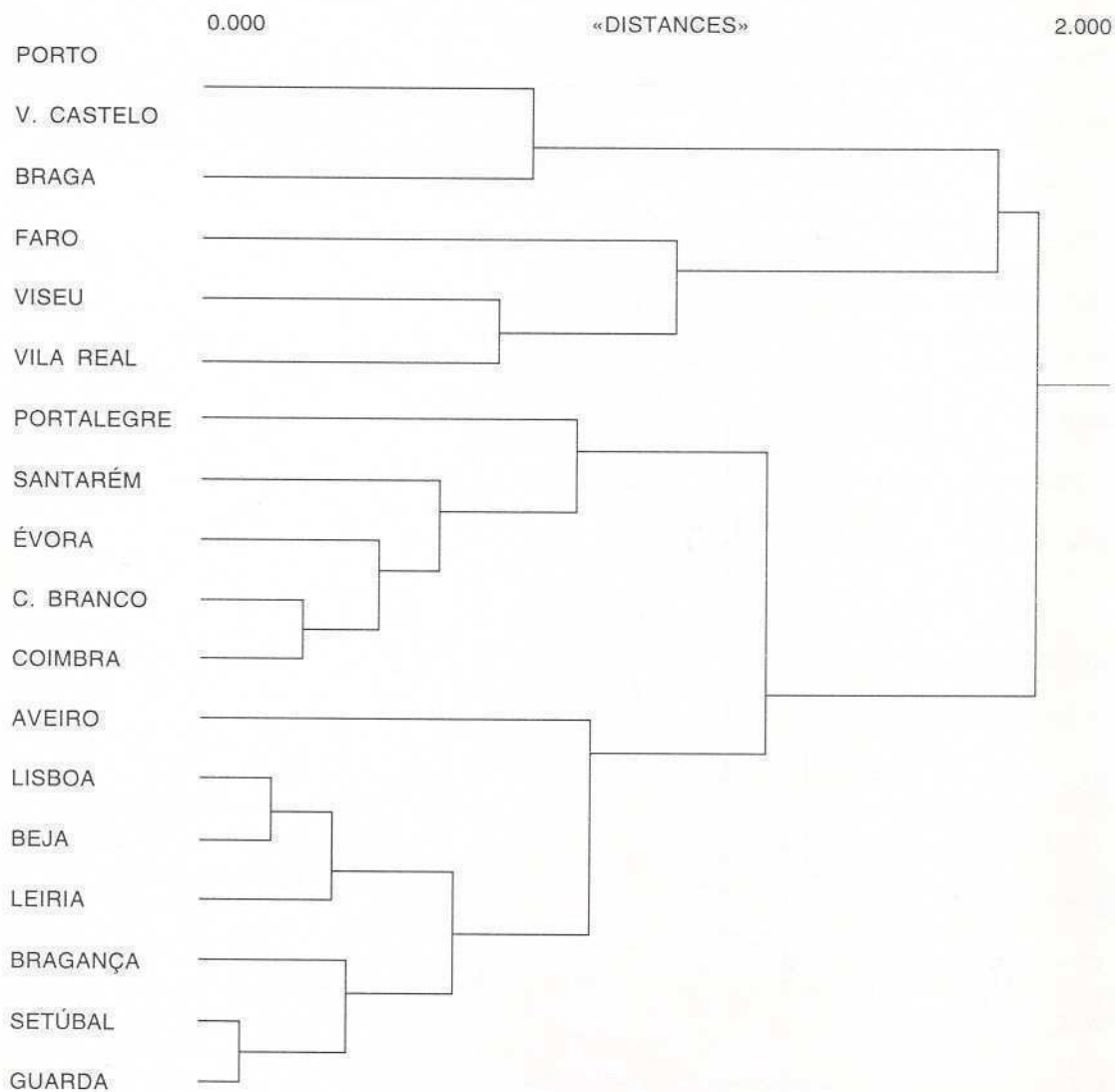
«TREE DIAGRAM»



«EUCLIDEAN DISTANCE»  
«AVERAGE LINKAGE METHOD»

FIGURA A.6  
ANÁLISE CLASSIFICATÓRIA PARA OS FACTORES 3 E 4

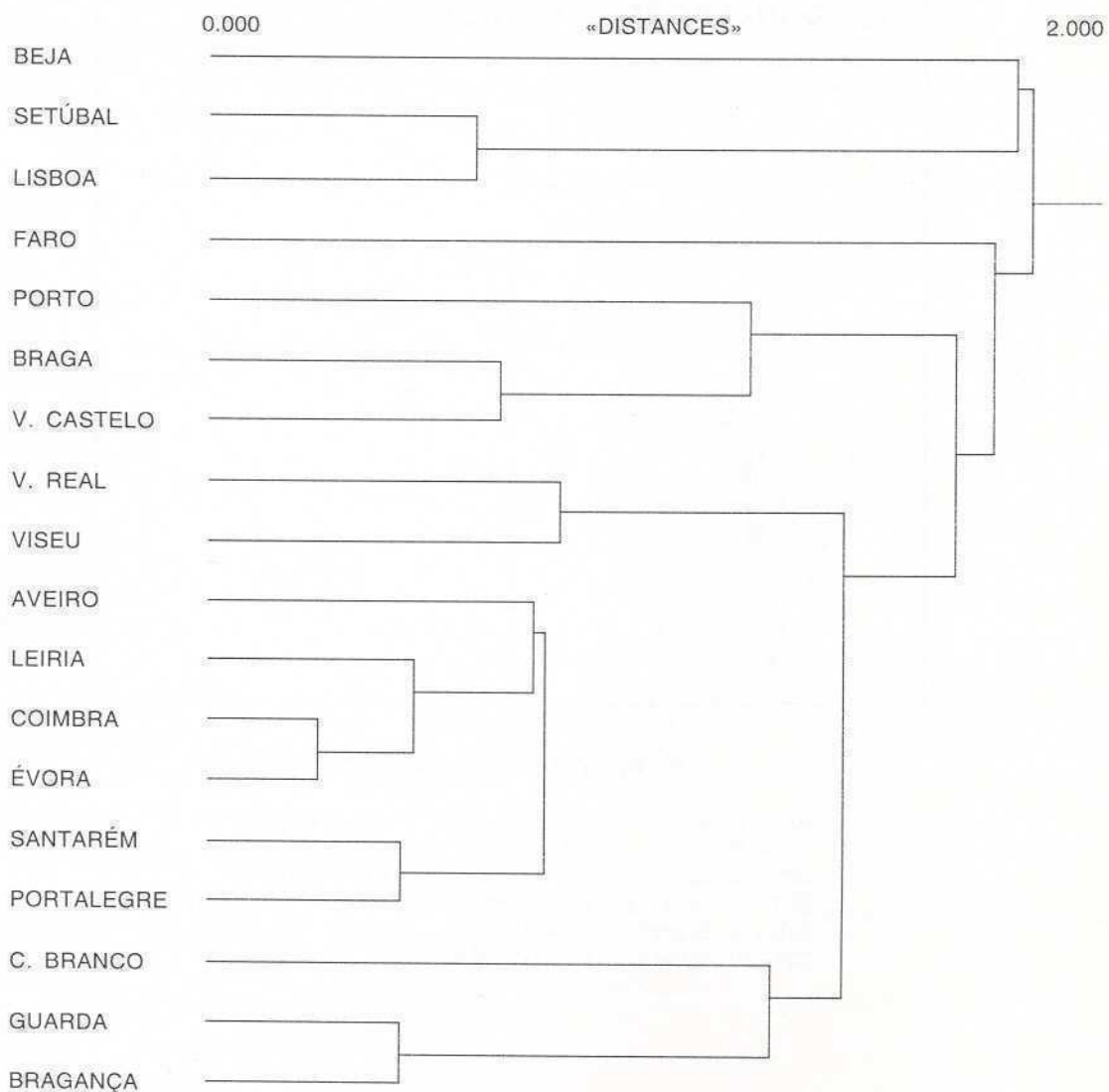
«TREE DIAGRAM»



«EUCLIDEAN DISTANCE»  
«AVERAGE LINKAGE METHOD»

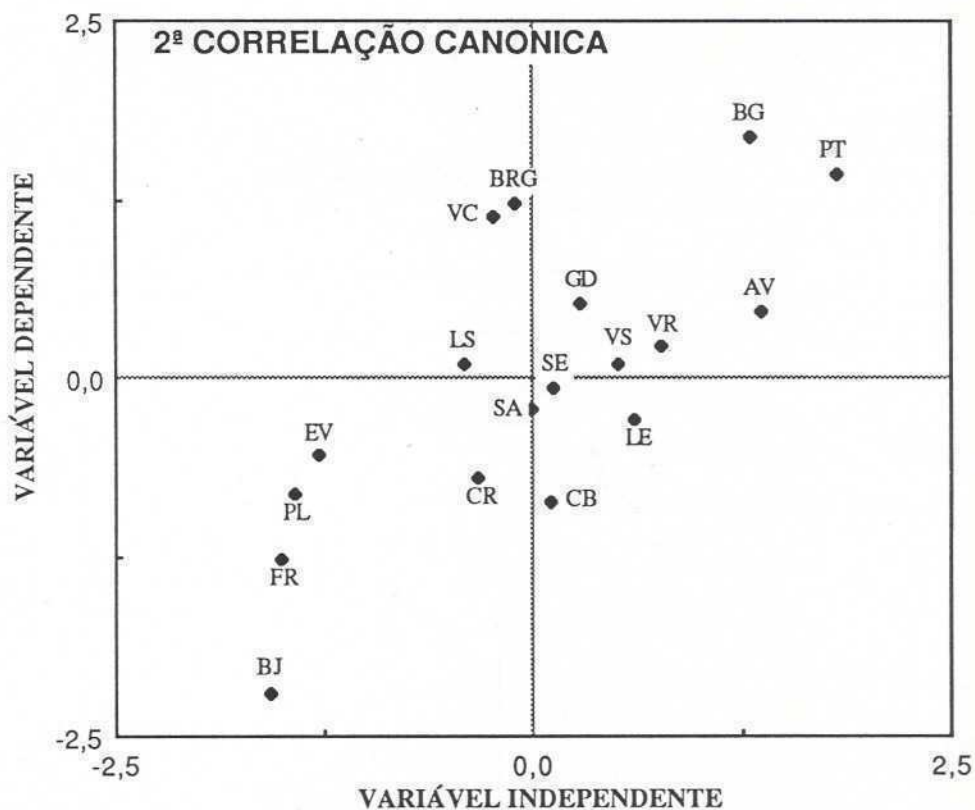
FIGURA A.7  
ANÁLISE CLASSIFICATÓRIA PARA OS FACTORES 1, 2, 3 E 4

«TREE DIAGRAM»



«EUCLIDEAN DISTANCE»  
«AVERAGE LINKAGE METHOD»

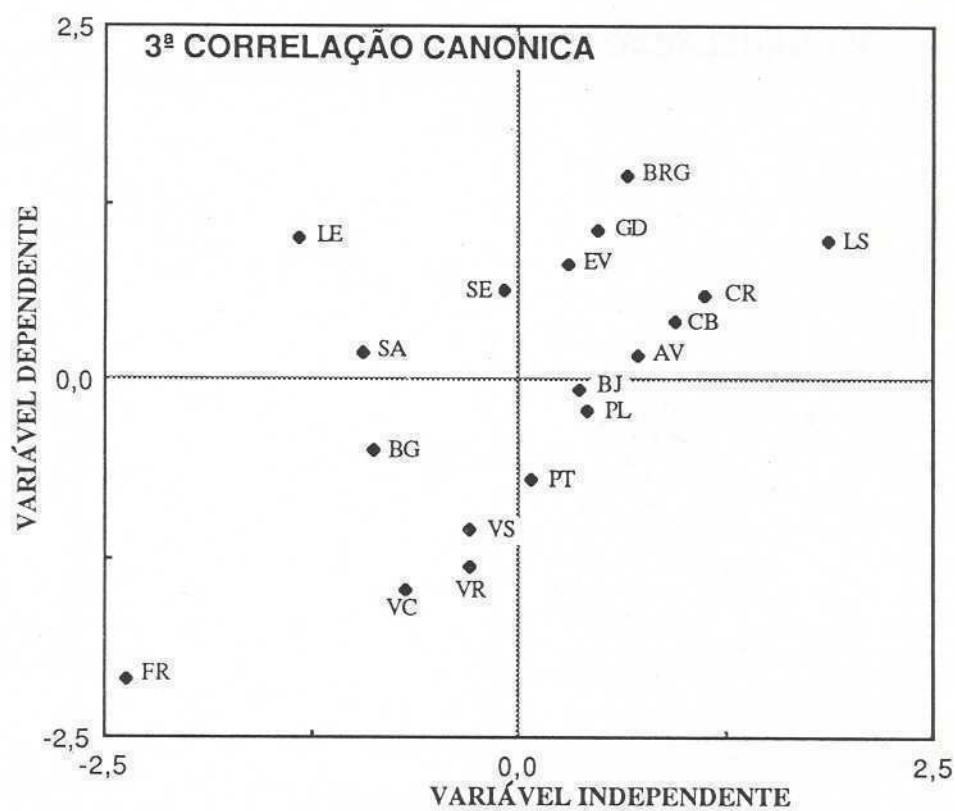
FIGURA A.8  
DIAGRAMA DE DISPERSÃO ENTRE O 2.º CONJUNTO DE VARIÁVEIS DEPENDENTES  
E O 2.º CONJUNTO DE VARIÁVEIS INDEPENDENTES



AV — Aveiro	EV — Évora	PT — Porto
BJ — Beja	FR — Faro	SA — Santarém
BG — Braga	GD — Guarda	SE — Setúbal
BRG — Bragança	LE — Leiria	VC — V. do Castelo
CB — C. Branco	LS — Lisboa	VR — Vila Real
CR — Coimbra	PL — Portalegre	VS — Viseu

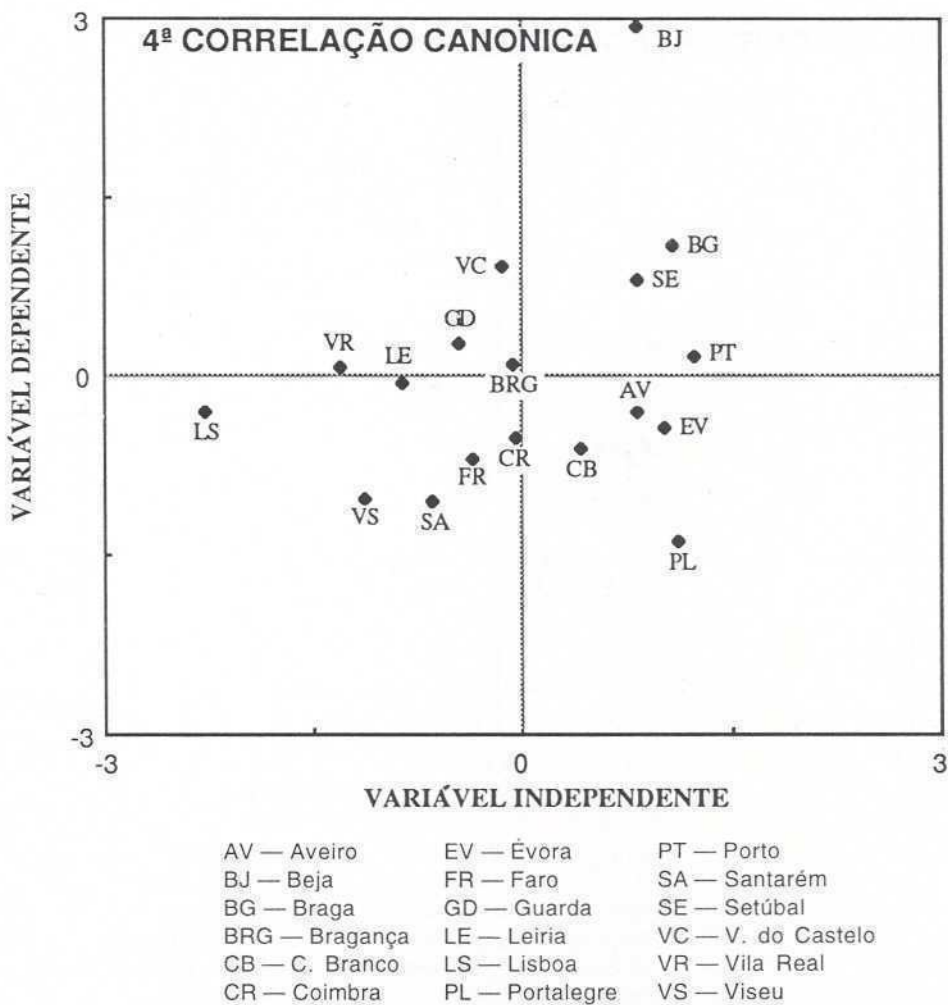
FIGURA A.9

DIAGRAMA DE DISPERSÃO ENTRE O 3.º CONJUNTO DE VARIÁVEIS DEPENDENTES E O 3.º CONJUNTO DE VARIÁVEIS INDEPENDENTES



- |                |                 |                    |
|----------------|-----------------|--------------------|
| AV — Aveiro    | EV — Évora      | PT — Porto         |
| BJ — Beja      | FR — Faro       | SA — Santarém      |
| BG — Braga     | GD — Guarda     | SE — Setúbal       |
| BRG — Bragança | LE — Leiria     | VC — V. do Castelo |
| CB — C. Branco | LS — Lisboa     | VR — Vila Real     |
| CR — Coimbra   | PL — Portalegre | VS — Viseu         |

FIGURA A.10  
 DIAGRAMA DE DISPERSÃO ENTRE O 1.º CONJUNTO DE VARIÁVEIS DEPENDENTES  
 E O 1.º CONJUNTO DE VARIÁVEIS INDEPENDENTES



# Biomarcadores: seu conceito actual e perspectivas de utilização

J. J. Amaral-Mendes, MD, PhD (London)\*

## RESUMO

A investigação sobre o impacto ambiental por compostos tóxicos nos últimos anos tornou possível a possibilidade de detectar e de quantificar alterações biológicas ocorrendo ao nível molecular, celular ou mesmo fisiológico. Estas medidas de resposta biológica são agora designadas por biomarcadores. Estas medidas de resposta biológica têm tido outras designações, como biomarcadores, medidas de resposta biológica, indicadores precoces de aviso e medições clínicas. Estes termos não têm sido convenientemente definidos, pelo que o uso do termo biomarcador inclui parte ou a totalidade daquelas designações. O termo biomarcador não se refere a um novo conceito, mas a um novo nome para um princípio de monitorização já aceite. Modernamente põe-se ênfase no novo conceito de biomarcadores por dois motivos. O primeiro, relacionado com o moderno progresso científico nas áreas da bioquímica, da citogenética e da biologia molecular e que tem levado a uma melhor compreensão dos mecanismos dos processos metabólicos envolvidos na interacção entre compostos químicos e o organismo. O segundo, relacionado com o desenvolvimento de novas análises que se tornaram mais sensíveis e selectivas. Ainda que a estratégia para a investigação e a avaliação das respostas biológicas esteja a ser desenvolvida em áreas de estudo, tal como os efeitos de exposição ambientais, análises de risco químico e estudos epidemiológicos, torna-se necessária uma discussão alargada a um maior número de investigadores com vista à validação e limitação do uso dos biomarcadores num contexto coerente para que possam ser faz uma revisão, do conceito actual de biomarcadores, (a) definição, (b) objectivos e aplicações, (c) o conceito de resposta dos biomarcadores, (d) finalidade do uso de biomarcadores, (e) relações dose-resposta e (f) potenciais usos futuros dos biomarcadores em estudos ecológicos e em saúde pública.

## SUMMARY

Ever since research on the environmental impact of chemicals started twenty years ago, measures of biological responses have been considered which would now be termed biomarkers. In principle they are the most cost-effective means to detect environmental/chemical loads affecting the ecosystems and exceeding the intensity of natural adaptational variability. Their usefulness in the field of Public Health is thus obvious.

Well known examples of biomarkers are cholinesterase inhibition in brains of fish with possible neurotoxic effects, egg-shell thinning as an indicator of reproductive effects in birds due to pesticides and MFO — enzyme induction as a parameter for general biochemical impairment. Terms such as bioindicators, measures of biological responses, early warning indicators and clinical measures have been used as synonyms of biomarkers. This term does not refer to a new concept but is just a new name for a monitoring principle already in existence.

More emphasis is now put on the approach than previously due to two major developments: a) first, the recent scientific developments in fields like biochemistry, molecular biology and immunology, have led to an improved understanding of the mechanisms and processes involved in interactions between xenobiotics and organisms; b) second, the development of new and improved analytical techniques, such as modulation of gene expression, genetic polymorphism iso-enzymes, mechanisms of bioactivation of chemicals and many other molecular events in cells and tissues relevant to the pathogenic processes which may occur as a consequence of chemical exposure.

## Introdução

O conceito para o uso de biomarcadores biológicos na avaliação dos riscos ambientais

tem recebido particular atenção a nível internacional e está a ser objecto de inúmeros projectos de investigação em todo o mundo. Este interesse resulta da necessidade de manter o ambiente limpo tanto quanto possível com os recursos existentes. Dado que os custos de limpeza do ambiente são cada vez mais elevados, existe necessidade de se encontrar uma estratégia prática e eficaz que defina as prioridades de

\* Prof. Associado da Universidade de Évora, Instituto de Anatomia de Coimbra e colab. do Instituto Nacional de Saúde

actuação e ajude a definir uma legislação reguladora. De um ponto de vista de sanidade ambiental, uma solução prática para correcção de determinada situação deve permitir que os organismos que vivam num dado ecossistema possam suportar a contaminação existente mantendo os seus níveis de homeostase.

Ao nível da monitorização ambiental tem-se realizado já muito trabalho na determinação de níveis de resíduos, especialmente metais pesados e compostos organoclorados ou organofosforados. Existe, contudo, necessidade de estudos que elucidem a quantificação da exposição a compostos químicos ou da análise do significado biológico dessa exposição, porque uma exposição não pode ser imediatamente quantificada pela medição da concentração dos contaminantes nos tecidos, dado que muitos agentes tóxicos não se acumulam pois são rapidamente metabolizados. Mesmo no caso de contaminantes persistentes, a medição dos seus níveis num dado momento não representa o padrão de exposição que conduz a esses níveis. A relação entre concentração nos tecidos e a resposta tóxica é complexa e ainda mal compreendida. A análise do significado da exposição a uma mistura de compostos é ainda mais problemática, devido à ocorrência de possíveis interacções de carácter sinérgico ou antagonístico que invalidem predições com base na toxicidade individual de cada composto.

Os biomarcadores podem mostrar que os compostos ambientais penetram no organismo, atingem os alvos de acção tóxica e produzem um efeito específico. Neste contexto o organismo funciona como um integrador da exposição, condicionado por factores fisiológicos e abióticos que modulam a dose do tóxico recebido do ambiente. Os biomarcadores biológicos podem ser utilizados para quantificar uma exposição a agentes nocivos ou detectar a resposta a agressões ambientais.

Um princípio informativo para quantificar uma exposição e o seu impacto potencial consiste na biomonitorização de parâmetros escolhidos (end points) em animais ou plantas selvagens como indicadores de exposição e efeito dos contaminantes ambientais. A definição de biomarcadores tem variado bastante. Num Seminário de Investigação Avançada organizada pela NATO sobre «Strategy for Biomarker Research and Application in the Assessment of Environmental Health», realizada em junho de 1990<sup>(1)</sup>, foi adoptada a seguinte definição:

- Uma alteração num sistema biológico que pode ser relacionada com uma exposição a, ou com um efeito de, um composto ou compostos ambientais.

Esta definição envolve um conceito mais geral do que a definição dada pela National Academy of Sciences<sup>(2)</sup>:

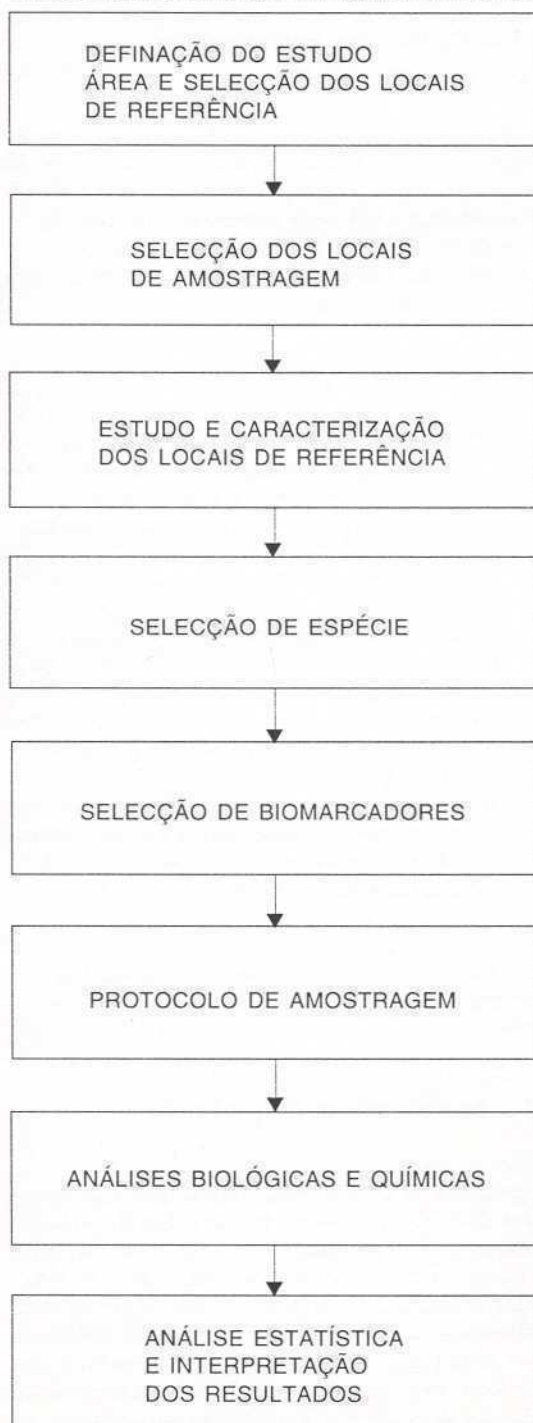
«Um biomarcador é uma variação induzida xenobioticamente nos componentes ou processos celulares ou bioquímicos, estruturas ou funções que sejam mensuráveis num sistema biológico ou numa amostra».

Ainda que os sistemas biológicos se possam escalonar desde as respostas moleculares, através dos processos bioquímicos e fisiológicos, até alterações de comportamento ou mesmo composição das espécies envolvidas, o objectivo deste artigo é ocupar-se principalmente do nível molecular até fisiológico, pois o desenvolvimento de uma biomonitorização baseada em biomarcadores é complicada por um vasto leque de questões técnicas. Porque além da necessidade de se desenvolver e validar uma bateria de biomarcadores, torna-se necessário um acordo da comunidade científica internacional sobre correcta interpretação e aplicação de biomarcadores nos estudos de análise ambiental.

## **I — Objectivos e âmbito de aplicação dos biomarcadores**

O desenvolvimento da tecnologia nos últimos anos tem permitido a detecção e a quantificação de alterações biológicas que se dão ao nível molecular, celular e fisiológico, na sequência da exposição a substâncias químicas ambientais. A investigação sobre o impacto ambiental, tem utilizado medidas de resposta biológica que têm sido designadas por biomarcadores. Dos exemplos mais conhecidos podem citar-se a inibição da enzima colinesterase no cérebro de peixes como indicadores de possíveis efeitos neurotóxicos ou o adelgaçamento das cascas de ovos com um indicador de efeitos reprodutivos em aves<sup>(3)</sup>. Aquelas respostas biológicas, tem sido designadas como «bioindicadores», «medidas de resposta biológica», «indicadores precoces de aviso», «medições clínicas», mas sem, contudo, terem sido definidos. A definição já vista atrás, inclui parte ou a totalidade das medições referidas. O termo biomarcador não se refere a um conceito novo mas a um novo nome para um princípio de monitorização já em existência.

FIG. 1  
ETAPAS MAIS IMPORTANTES DE UM  
PROGRAMA COM BASE EM BIOMARCADORES



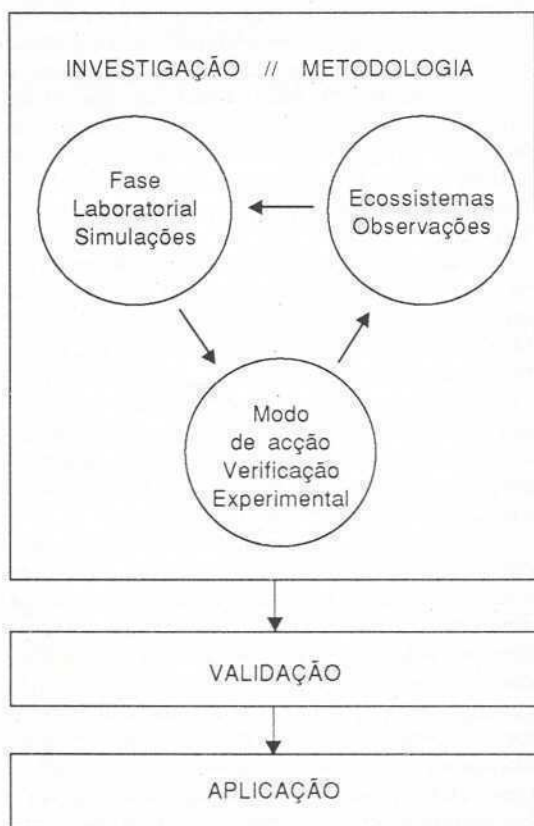
O recente desenvolvimento e popularidade dos biomarcadores em investigação na área do ambiente deve-se a dois factores principais: a) ao progresso científico na área da bioquímica e da biologia molecular que permitiu uma melhor compreensão dos mecanismos e processos envolvidos na interacção entre compostos e organismos, b) ao desenvolvimento de novas tecnologias analíticas que permitiram uma considerável melhoria na detecção e medição dos poluentes ambientais; isto é, as novas metodologias tornaram-se mais sensíveis e mais específicas.

Fundamentalmente, processos básicos que não podem ser medidos ou analisados devidamente podem agora ser estudados recorrendo a técnicas como a modulação da expressão genética, polimorfismo genético das isoenzimas, elucidação dos mecanismos da bioactivação das substâncias químicas e muitos outros eventos moleculares nas células e nos tecidos relevantes para o processo patogénico resultante de uma exposição a um composto químico.

Como foi referido anteriormente, os biomarcadores podem ser utilizados para medir um vasto leque de respostas à exposição a tóxicos ambientais, ao nível molecular, bioquímico, celular ou tecidual. Respostas ao nível fisiológico, como a capacidade de crescimento, ao nível comportamental, como a alteração dos hábitos de nidificação, ou a nível populacional, como as alterações na frequência genética de uma população que confere resistência aos pesticidas, são consideradas como biomarcadores. Alguns biomarcadores, como as metalotianinas que não têm relação directa com o mecanismo da toxicidade, são utilizados unicamente para dar indicação que houve uma exposição a compostos, mas não podem ser utilizados para dar uma predição segura dos efeitos tóxicos sobre o organismo. Noutros casos concretos, os biomarcadores medem as interacções tóxicas do nível molecular, como é o caso da inibição da actividade da colinesterase do cérebro por compostos organofosforados, e essas medidas são de grande utilidade uma vez que podem constituir predição dos efeitos tóxicos sobre o organismo, e por extrapolação, predizer efeitos ao nível dos indivíduos de uma população.

Ainda que os biomarcadores sejam um instrumento indispensável para investigar os efeitos dos compostos tóxicos sobre os sistemas biológicos nos laboratórios, o seu interesse principal é hoje em dia o estudo dos efeitos no

FIG. 2  
INVESTIGAÇÃO DA RELAÇÃO CAUSAL  
DOS AGENTES TÓXICOS E SEUS EFEITOS,  
BASE CONCEPTUAL DOS BIOMARCADORES



ambiente natural. Onde os níveis dos compostos ambientais são conhecidos os seus efeitos que podem ser medidos em diferentes níveis de organização biológica. É assim possível estabelecer uma interrelação entre os estudos laboratoriais e as observações na natureza. É sobretudo importante para a aplicação de novas técnicas laboratoriais no desenvolvimento de biomarcadores que podem medir as respostas em diferentes pontos da hierarquia biológica e ao longo da cadeia de acontecimentos que medeia entre a ocorrência ao nível molecular até à manifestação tóxica última que pode mesmo ser a morte de um organismo. Se um biomarcador é específico pode revelar a presença de um composto determinado, como é, por exemplo, o uso da coagulação anormal das proteínas do sangue que pode constituir prova da exposição

a rodenticidas anticoagulantes relacionados com a cumarina.

## II — Como se caracterizam os biomarcadores

Nas definições de biomarcadores anteriormente referidas <sup>(1,2)</sup> o biomarcador é considerado como alteração num sistema biológico que pode ser relacionada com uma exposição, ou um efeito, resultante de uma exposição a tóxicos químicos ambientais. Esta definição leva em conta três aspectos importantes:

- a) A designação de «sistema biológico» pode ir do nível molecular, através do bioquímico e das respostas fisiológicas, até às alterações de comportamento ou mesmo à composição das espécies. Como foi referido anteriormente, é posto maior ênfase nas alterações do nível molecular ao fisiológico, porque é a esses níveis que o desenvolvimento das tecnologias analíticas permite maiores progressos. Contudo, a investigação ao nível das populações, das comunidades ou dos ecossistemas, também é válida;
- b) O termo «biomarcador» limita aquelas alterações que são causadas por compostos tóxicos;
- c) Não se torna necessário a compreensão do modo de acção tóxica ou da «causalidade», ainda que seja desejável, como componentes necessários para todos os biomarcadores.

Para uma melhor sintaxe da problemática dos biomarcadores são necessárias algumas definições.

### 1 — Biomarcadores de exposição

São os que identificam que uma exposição a um composto teve lugar mas para a qual não existe um demonstrado efeito tóxico adverso; incluem aqueles que respondem à presença de certa classe de tóxicos químicos, mas não dão informação adicional sobre os possíveis efeitos adversos no organismo; a exposição inicial de um organismo reflecte-se ao nível molecular dos tecidos alvo, quer por activação ou por inibição de certas proteínas e sistemas enzimáticos os

quais podem incluir as metalotianinas ou as enzimas do sistema MFO (Mixed Function Oxidative System).

## 2 — Biomarcadores de efeito

São aqueles que indicam que tanto a exposição como o efeito tóxico tiveram lugar; estes biomarcadores indicam o impacto real sobre a saúde denunciando um precursor precoce do processo patológico, como seja a produção de macromoléculas nocivas, lesões celulares ou tecidulares uma reduzida capacidade de crescimento, reprodução ou de sobrevivência; ainda que se definam biomarcadores de exposição e de efeito, eles representam uma sequência de respostas do organismo aos tóxicos químicos, pelo que esta classificação depende da maneira como os efeitos são definidos; é uma classificação indispensável para distinguir as situações de exposição das situações em que os efeitos são observados;

## 3 — Biomarcadores de susceptibilidade

São respostas usadas como instrumentos para avaliar as limitações inatas ou adquiridas de um organismo em face de uma exposição a um composto tóxico.

## 4 — Efeito tóxico

É definido como a resposta de um organismo a um ou mais compostos e que resulta numa reduzida capacidade de crescimento, reprodução ou sobrevivência.

## III — Os biomarcadores e a monitorização química

A utilização de biomarcadores é usualmente complementar da análise química. Nos programas de monitorização química é conhecida quer a identificação do composto quer os seus níveis atingidos no ambiente. Uma vez conhecido o composto em causa, são seleccionados os biomarcadores adequados para determinar a possível ocorrência e a dimensão dos efeitos. Pode dar-se a situação inversa, isto é, a utilização de certos biomarcadores pode dar a indicação da

existência de um problema potencial que sugere a utilização de certas classes de compostos e que uma posterior análise química confirmará. Os biomarcadores nestas circunstâncias podem orientar o recurso à análise química e reduzir os custos.

As determinações químicas do meio ambiental são sensíveis, específicas e quantitativas. Pelo contrário, o significado biológico da concentração de um composto medido na água, no ar ou nos alimentos não é muitas vezes compreendido. Unicamente é conhecida a acção tóxica de alguns dos milhares de compostos que poluem o ambiente, e praticamente não existe informação disponível sobre o efeito das misturas complexas de várias substâncias tóxicas. Menos ainda se conhece sobre a interrelação dos factores adversos ambientais («stressors») com a susceptibilidade do organismo aos tóxicos ambientais.

Uma monitorização química é como uma imagem instantânea no tempo e no espaço. A variação das concentrações no tempo, resultam de intermitentes descargas de efluentes, de alterações do vento ou do volume de águas e só podem ser levadas em consideração através de repetidas análises. A distribuição espacial do padrão de contaminação requer uma amostragem extensiva e dispendiosa, além da necessidade de uma análise química.

As vantagens significativas a longo termo que os biomarcadores permitem na monitorização da contaminação ambiental, compensam amplamente as desvantagens das limitações do seu uso em observações a curto termo.

## IV — A determinação dos níveis de resíduos tóxicos

Ainda que os testes de toxicidade tenham sido utilizados para quantificar os efeitos nocivos de substâncias químicas, das misturas de diferentes compostos, nos efluentes e nos sedimentos, existem grandes limitações a essa utilização:

- a) o número de espécies disponíveis para os testes de rotina é limitado e muitas vezes, essas espécies não são as mais indicadas para as situações a estudar<sup>(5)</sup>;
- b) a maioria dos testes são a curto termo e os testes de longa duração são caros;
- c) dois aspectos fundamentais não são geralmente levados em linha de conta, a acumulação dos tóxicos na cadeia alimentar e a

disponibilidade metabólica de um composto para atingir o organismo alvo<sup>(4)</sup>.

A medição dos níveis nos tecidos é o método escolhido como indicador de exposição aos compostos persistentes, como os metais e certas classes de compostos orgânicos como organoclorados. Estas medições não são, contudo, possíveis se as substâncias são rapidamente metabolizadas, como é o caso dos hidrocarbonados aromáticos polinucleares. Além disso, as misturas de compostos requerem bastante tempo e são muito caras e, por vezes, não conseguem identificar todos os compostos. Há que contar ainda com a relação entre os níveis de concentração nos tecidos e os efeitos tóxicos que não são completamente conhecidos.

## **V — A justificação da aplicação dos biomarcadores**

Os biomarcadores são utilizados para identificar os locais e as circunstâncias nos quais os compostos tóxicos ambientais provocam efeitos biológicos. Espécies apropriadas ou espécies sentinelas são seleccionados nas áreas poluídas para serem alvo dos testes com biomarcadores. Outras alternativas de estudo são a utilização de organismos em espaço contentorizado, nos rios, nos lagos ou no mar, a utilização de água, sedimentos ou amostras de solo para ensaios em condições laboratoriais.

Na metodologia da aplicação dos biomarcadores podemos considerar quatro situações, a monitorização a longo termo, os ensaios de campo, a identificação do mecanismo toxicológico e na identificação dos compostos tóxicos:

- a) Os estudos a longo termo são levados a cabo para estabelecer valores de base, têm o respectivo intervalo de variação normal, para determinadas espécies ou certas áreas; áreas não poluídas podem ser consideradas sensíveis a determinados compostos e terem de ser observadas por largos períodos de tempo; além dos valores base, os biomarcadores são úteis para controlar as alterações de um ecossistema as quais devem ser relacionadas com os possíveis aumentos de poluição química; este objectivo pode ser atingido com o estabelecimento prévio de um banco de amostras biológicas, sangue, fígado ou ossos,

das espécies sentinelas. A escolha dos biomarcadores é determinada pela identificação dos compostos tóxicos detectados, pelo que uma selecção de uma combinação apropriada de biomarcadores é aspecto importante e discutido mais à frente. Um dos aspectos mais úteis dos estudos a longo termo é a recuperação das populações na sequência da redução dos níveis de poluição;

- b) Os biomarcadores são particularmente úteis na recolha de informação nos ensaios de campo com os pesticidas ou outros compostos ambientais, ou no estudo dos efeitos tóxicos sobre o mesocosmos; em todas as situações os compostos tóxicos ou os seus níveis de concentração são conhecidos, pelo que a selecção dos biomarcadores apropriados pode ser planeada; o estudo com biomarcadores, deve ainda ser integrado nos estudos dos resíduos ou com os estudos ecológicos;

- c) A identificação dos organismos ou das populações em risco depende da vulnerabilidade das espécies aos poluentes contaminantes. Um primeiro aspecto a considerar é a probabilidade da espécie vir a ser exposta ao poluente o qual pode ser esclarecido, através da monitorização química nos habitats onde as espécies vivem. Um segundo aspecto está em relação com a sensibilidade extrínseca da espécie, pelo que os biomarcadores desempenham aqui um papel indispensável, pois nos indicam se a espécie é susceptível, ou se tem o potencial de bioactivar certos compostos em metabolitos tóxicos conhecidos por provocarem certos efeitos. Esta metodologia implica um estudo dos padrões de biotransformação das enzimas e a inducibilidade específica de certos iso-enzimas. É revelante para o conhecimento dos mecanismos da acção toxicológica de certos compostos a variação entre as espécies, sendo particularmente significativa a interacção de um composto ou de um seu metabolito com os alvos receptores envolvidos na resposta biotoxicológica. De uma maneira geral, a sensibilidade das espécies tem sido determinada numa base empírica através de testes laboratoriais, pelo que terá de ser substituída pela moderna metodologia baseada nos mecanis-

mos da acção toxicológica a nível molecular;

- d) Os biomarcadores podem ajudar na identificação dos compostos tóxicos que provocam efeitos deletérios quer a nível ambiental quer nos seus mecanismos de acção; neste caso particular, é importante a especificidade dos biomarcadores em relação ao composto objecto de estudo, pelo que a selecção de uma bateria de biomarcadores adequada pode dar muito mais informação sobre a natureza do poluente ou de uma combinação de poluentes.

## VI — A metodologia da utilização dos biomarcadores

A utilização de uma bateria de biomarcadores é uma solução única para os estudos de toxicidade ambiental, dado que fornecem informação sobre a absorção de um composto e da resposta biológica que provoca. Como os compostos exercem a sua acção sobre determinados receptores os biomarcadores podem fornecer uma indicação precoce sobre a exposição e os seus efeitos, o que permite que sejam tomadas medidas de carácter correctivo.

Os biomarcadores podem ser utilizados como instrumentos sensíveis e económicos para um largo espectro de estudos de triagem para determinar se existe alguma prova da actividade antropogénica. Se num primeiro teste um biomarcador geral sugere um problema potencial, um segundo teste pode ser encontrado com um biomarcador mais específico para a resposta toxicológica em estudo.

### A — A relação entre a exposição e os efeitos tóxicos

O efeito tóxico da exposição de um organismo a um composto está dependente da sua biodisponibilidade, a rota de exposição, do nível do composto e do tempo da exposição. As primeiras reacções de um organismo a um tóxico dão-se ao nível molecular e celular dos órgãos alvo ou dos tecidos, antes que os efeitos se exprimam a um nível mais elevado da organização biológica. Mecanismos subletais de compensação ou reconstituição podem evitar uma lesão durante um largo período de exposição aos tóxicos até que os mecanismos reguladores da célula são des-

truídos. Estudos dos efeitos a um nível mais elevado da organização biológica podem ser feitos recorrendo a biomarcadores específicos, como é o caso da redução do crescimento ou da fecundidade, aumento da mortalidade e diminuição da diversidade e da abundância de espécies.

Numa área poluída constata-se uma variação individual da susceptibilidade toxicológica que depende de vários factores como, o genótipo, o desenvolvimento ontogénico e os antecedentes ambientais. Estes aspectos obrigam a que sejam utilizadas baterias de biomarcadores, para identificar as diferenças individuais no decurso de uma observação dos efeitos lesivos resultantes da exposição de uma população a tóxicos ambientais e que sejam a expressão dos fenómenos de compensação, de reconstituição e das várias fases do processo patológico. estes aspectos são desenvolvidos à frente.

### B — Os indicadores gerais e os indicadores específicos

As reacções a uma exposição a um determinado composto ou classe de compostos são geralmente mais específicas ao nível molecular ou celular. Estão neste caso, a inibição da enzima ALAD (Delta-amino levulinic acid dehydrogenase) que é um indicador específico do chumbo, ou a indução do citocromo P450 IA1 (uma das famílias do isoenzima P450), e que constitui resposta a contaminantes orgânicos como, por exemplo, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, ou a identificação de aductos de DNA ou de proteína a exposição a certos compostos específicos. A nível dos órgãos, isto é dos tecidos, os biomarcadores são mais integradores na resposta que dão, pelo que podem constituir prova das respostas a diferentes grupos de químicos, mas não são uma resposta específica para cada composto em especial. Um exemplo pode ser ilustrado com o DNA, cuja integridade pode ser afectada inespecificamente, quer por uma acção química, quer pela acção das radiações ionizantes quer por inibição do sistema de reconstituição («repair») do Sistema DNA. Do mesmo modo, a alteração da estabilidade das membranas dos sistemas digestivos lisosómicos ou de detoxificação pode ser provocado pela acumulação de metais pesados ou de compostos lipofílicos<sup>(7)</sup>. Por outro lado, a lesão das membranas de lisosomas pode ser causada por oxirradicais resultantes dos processos de biotransformação nos organitos celulares.

As alterações histopatológicas nos órgãos alvo indicam uma clara degenerescência devido à acumulação de complexas misturas de contaminantes e que se traduzem morfológicamente por acumulação de lípidos, necrose, cirrose, lesões pré-neoplásicas, tumores benignos e tumores malignos. As alterações patológicas originadas pela concentração dos vários contaminantes no organismo, numa área contaminada, em comparação com uma área de controlo, o estabelecimento de gradientes de contaminação ou de acumulação dependem do tempo e são resultado da acção de compostos tóxicos ou genotóxicos. Estes índices biológicos ou biomarcadores podem ser parâmetros integradores para o estudo dos efeitos lesivos de uma mistura complexa de xenobióticos ambientais.

Os efeitos biológicos, quer a nível individual, quer populacional ou da comunidade, são menos específicos e são profundamente afectados pelos tensores ambientais. Efeitos nas populações, como as flutuações da abundância e da diversidade, são complexos e difíceis de analisar. É, no entanto, de importância demonstrar que as alterações nas populações são devidas a compostos tóxicos. A interpretação e a diferenciação entre efeitos ecológicos e tensores ambientais naturais e xenobióticos ambientais, pode ser conseguida relacionando certos parâmetros da população, com baterias de biomarcadores seleccionados, quer com biomarcadores integradores, quer com a taxa total acumulada no organismo de certas espécies sentinelas. Os biomarcadores sensíveis, desde o nível molecular ao nível dos órgãos alvo, podem estabelecer a relação causal entre os tóxicos ambientais e os efeitos ecológicos ao nível populacional ou da comunidade. Deste modo, só uma metodologia multidisciplinar, interrelacionando as respostas dos biomarcadores com as concentrações dos compostos biodisponíveis, medidos no organismo, pode estabelecer a relação causa-efeito nos vários níveis da organização biológica.

#### **C — A limitação na utilização dos biomarcadores**

A monitorização química tem uma utilização muito mais antiga que os biomarcadores. Mesmo os biomarcadores mais bem estudados e validados não têm ainda comparação com os métodos tradicionais indicadores de uma exposição, como é o caso da análise da concentração química ou

os testes usuais de toxicidade. Uma excepção é o uso da inibição da enzima colinesterase que tem sido utilizada simultaneamente para a análise da exposição e do efeito dos insecticidas organofosforados e dos carbamatos. De acordo com a actual experiência na interpretação da biomonitorização com base em biomarcadores, muitos destes biomarcadores devem ser primariamente considerados indicadores qualitativos de exposição e de efeito. O significado das respostas dos biomarcadores deve ser interpretado na medida em que eles se correlacionam com os indicadores de exposição que estão já melhor documentados. Isto não invalida a informação dada pelos biomarcadores que permitem não só mais informações, mas igualmente podem apoiar dados já conhecidos, como por exemplo, as concentrações dos compostos no ambiente.

#### **D — Exigências na utilização dos biomarcadores**

A utilização regular de alguns biomarcadores requer a compreensão dos mecanismos básicos envolvidos numa dada resposta biológica, bem como a compreensão da natureza da exposição a um dado composto. Este aspecto pode ser ilustrado por dois exemplos:

- 1) Num processo patogénico avançado, o MFO é um biomarcador inadequado, pois é inútil numa degenerescência gorda do fígado, numa neurose ou num processo em evolução carcinogénica; tornam-se necessários biomarcadores caracterizando cada etapa do processo patológico;
- 2) Os hidrocarbonetos naturais produzem níveis elevados de aductos DNA que podem mascarar a detecção dos aductos produzidos pelos poluentes ambientais e impedir a sua utilização como biomarcadores. Torna-se, por isso, necessário o conhecimento dos níveis de aductos produzidos naturalmente, ou seja, um fundo natural (background) de aductos.

#### **E — As perspectivas na utilização dos biomarcadores**

A Investigação no domínio dos biomarcadores tem-se centrado sobretudo em ambientes aquáticos, marinhos ou fluviais. Em ambientes terres-

tres, a investigação tem recorrido sobre-tudo a aves, havendo contudo indicações, a partir de experiências laboratoriais biomédicas com roedores e com coelhos, de que os biomarcadores podem ser extensíveis a outras espécies terrestres<sup>(6)</sup>. O assunto reveste especial importância porque as condições de exposição nos ecossistemas terrestres são, não só mais difíceis de controlar do que nos sistemas aquáticos, como ainda a experiência de base em animais terrestres é ainda muito limitada.

As medições das respostas com biomarcadores contêm um potencial de informação que não é possível obter a partir da medição da concentração de compostos no meio ambiente ou no organismo. Os biomarcadores podem demonstrar que um organismo foi exposto a um tóxico, a níveis que excedem a sua capacidade normal de detoxificação ou de recuperação. Esta demonstração é fundamental para estabelecer uma relação entre a exposição a um tóxico e os efeitos ecológicos relevantes. No entanto, as limitações do nosso conhecimento acerca dos mecanismos de toxicidade não permitem uma interpretação inequívoca das respostas dos biomarcadores.

Os custos do uso de biomarcadores compararam-se favoravelmente com os da análise química. Pode ilustrar-se, por exemplo, com a medição da indução da hidroxilase aril hidrocarbónica para calcular os equivalentes de dioxina, de preferência à análise química clássica dos PBC's PCDF's e dos PCD's. Muita metodologia dos biomarcadores poderia ser simplificada e consequentemente reduzidos os custos recorrendo-se ao equipamento automatizado das análises químicas. Equipamento sofisticado como os espectrofotómetros de investigação ou os fluorímetros não é necessário para os biomarcadores de enzimas. Alguns dos testes podem ser facilmente adaptados aos analisadores de centrifugação automatizados, que são de uso de rotina nas análises de sangue humano ou veterinário. Do mesmo modo, o desenvolvimento de anticorpos monoclonais pode substituir com vantagem os sofisticados e demorados métodos de quantificação de metabolitos ou de proteínas, substituindo-os por «Kits» ELISA, simples e rápidos. Não tem havido até agora grande motivação para a implementação daquela moderna tecnologia, que certamente virá com o interesse na aplicação da filosofia dos biomarcadores em programas de investigação ambiental.

## VII — A base conceptual dos biomarcadores

O desenvolvimento científico nos últimos anos veio permitir a possibilidade de detectar e quantificar alterações biológicas do nível molecular ao nível fisiológico e que antes não eram possíveis. A investigação para um melhor aperfeiçoamento da avaliação da resposta biológica é um objectivo em vários domínios, desde a toxicologia ambiental, à análise de risco químico, até à epidemiologia bioquímica. O estudo das bases científicas e da validação dos biomarcadores foi já referido anteriormente. Alguns aspectos adicionais necessitam de ser analisados em maior detalhe, como seja o conceito de resposta dos biomarcadores, as considerações sobre a sua utilização e perspectiva futura dessa utilização.

### A — A relação dose-resposta

O fundamento base da investigação toxicológica é a relação dose/resposta, isto é qualquer exposição a um determinado nível de composto tóxico dá origem a uma resposta biológica específica. As relações dose/resposta têm sido usualmente determinadas em ensaios laboratoriais recorrendo a populações de animais seleccionados e expondo-os a diferentes concentrações de um determinado composto. As curvas dose-resposta obtidas em condições laboratoriais são assim reproduzíveis.

Nos últimos anos verificou-se contudo que os efeitos subletais são indicadores de toxicidade muito mais sensíveis<sup>(8)</sup>. Por outro lado, os ensaios de exposição a longo-termo (crónicos), tem-se aperfeiçoado também bastante, o que permite a uma sua mais rápida utilização que antigamente. Este aspecto pode ser ilustrado com a *Ceriodaphnia*, cuja utilização em ensaios laboratoriais a curto termo, permitiu predizer efeitos subletais em organismos mais elevados<sup>(9)</sup>. Através de uma amostragem não destrutiva de tecidos ou fluídos orgânicos tem sido possível a realização de estudos subletais ao nível fisiológico de todo o organismo<sup>(10)</sup>. Com um sistema complementar de análise, através de técnicas adequadas é possível a detecção de alterações toxicológicas mais localizadas no organismo, as quais podem ser consideradas como biomarcadores de efeitos toxicológicos.

Ao contrário das populações seleccionadas das experiências laboratoriais as populações

naturais estão expostas a misturas de compostos e não a um único composto. Estão, além disso, submetidas a factores ambientais que não existem nas experiências laboratoriais, como seja, o calor, o frio,, deficiências de alimentação ou à acção dos seus predadores ou da sua própria actividade predatória. No interior das populações naturais, cada indivíduo tem uma resposta diferente em relação ao ambiente e que depende da variabilidade genética, da idiosincrasia individual, do estudo de nutrição e de outros factores microambientais.

A interacção de tensores ambientais e as exposições múltiplas alteram as respostas dos biomarcadores. Um exemplo clássico é a exposição de peixes a dois hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em sequência. Em primeiro lugar a exposição ao 3-metilcolantreno (3-MC), um indutivo da função composta oxidase (MFO) e em segundo lugar ao benzopireno (BaP), um carcinogénico genotóxico. Os peixes expostos nesta sequência desenvolvem duas vezes o número de aductos DNA em relação aos peixes que foram só expostos ao BaP sem a exposição prévia ao 3-MC <sup>(11)</sup>. A pré-exposição ao 3-MC dá como resultado uma estimulação do Sistema MFO, o qual por sua vez vai metabolizar o BaP com a produção de um reactivo intermediário que se liga ao DNA por uma ligação covalente. Os tensores ambientais produzem o mesmo efeito, pois que os peixes expostos a uma solução de BaP e submetidos depois a um rápido aumento de temperatura, levam à produção de um nível de aductos cinco vezes mais elevado que os peixes que foram expostos a uma solução de BaP sem aumento de temperatura <sup>(12)</sup>. Os processos fisiológicos naturais também podem afectar as relações dose/resposta dos biomarcadores, como é o caso das elevadas concentrações de estradiol associadas a uma actividade reprodutora das fêmeas que reduz os aumentos dos níveis do sistema MFO provocados por uma contaminação de poluentes. <sup>(13)</sup>

Em qualquer cenário ambiental, várias relações dose/resposta são possíveis, mas para cada exposição particular existe uma diferente relação. Em populações expostas a um ambiente natural, não existe portanto uma simples curva dose/resposta mas antes um conjunto de curvas, cada uma correspondendo a diferentes combinações de interacção dos tensores ambientais com os xenobióticos ambientais, pelo que não é possível escolher-se uma curva padrão para avaliar os efeitos biológicos adversos de um composto.

O estudo de organismos no ambiente natural põe em questão os modelos laboratoriais experimentais, onde a dose experimental é avaliada isolada das outras variáveis. De um ponto de vista teórico, se no ambiente natural as diferentes variáveis fossem mantidas constantes, seria possível obter uma relação dose/resposta fossem mantidas constantes, seria possível obter uma relação dose/resposta reproduzível para cada situação. Num organismo sujeito a múltiplos contaminantes ou a vários acontecimentos ecológicos é de esperar uma progressiva e maior resposta dos biomarcadores ao aumento de exposição a um simples tóxico. No entanto, estas relações dose/resposta de exposição podem ser completamente diferentes das relações dose/resposta de um organismo da mesma espécie não sujeito aos tensores ambientais.

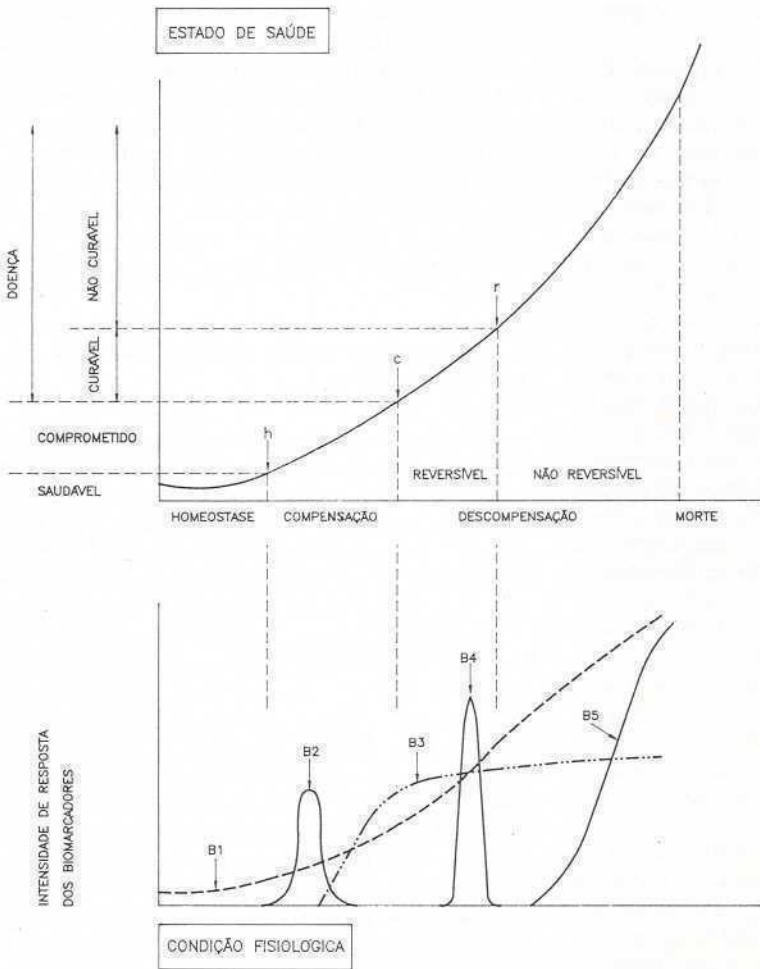
O não estabelecimento de uma correlação directa, entre uma exposição a um poluente e o efeito biológico produzido, pode levar a dificuldades na introdução de uma legislação reguladora a nível internacional. Pode dar-se o caso, por exemplo, de uma exposição a contaminantes com um baixo nível de concentração não produzir imediatos efeitos visíveis, mas provocar antes insidiosos efeitos crónicos em populações animais. As análises de saúde ambiental devem ser preferivelmente baseadas em subtis alterações biológicas precursoras de efeitos mais graves. Torna-se necessário um conceito essencial de biomarcador que identifique as alterações precoces por organismos supostamente saudáveis, as quais são predicativas do aumento de risco no desenvolvimento de processos patológicos provocados pelos poluentes ambientais <sup>(14)</sup>.

## B — As alterações fisiológicas e os biomarcadores

A exposição contínua de um indivíduo saudável a um poluente tem como resultado uma progressiva deterioração do estado de saúde que se pode agravar e conduzir à morte. As alterações fisiológicas que o individuo vai suportando progressivamente, desde pequenas oscilações do estado de saúde que são perfeitamente compensadas pelos mecanismos de homeostase, até às grandes oscilações já no domínio da fisiopatologia, portanto irreversíveis, são ilustradas na Fig. 1 e está baseada num conceito desenvolvido por Depledge em 1989 <sup>(15)</sup>. Na Fig. 1 a curva mostra uma fase de homeostase, correspondendo ao

FIGURA 3

A CURVA SUPERIOR INDICA A POSSIBILIDADE DE RELAÇÃO ENTRE A PROGRESSÃO ENTRE A SAÚDE DE UM INDIVÍDUO PARA UM ESTADO DE DOENÇA E EVENTUALMENTE MORTE, COM GRAUS PROGRESSIVOS DE DETERIORAÇÃO DO ESTADO FISIOLÓGICO (DO MOLECULAR AO SISTÊMICO)



As curvas inferiores representam cinco respostas hipotéticas associadas às alterações fisiológicas da curva superior, cuja interpretação é a seguinte:

- B1 — Corresponde a um biomarcador da fase compensatória que indica estar um organismo debaixo de «stress», mas os sinais de doença não são visíveis, este biomarcador aumenta continuamente;
  - B2 — Corresponde a um biomarcador da fase compensatória que tem um pico abrupto e cai logo;
  - B3 — Corresponde a um biomarcador que sobe dramaticamente à medida que a fase não compensatória se aproxima;
  - B4 — Corresponde a um sinal característico da fase não-compensatória, e uma recuperação é ainda possível, o organismo é curável;
  - B5 — Corresponde a um biomarcador típico de um estado patológico que se agrava irremediavelmente;
- H — Limite da resposta homeostática normal;  
 C — Limite onde terminam as respostas compensatórias que evitam o aparecimento de doença;  
 R — Limite para além do qual as alterações patológicas são irreversíveis por mecanismos de reparação.

(Adaptado de Depledge, 1989)

indivíduo saudável, a que se segue uma fase de compensação, na qual o potencial de sobrevivência do organismo produz uma série de respostas aos tensores ambientais. Numa fase seguinte de não-compensação, existe ainda uma zona de reversibilidade onde é possível uma recuperação se as condições ambientais melhoram significativamente e rapidamente.

De um ponto de vista antropogénico, esta zona corresponde à intervenção médica e ao período da doença em que ela é ainda tratável. Na zona de irreversibilidade da fase de não-compensação ou de doença declarada e não curável o processo caminha inexoravelmente para a morte. As diferentes fases são marcadas por pontos que definem na curva as zonas de transição. Assim, o ponto (h) marca o início dos desvios para além das oscilações normais homeostáticas, o ponto (c) marca o limite das respostas compensadoras que podem ainda evitar o desenvolvimento da doença declarada, e finalmente o ponto (r) que marca o limite além do qual as alterações patológicas são irreversíveis pelos mecanismos de recuperação. Depledge introduziu o conceito de que os biomarcadores podem dar a indicação sobre se um organismo se encontra na parte da curva correspondente ao estado de saúde normal, isto é, se os mecanismos de homeostase não estão afectados, ou, em caso de agravamento do estado de saúde a uma exposição tóxica, se as respostas compensadoras já se estabeleceram, o que corresponde à diminuição do estado de saúde.

De um ponto de vista teórico, a curva do estado de saúde pode dar uma vista generalizada da relação entre as alterações subletais funcionais de um organismo e o desenvolvimento de um processo patológico, ou seja, o início da doença. Contudo, de um ponto de vista experimental, a demonstração é mais difícil, até porque a forma da curva pode variar individualmente dentro da espécie ou variar para cada espécie, pelo que existe na realidade uma variedade de relações complexas que levam ao desenvolvimento de uma curva. Na Fig. 1b, estão representadas hipotéticas respostas de biomarcadores detectáveis durante as várias fases de estudo fisiológico. Assim, B1 corresponderia a um biomarcador que nasceria na fase de homeostase e se agravaria progressivamente; B2 corresponderia especificamente a uma resposta dentro da fase de compensação, do mesmo modo que B3 que, no entanto, se manteria para além da fase de compensação, sendo uma resposta específica

na zona específica de reversibilidade, enquanto B5 seria já uma resposta terminal de uma condição irreversível.

Os biomarcadores podem desempenhar um papel importante na análise do estudo fisiológico de um organismo, em especial se um grupo de biomarcadores é característico do organismo para as diferentes fases ao longo da curva do estado de saúde. O princípio da utilização dos biomarcadores aqui definido desloca o ênfase da avaliação de uma resposta específica do tipo em relação com uma exposição a determinado composto para uma análise de respostas múltiplas em relação com uma mistura determinada de substâncias químicas, em combinação com os vários tensores ambientais.

### **C — Aspectos críticos na utilização dos biomarcadores**

Os conceitos de estado de saúde e de homeostase desenvolveram-se no contexto das ciências médicas. Como as ciências médicas e a toxicologia ambiental partilham o mesmo problema comum, a determinação do bem-estar de um organismo, o moderno conceito de biomarcadores pode ajudar bastante aqueles dois domínios de actividade científica. Em ambas as situações é indispensável a existência de testes específicos padronizados. As ciências médicas dispõem, no entanto, da enorme vantagem de uma vasta colecção de dados referentes às variações fisiológicas que são possíveis. Isto permite ao médico rapidamente identificar as medições que se encontram para lá da normal amplitude de variação fisiológica, ainda que o significado de muitas dessas variações a partir do estado normal de saúde não seja, por vezes, conhecido. Confrontado com uma dessas situações o médico naturalmente é motivado a prosseguir a investigação e a seleccionar mais testes adicionais para completar a sua análise clínica. Torna-se, portanto, necessário em ecotoxicologia ambiental organizar, para as espécies sentinelas, uma base de dados semelhante àquela que existe para a espécie humana.

Os biomarcadores são o instrumento ideal para se determinar quando uma dada condição fisiológica excede o intervalo da homeostase. Em oposição ao conceito de homeostase introduzido por Claud Bernard, «manutenção por um organismo de condições de relativa estabilidade interna em face de alterações ambientais adver-

sas», os vertebrados inferiores e a maioria dos invertebrados não têm uma homeostase como a dos mamíferos superiores, mas antes têm a tendência a conformar-se com as alterações ambientais, de acordo com Magnum and Towle<sup>(16)</sup>, «o efeito líquido num dado sistema fisiológico é a estabilidade ou a tendência para ela», pelo que aqui se considera o conceito de homeostase como a manutenção das funções do organismo. Isto implica que se torna indispensável para a concepção e interpretação de uma biomonitorização com base em biomarcadores, o conhecimento prévio dos valores normais desses biomarcadores. Porque um biomarcador isolado pode apresentar uma vasta gama de valores para um indivíduo exposto aos tensores ambientais correntes, tais como as variações diurnas do efeito das marés, variações sazonais e anuais, ou relacionadas com o desenvolvimento do próprio indivíduo, torna-se indispensável a organização de uma base de dados para que aquele biomarcador possa ser determinado. Além disso, torna-se necessário que, no interior de uma população de indivíduos saudáveis, a distribuição dos valores base dos biomarcadores, seja ela normal, biomodal, ou outra, deve ser determinada de maneira a que a resposta dos biomarcadores a uma situação anormal seja identificada.

Dado que a homeostase implica uma adaptação do organismo aos tensores ambientais, para que ela continue a funcionar, os biomarcadores de escolha serão aqueles que respondem a provocações xenobióticas, as quais podem ou não, resultar em efeitos adversos, e têm, portanto, de ser medidos como respostas para o intervalo da homeostase. Se a monitorização ambiental for usada como um instrumento de aviso precoce, os biomarcadores da zona de compensação são de interesse fundamental, antes que se dê o estabelecimento da doença declarada.

#### D — A hierarquia dos biomarcadores

Nos estudos de campo os biomarcadores são utilizados num sistema de patamares. Ainda que cada patamar («tier approach») tenha um objectivo específico experimental e esteja relacionado com o caso concreto de um dado local, pode-se considerar um conceito mais geral. Um primeiro patamar (tier one) pode incluir uma bateria de biomarcadores relativamente rápidos, económicos, do tipo de biomarcador químico ou de estudos de ecossistemas, para se analisarem as

necessidades de uma investigação mais exigente. No patamar seguinte (tier two) poderão ser seleccionados os indicadores sensíveis das respostas fisiológicas mais importantes a um vasto leque de compostos. Se um problema ambiental é detectado, haverá o recurso a patamares adicionais, de molde a identificar o composto responsável e de se registarem os efeitos ao nível dos ecossistemas. O último patamar (tier three) recorre a biomarcadores específicos que respondam especificamente a um dado composto ou a um grupo afim de compostos, de molde a identificá-los ou a excluí-los. O patamar final deve envolver a monitorização a longo termo utilizando biomarcadores que documentem uma recuperação, com testes químicos confirmatórios e outros estudos dos ecossistemas.

Alguns biomarcadores podem ser medidos com relativa facilidade e rapidez, fornecendo uma informação imediata e económica. São especialmente adequados para as monitorizações a longo-termo do ambiente e para a identificação inicial das áreas consideradas em risco. Parâmetros gerais de tensão como as reservas de energia total, análises hematológicas ou o equilíbrio iónico, podem integrar os efeitos dos tensores a que o organismo se encontra exposto, tornando assim aqueles parâmetros úteis na compreensão da susceptibilidade e do estado de saúde de um organismo. Medidas mais específicas da exposição a tóxicos, como a inibição do ácido delta-aminolevulínico (ALAD), a formação de aductos de DNA ou de hemoglobina, ou a inibição da enzima colinesterase, podem dar indicação sobre a classe de compostos a que o organismo esteve exposto, bem como sobre os mecanismos de acção tóxica e da sua evolução. O uso de uma bateria de biomarcadores num programa de investigação bem concebido pode contribuir para um melhor conhecimento das interacções entre os organismos e os compostos que poluem o ambiente.

Uma hierarquia ou um sistema de patamares ou um sistema de patamares de biomarcadores, têm uma utilidade variada dependendo das questões específicas que venham a ser postas por um dado estudo ou que correspondam a uma necessidade de monitorização. Alguns biomarcadores podem dar uma indicação directa sobre o estado de saúde ou robustez fisiológica de um indivíduo ou de uma população. Outros, ainda que respondendo de modo específico ou não específico, a uma exposição tóxica, podem não

ser predicativos de um mecanismo de toxicidade. Podem, contudo, ser úteis pela informação que permitem em relação a uma contaminação ambiental ou pela informação relacionada com a saúde ou robustez de um organismo ou de uma população. Outros biomarcadores pelo contrário podem simultaneamente reflectir uma exposição e uma alteração do estado de saúde.

O facto de que diferentes biomarcadores reagem a diferentes tensores, demonstra a vantagem de empregar uma bateria de biomarcadores para analisar o estado de saúde das espécies sentinelas. O sucesso de um programa de investigação depende da escolha da bateria de biomarcadores, que deve ser sempre adaptado às circunstâncias. No caso de uma investigação preliminar de um ecossistema ambiental, pode ser utilizado o princípio de uma grelha de biomarcadores e seleccionarem-se aqueles que correspondem a um largo espectro de possíveis doenças, e a diferentes níveis de organização biológica. Naqueles casos onde existem já estudos sobre o processo patológico a escolha de uma bateria de biomarcadores mais seleccionada pode levar à detecção de uma dada doença em evolução.

#### E — O papel dos tensores ambientais

Alguns biomarcadores só dão a indicação fora dos limites da homeostase se associados a outros parâmetros já conhecidos. Foi já referido anteriormente que baixos níveis de circulação de esteróides sexuais femininos e do nível sanguíneo de vitelogenina, em certos períodos de vida ou em certos períodos do ano correspondentes à desova, são indicadores da perda potencial da capacidade de reprodução, se medidos regularmente, durante o período de desova. É fundamental, pois, uma atitude crítica das condições em que as medições são feitas bem como dos valores obtidos.

A compreensão do mecanismo de acção dos biomarcadores é necessária para se estabelecer a relação causal, que em certos casos como a inibição da colinesterase é directa. Nos casos complicados torna-se indispensável incluir parâmetros moleculares, celulares ou patológicos para estabelecer uma relação causa/efeito. Este conceito leva ao desenvolvimento de uma cascata de técnicas aplicadas em fases sucessivas, como numa decisão de escolha de alternativas de vários trajectos («decision-tree approach»).

Toda esta filosofia se baseia no facto de que as alterações patológicas são o reflexo das alterações ao nível molecular nas células alvo. Como corolário a identificação destas alterações ao nível molecular é importante para o desenvolvimento dos biomarcadores de diagnóstico utilizados na análise do impacto ambiental.

A utilização de uma bateria de biomarcadores moleculares e celulares associada ao conhecimento da patologia sistémica tem o potencial de revelar diferenças biológicas significativas entre organismos de áreas contaminadas e das áreas de controlo. Com a experiência das técnicas utilizadas, muitas vezes obtêm-se indicações sobre, se as diferenças obtidas resultam de uma exposição xenobióticos ou a outros agentes tensores ambientais. É, no entanto, importante confirmar se os biomarcadores moleculares e celulares estão relacionados com as consequências que se verificam ao nível biológico mais elevado do organismo e se esses biomarcadores são, de facto, predicativos dos efeitos a nível populacional. Os padrões de resposta são importantes dado que uns aumentam, outros diminuem e outros permanecem inalterados, na resposta aos tensores ambientais. O padrão de resposta deve dar indicação sobre:

- 1) De que maneira está o organismo relacionado com a homeostase;
- 2) As características do tensor («stressor»);
- 3) Se os biomarcadores utilizados são específicos para o composto em questão.

### VIII — Perspectivas futuras do conceito de biomarcadores

#### A — Perspectivas dos testes biomoleculares

Algumas das alterações ao nível bioquímico ou biomolecular podem ser prontamente detectadas *in vitro* pelos métodos laboratoriais correntes que quantificam a dose biologicamente efectiva de um composto. São métodos que envolvem a recolha de biópsias de tecidos ou de afluídos orgânicos para uma análise subsequente através dos biomarcadores. Este princípio pode aumentar substancialmente a qualidade da análise de risco de duas maneiras:

- 1) Identificação precoce do risco toxicológico;
- 2) Estimativa do risco potencial para os grupos susceptíveis;

Esta técnica tem sido utilizada em patologia humana com o uso diversificado de imunokits, de lectinas de sondas de hibridização e de ácidos nucleicos para a identificação de processos patológicos. Na análise de risco quantitativo, a variabilidade das populações experimentais na resposta a uma exposição é fundamental em epidemiologia. Os biomarcadores permitem a análise da dimensão daquela variabilidade em relação a dose efectiva, ou seja fornecem uma estimativa do risco potencial. Os testes biomoleculares com o seu desenvolvimento futuro serão indispensáveis na análise de risco ambiental.

## B — As variações genéticas

Numerosos conceitos e interpretação tem sido baseados na análise das respostas de biomarcadores individuais. Torna-se necessário desenvolver o estudo de uma melhor relação entre as respostas obtidas ao nível subcelular os efeitos ecológicos verificados a níveis biológicos mais elevados. Neste sentido, é necessário caracterizar os mecanismos pelos quais a susceptibilidade diferencial ou a tolerância, entre os vários indivíduos, dão origem aos efeitos verificados a nível populacional ou comunitário. Subpopulações dentro de uma população podem ser identificadas com base em similaridades fisiológicas identificadas pelos padrões de resposta dos biomarcadores. A análise da susceptibilidade de cada «tipo fisiológico» nas populações expostas, pode dar indicação sobre os efeitos que surgem ao nível populacional<sup>(16)</sup>. Um exemplo apresentado como ilustração é o dos mexilhões. Nesta espécie, genótipos que caracterizam taxas baixas de degradação de proteínas têm uma maior flexibilidade metabólica e conseqüentemente uma maior tolerância aos tensores ambientais do que aqueles genótipos caracterizados por uma elevada taxa de degradação de proteínas<sup>(17)</sup>. Se for possível seleccionar tais populações, através de biomarcadores do tipo genético de baixo metabolismo, o subsequente aumento deste genótipo pode ser um indicativo da selecção de indivíduos tolerantes, selecção que foi induzida pela poluição.

Alterações na frequência genética de populações pode ser ilustrada também pelo desenvolvimento de microrganismos da resistência aos xenobióticos ambientais por insectos, roedores ou plantas. Os mecanismos de resistência tem sido determinados em muitos casos, como, por

exemplo, os genes responsáveis pela resistência aos pesticidas em várias estirpes de insectos<sup>(18)</sup>. Estes genes codificam para mecanismos de detoxificação, esterases em monooxigenases, ou para formas insensíveis no órgão alvo, como é o caso da colinesterase. Quando populações no ambiente natural são expostas a compostos tóxicos, dá-se uma selecção a favor dos indivíduos com genes resistentes. As alterações na frequência genética podem dar uma medida do efeito tóxico provocado por um dado composto ao nível populacional. Este princípio selectivo está sendo utilizado em trabalhos de campo na monitorização de afídeos para medir o aumento da resistência devido às esterases na sequência de uma exposição a insecticidas organofosforados<sup>(19)</sup>. O futuro desenvolvimento dos aductos de insecticidas de DNA ou de proteína vai constituir um instrumento valioso na análise dos efeitos sobre as populações expostas a poluentes tóxicos ambientais.

## C — Padrões das respostas de biomarcadores

A referência de organismos afectados pela poluição para o ambiente de referência controlado e subsequente observação da sua recuperação, constitui um método valioso para se determinar o estado de saúde desses organismos e de se avaliarem os esforços empregados na recuperação dos locais poluídos. Aqui os biomarcadores desempenham também um papel importante pois permitem a análise do impacto de um poluente durante o período de recuperação. Torna-se necessário, contudo, uma cuidadosa selecção das espécies sentinelas, o conhecimento da sua susceptibilidade à transferência e às condições laboratoriais, para afastar interacções indesejáveis. Um aspecto importante é o de determinar se a sequência do padrão de respostas dos biomarcadores durante o período de recuperação reproduz a sequência das respostas à exposição ou segue um outro curso. São aspectos que têm maior implicação no uso de biomarcadores «in situ».

Para melhorar um programa de biomarcadores é importante desenvolver uma boa base de dados de patologia, tanto ao nível molecular como um banco de órgãos, tanto de patologia experimental, como de patologia induzida por xenobióticos, das várias espécies sentinelas representativas de um dado ambiente em estudo.

Isto implica a recolha de espécies relevantes a partir de conhecidos gradientes de poluição e de áreas de referência reconhecidamente livres de acção poluitiva antropogénica.

Paralelamente, os estudos laboratoriais devem verificar em que condições as mesmas espécies são expostas a uma gama de compostos de referência e a amostras de água contaminada, aos sedimentos e a solos atingidos. O contexto conceptual subjacente à aplicação de biomarcadores ambientais vai muito para além dos modelos convencionais dose/resposta. O contínuo progresso científico melhorará o conhecimento das fontes de variabilidade das respostas observadas, quer sejam a compostos múltiplos, a tensores ambientais ou à variação genética das espécies selvagens. A ênfase do futuro progresso levará em linha de conta o avanço das ciências biológicas, sendo de especial referência as observações relacionadas com a robustez fisiológica e a identificação de grupos sensíveis no interior das populações expostas a ambientes poluídos.

## **IX — Biomarcadores e saúde humana**

As medições através de biomarcadores em espécies sentinelas têm a maior implicação nos problemas de saúde pública. Alterações pré-pato-lógicas em organismos num dado ambiente são indicadores de situações potenciais para o homem vivendo nos meios ambientes.

O impacto adverso da contaminação ambiental nos organismos sentinela em áreas urbanas pode ser considerada um indicador de alarme e vir a ser mesmo futuramente na legislação sanitária. O conceito ideal decorrente deste princípio é a de que respostas fiáveis em organismos sentinelas seriam indicadores ideais para que uma acção correctiva seja imediatamente iniciada. Deste modo, um programa de monitorização baseado em biomarcadores pode fornecer respostas que sirvam de base a estudos epidemiológicos prospectivos de saúde pública, no caso da exposição proceder os efeitos ou, estudos epidemiológicos respectivos, quando a incidência de doenças é elevadamente anormal. A outro nível, a identificação de padrões de doença no homem podem ser vistos como um pretexto para se desencadear em programa de

monitorização ambiental baseado em respostas de biomarcadores <sup>(20)</sup>.

A utilidade de certos biomarcadores para identificar zonas de impacto antropogénico no ambiente, bem como a determinação da natureza e da extensão do impacto, ou seja da exposição, deve ser um motivo convincente e da maior importância na organização de um protocolo e da execução de um programa de investigação com biomarcadores. Só através da implantação eficaz de um programa de monitorização com base em biomarcadores será possível estabelecer e validar as relações entre exposição e doença nas espécies sentinela, a qual é indispensável antes de se fazer qualquer extrapolação para a saúde das populações humanas. Os programas de monitorização com base em biomarcadores podem ainda ser úteis para estabelecer as correlações entre a exposição a determinados contaminantes e a prevalência de determinadas doenças nas populações de animais silvestres, que não estão sujeitos à acção dos factores que perturbam os estudos epidemiológicos humanos, como sejam os aditivos alimentares, o consumo de álcool, o tabaco ou a tensão provocada pelo trabalho. Deste modo, os mecanismos de patogénese de determinadas doenças que estão relacionadas com uma exposição ambiental, como é o caso das neoplasias, podem vir a ser identificados e elucidados. O actual desenvolvimento tecnológico não permite ainda a implementação prática de um programa de monitorização ambiental, contudo, a investigação experimental deve procurar desenvolver, com prioridade, um modelo para o estudo da etiologia das doenças provocadas por compostos tóxicos.

Um outro aspecto a considerar é o da acção da transferência de resíduos contaminantes através de cadeias alimentares. Aquela transferência, que corresponde a um fluxo dinâmico com várias fases, está estudada. Contudo, a relação entre biomarcadores em espécies consumíveis e a saúde do consumidor não está ainda perfeitamente elucidada, pelo que estudos da protecção toxicológica da cadeia alimentar para consumo humano são indispensáveis <sup>(21)</sup>. De momento, as implicações para a saúde pública dos biomarcadores em animais para consumo humano, que sejam originários de ambientes afectados pela poluição antropogénica ou outra, não estão ainda estudadas, o que não invalida a sua importância como base legal reguladora para protecção da saúde do homem.

## X — A conclusão dos estudos com biomarcadores

Nos capítulos anteriores foi feita uma revisão do conceito de biomarcadores, definição, objectivo e aplicações. À guisa de conclusão são considerados aqui os aspectos relacionados com a implementação dos estudos com biomarcadores.

Os biomarcadores podem ser usados para determinar uma exposição a compostos tóxicos e os seus efeitos, em aplicações extremamente importante:

- 1 — Avaliação dos efeitos de novos compostos utilizados na indústria e na agricultura;
- 2 — Controlo dos afluentes industriais e municipais;
- 3 — Determinação da distribuição geográfica dos efeitos dos compostos tóxicos no ambiente e as suas alterações com o tempo;
- 4 — Determinação da identidade do composto e da respectiva fonte de origem;
- 5 — Estabelecimento de uma relação causa/efeito;
- 6 — Aplicação potencial na área da Saúde Pública e dos estudos da Patologia Ambiental.

Ao estabelecer-se uma análise de impacto ambiental num programa de monitorização, vários objectivos têm de ser claramente definidos, respondendo a perguntas simples:

- a) Existe uma contaminação a compostos tóxicos?
- b) Encontram-se os contaminantes presentes em concentrações biologicamente activas?
- c) Que organismos ou populações estão em risco?
- d) Qual a severidade dos efeitos?
- e) Qual a extensão verificável desses efeitos?

Algumas das questões postas podem ser resolvidas pela análise química tradicional ou em bioensaios, outras não têm resposta. A análise química é usada para identificar e medir as concentrações de resíduos tóxicos ou dos seus metabolitos no ambiente ou na flora ou na fauna selvagem. Ensaios clássicos de toxicidade, como por exemplo, os testes de toxicidade com a *Ceriodaphnia*, dão indicação sobre se existem

compostos nos sedimentos, se ocorrem em forma biodisponível e em concentrações que afectem os organismos. A análise dos efeitos em ambiente natural tem-se baseado em critérios ecológicos, como a diversidade de espécie, ou no exame fisiológico ou histológico do estudo da saúde dos organismos em questão. Em muitos casos, contudo, os biomarcadores moleculares e celulares, dentro do conceito já defenido anteriormente, têm potencial para dar uma resposta rápida, específica e económica para os compostos tóxicos presentes, biodisponíveis e que tenham efeito sobre os organismos silvestres do ambiente.

A capacidade de detectar de maneira sensível e específica numa exposição e a respectiva resposta no ambiente, pode ser um factor fundamental no controlo do impacto de poluentes na sequência de uma acção de limpeza determinada por motivos legais de recuperação dos locais atingidos. A demonstração da existência de impacto ambiental é importante, quer ele seja reduzido ou de grandes proporções. Em qualquer dos casos o papel dos biomarcadores é importante para revelar uma das situações. Na maioria dos casos a análise ambiental ou a avaliação do impacto com o auxílio de biomarcadores tem necessidade da integração de várias disciplinas científicas, que vão da toxicologia, à bioquímica, à ecologia e à epidemiologia. É por isso, importante que na execução do protocolo, execução e interpretação dos estudos com biomarcadores estejam envolvidos logo de início as pessoas componentes em cada área disciplinar. A falta de conhecimento sobre as espécies migratórias, por exemplo, ou a variabilidade genética de proteínas induzíveis, ou a identificação deficiente de processos patológicos ou das variações fisiológicas, pode levar a interpretações erradas nos estudos ambientais. É, por isso, fundamental uma cooperação de base de cientistas competentes não só para a implementação dos programas com biomarcadores, mas também para a interpretação das suas respostas, do seu desenvolvimento e validação bem como a estratégia conceptual da aplicação num programa de biomarcadores, aspectos complexos que terão de ser desenvolvidos num segundo artigo.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — Strategy for Biomarker Research an Application in the Assessment of Environmental Health. Edited by D. B. Peakall and L. R. Shugart. NATO Workshop in Biomarkers, Texel, the Netherlands, May 1991.
- 2 — Biologic Markers in Reproductive Toxicology. NRC (Nuclear Regulatory Commission). National Academy Press, Washington, D. C., 1989.
- 3 — Biological Markers of Environmental Contamination. J. F. McCarthy and L. R. Shugart, eds. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, 1990.
- 4 — Animal Biomarkers as Pollution Indicators. D. B. Peakall, ed. Chapman and Hall, London, 1992.
- 5 — Pesticide effects on terrestrial wild life. Somerville, L. and Walker, C. H., Taylor and Francis, Inc. New York, NY, 1990.
- 6 — The effects of stress and pollution on marine animals. Bayne et al., eds., Praeger, New York, NY, 1985.
- 7 — Characterization of HAIITE rat hepatoma cell biossay as a tool for assessing toxic potency of planar halogenated hydrocarbons in environmental samples. D. E. and Tillet and J. P. Giesy. *Environ. Sci. Technol.* 25: 87-92, 1991.
- 8 — Measurements of Pollutant Toxicity to Fish III. Sub-lethal effects and «Safe Concentrations». J. B. Sprague, ed. *Water Res.* 5: 245-266, 1971.
- 9 — Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to fresh water organisms. C. I. Weber et al. Environmental Monitoring Systems Laboratory Report EPA/600/4-89/001, 2nd ed., U. S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, USA, 1989.
- 10 — Simultaneous monitoring of physiological and behavioural activity in marine organisms using non-invasive, computer aided techniques. A. Aagaard et al. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 73: 277-282, 1991.
- 11 — Pre-exposure to 3-Methylcholanthrene increases Benzo(a) Pyrene adducts on DNA of Bluegill Sunfish. J. F. McCarthy et al. *Mar. Environ. Res.*, 28: 323-328, 1984.
- 12 — Biological Monitoring: «Testing for Genotoxicity», in Biological Markers of Environmental Contamination. J. F. McCarthy and L. R. Shugart, eds. Lewis Publ. Inc., Boca Raton, FL, pp. 205-216, 1990.
- 13 — «Hepatic Enzymes as Biomarkers: Interpreting the effects of environmental, Physiological and Toxicological variables», in Biological Markers of Environmental Contamination. J. F. McCarty and L. R. Shugart, eds., Lewis Publ. Inc. Boca Raton, FL, pp. 123-142, 1990.
- 14 — New approaches in ecotoxicology: Can inter-individual physiological variability be used as a tool to investigate pollution effects?, M. H. Depledge, ed., *Ambio*, 19: 251-252, 1990.
- 15 — The rational basis for detection of the early effects of marine pollutants using physiological indicators. M. H. Depledge ed., *Ambio* 18: 301-302, 1989.
- 16 — New approaches in ecotoxicology: Can inter-individual physiological variability be used as a tool to investigate pollution-effects? M. H. Deplege, ed., *Ambio*, 19: 251-252, 1990.
- 17 — Genotype-dependent interrelation between energy metabolism, protein metabolism and fitness. A. J. S. Hawkins et al. eds., in Proc. XXIII Eur. Mar. Biol. Symp., J. S. Dyland and P. A. Tyler, eds. Fredensborg; Olsen & Olsen, Fredensborg, Denmark, pp. 283-292, 1989.
- 18 — Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. G. P. Geroghio and C. E. Taylor eds., *J. Econ. Entomol.* 70: 319-323, 1977.
- 19 — Gene amplification and insecticide resistance. A. L. Devonshire and L. M. Fields, eds., *Ann. Rev. Entomol.* 36: 1-23, 1991.
- 20 — Validation of biological markers for quantitative risk assessment. P. Schulte and L. F. Magguckelli, eds., *Environ. Health Perspect* 90: 239-246, 1991.
- 21 — Protecção toxicológica das cadeias alimentares para consumo humano — Projecto para a organização de um grupo de coordenação interdisciplinar. J. J. Amaral-Mendes, *Rev. Port. Nutrição* vol. III (1): 9-18, 1991.

## Síndrome dos edifícios insalubres («Sick Building Syndrome»)

J. J. Amaral Mendes, MD, PhD (London) \*

Em 1982 um grupo de trabalho com o patrocínio da OMS chegou à conclusão que muitos dos problemas da qualidade do clima interior dos edifícios referidos na literatura descreviam edifícios e situações com o mesmo tipo de problemas <sup>(1)</sup>. Estes edifícios eram caracterizados pelo mesmo conjunto de queixas e

de sintomas referidos na Literatura. O grupo de trabalho da OMS sugeriu o nome de «Sick Building Syndrome» (SBS), que em português se traduz para Síndrome dos Edifícios Insalubres (SEI), para designar aquele conjunto de queixas e de sintomas, que em forma sumariada se descreve no Quadro I.

### QUADRO I

Cinco categorias de sintomas exemplificados por algumas das queixas apresentadas por pessoas supostamente atingidas pelo Síndrome dos Edifícios Insalubres:

- 1 — *Sensação de irritação nos olhos, nariz e garganta* — Dor, sensação de secura e ardor, irritação, rouquidão, problemas de voz.
- 2 — *Sintomas neurológicos e de saúde em geral* — Dores de cabeça, fadiga mental, preguiça, redução da capacidade de concentração, perda de memória, vertigens, intoxicação, náusea e vômitos, cansaço.
- 3 — *Irritação da pele* — Dor, sensação do prurido, vermelhidão e secura da pele.
- 4 — *Reacções de hipersensibilidade não específicas* — corrimento nasal e lacrimejamento, sintomatologia de asma em não asmáticos, ruídos respiratórios.
- 5 — *Sintomas do olfacto e do gosto* — Alterações sensitivas do sentido do gosto e do olfacto, percepções desagradáveis olfatórias ou gustativas.

FONTE: WHO, 1982 <sup>(1)</sup>

Na literatura muitos sintomas e queixas têm sido referidos para a síndrome dos edifícios insalubres. Como sinónimos têm sido usados os termos, doença dos edifícios, síndrome da doença das construções, doenças relacionadas com edifícios, síndrome de

edifícios com escritórios interiores, etc. A sistematização da WHO de 1982 foi a primeira tentativa de combinar aqueles sinónimos e de generalização de uma definição generalizada, que se apresenta numa forma sumariada no Quadro II. No relatório do Grupo de Trabalho da WHO, de 1982, ficou expresso que mais de 30 % de todos os novos edifícios são afectados por problemas de clima interior, para os quais não é possível encontrar causas evidentes, devido a defeitos técnicos quer nas instalações quer na construção.

\* Prof. Associado da Universidade de Évora, Instituto de Anatomia de Coimbra e colab. do Instituto Nacional de Saúde

QUADRO II <sup>(a)</sup>

**SUMÁRIO DO SÍNDROMA DOS EDIFÍCIOS INSALUBRES (SEI)**

- 1 — As cinco categorias de sintomas do Quadro I cobrem a maioria das queixas.
- 2 — A irritação das mucosas oculares, do nariz e da garganta encontram-se entre as mais frequentes.
- 3 — Outros sintomas, como p. e., das vias respiratórias inferiores ou de outros órgãos internos, são menos frequentes.
- 4 — A maioria dos ocupantes de um edifício refere a sintomatologia.
- 5 — Asintomatologia aparece frequentemente num dado edifício ou em parte desse edifício.
- 6 — Não é possível identificar a causalidade quer em relação à exposição, quer em relação à sensibilidade dos ocupantes do edifício.

(a) Adaptado de Molhave, 1992 <sup>(2)</sup>

## I — Definições

Numa recente reunião do Estudo Piloto do CCMC da NATO «Qualidade do Ar Interior», sobre «Epidemiology and Medical Management of Building — Related Complaints and Illness» <sup>(3)</sup>, foram sugeridas as seguintes recomendações para descrever as queixas e os efeitos sobre a saúde relacionadas com o clima interior dos edifícios:

1 — *Queixas relacionadas com edifícios, Building-Related Complaints (BRC)* — Queixas sobre a má qualidade do ar interior ou má qualidade ambiental, «BRC», constituem as respostas aos questionários nos inquéritos de estudo.

2 — *Sintomas relacionados com edifícios, Building-Related Symptomas» (BRS)* — São os sintomas referidos isoladamente por um paciente, os quais ocorrem no edifício e desaparecem pouco depois de ele o abandonar.

3 — *Síndrome dos edifícios insalubres, «Sick Building Syndrome (SBS)* — O termo para designar uma situação em que a maioria dos ocupantes do edifício se queixa de sintomas irritativos gerais e não específicos. Os sintomas desaparecem usualmente quando se abandona o edifício.

4 — *Doenças relacionadas com edifícios, «Building-Related Illness» (BRI)* — Condição clínica com

sintomas e sinais definidos cuja etiologia é atribuída aos edifícios.

5 — O termo «Sick Building» é desaconselhado, devendo ser substituído pela expressão «Building with indoor climate problems» ou «Problem Building». A expressão portuguesa que parece ser mais conveniente é a de Síndrome dos Edifícios Insalubres (SEI) e a que usamos neste artigo.

6 — *Factores climáticos interior, «Indoor Climate Factors»* — De acordo com a WHO os factores são térmicos, atmosféricos, actínicos, acústicos e mecânicos.

7 — *Queixas («Complaints»)* — Podem estar relacionadas quer com o clima ambiental quer com o indivíduo em si, queixas de saúde, sendo estas últimas usualmente referidas como sintomas.

8 — *Doenças («Illnesses»)* — Efeitos físicos ou psicológicos que, após um correcto exame, podem ser diagnosticados através de métodos clínicos.

Os sintomas incluídos no Síndrome podem ser observados em qualquer grupo de pessoas, mas os relacionados com edifícios insalubres («Sick buildings») são caracterizados pelo facto de serem exibidos por uma grande percentagem dos ocupantes desses edifícios. O Síndrome parece ser uma reacção normal de uma população normal a um clima interior desfavorável. O síndrome não parece estar restrito a uma minoria, que reage devido a uma anormal e elevada sensibilidade. O grupo de trabalho da NATO <sup>(3)</sup> sugere a possibilidade de que os Sistemas dos Edifícios Insalubres tenham uma causa e mecanismos comuns.

## II — A prevalência do síndrome dos edifícios insalubres

Os sintomas referidos por diferentes autores são, não específicos e indefinidos, em grande parte das publicações. Deste modo, uma comparação científica da prevalência dos sintomas encontrados nos diferentes trabalhos publicados é difícil. Para se poderem rever os trabalhos publicados sobre os sintomas do SEI, foram aqueles classificados de acordo com as cinco categorias mencionadas no Quadro I <sup>(4)</sup>.

Reacções ao clima interior dos edifícios classificadas como SEI, de acordo com os Quadros I e II foram encontradas em 11 de 13 trabalhos revistos <sup>(4)</sup>. A maior parte destes trabalhos ocupa-se da comparação de edifícios com manifestas reacções ao seu clima interior por parte dos ocupantes, com edifícios controlo sem aqueles problemas. O Quadro III sumaria os 13 trabalhos e mostra o intervalo dos picos

## QUADRO III

INTERVALOS DE PERCENTAGENS DE QUEIXAS EM EDIFÍCIOS COM OCUPANTES SOFRENDO APARENTEMENTE DE SÍNDROMAS DOS EDIFÍCIOS INSALUBRES <sup>(a)</sup>

	Edifícios			Número de diferenças significativas <sup>(b)</sup>	Número de trabalhos
	Insalubres	Controlo	Ao acaso		
Irritação sensorial	35-90	0-36	8-56	5	11
Sintomas neurológicos	31-100	0-45	20-56	3	9
Irritação da pele	5-38	2-22	2-25	1	5
Reacções não-específicas	4-41	4-24	2-21	1	3
Olfacto e gosto	(0)	(25) <sup>(c)</sup>	— <sup>(d)</sup>	0	1

(a) As frequências comparam com frequências em edifícios controlo e edifícios seleccionados ao acaso.

(b) Entre edifícios insalubres e edifícios controlo.

(c) Valores de estimativa.

(d) Sem informação.

FONTE: Molhave, 1991 <sup>(4)</sup>

de frequência de sintomas referidos dentro de cada uma das cinco categorias do Quadro I. Uma conclusão definitiva em relação ao SEI e os seus sintomas não é possível a partir das investigações pouco sistematizadas do Quadro III. Contudo, algumas tendências podem ser consideradas, sendo a principal a de que se a SEI existe, inclui certamente uma irritação sensorial e dor de cabeça.

### III — Prevalência da exposição a compostos orgânicos voláteis («Volatile Organic Compounds» — VOC'S)

Compostos orgânicos voláteis (COV) são poluentes comuns do ar em ambientes não industriais. Materiais de construção e mobiliário são fontes emissoras de COV. Os sistemas de ventilação podem também ser uma fonte de poluentes de COV. Qualquer actividade humana pode ser uma fonte potencial e COV, como a manutenção, a limpeza e as cozinhas. O metabolismo humano e outras actividades, como o fumo de tabaco podem ser outras fontes de gases e vapores. Àquelas fontes podem juntar-se as máquinas de fotocópias, as impressoras, as colas, latas de aerossóis, etc. <sup>(5)</sup>.

Estudos realizados nos últimos anos demonstraram que a concentração de muitos compostos orgânicos no ar interior excedem em muito as

concentrações atmosféricas <sup>(5)</sup>. Um estudo da OMS de 1989 sobre COV'S em ambientes interiores sumariza as concentrações encontradas em quatro importantes estudos europeus <sup>(6)</sup>. Normalmente, 50 a 300 compostos orgânicos voláteis são identificados em amostras de ar de ambientes não industriais. Cada composto raramente excede cerca de 50 µg/m<sup>3</sup>, a qual é 100 a 1000 vezes mais baixa que os valores limite limiares («Threshold Limit Values», TLC'S ocupacionais <sup>(7)</sup>). A concentração total de todos os COV'S é, contudo, normalmente abaixo 1 mg/m<sup>3</sup>, a qual é unicamente 0,2 % para o TIC do tolueno, um dos compostos mais frequentemente encontrados em altas concentrações.

Até ao momento presente não existe possibilidade de uniformizar os efeitos combinados dos muitos compostos no ar ambiental. O conceito de Compostos Orgânicos Voláteis Totais («Total Volatile Organic Compounds» TVOC) proposto por Molhave e Nielsen <sup>(8)</sup> pode expressar-se:

- O indicador «TVOC» é uma primeira aproximação para um indicador de uma estimulação não específica dos nervos causada por uma exposição a um multicomponente do ar a baixos níveis (algumas partes por milhão). O indicador não pode ser usado para prever outros tipos de efeitos, como p. e., sobre o SNC, alterações dos tecidos ou cancro.
- Os compostos devem poder ser comparáveis com respeito a propriedades químicas, peso

molecular e vapor de pressão. Esta é a situação dos solventes orgânicos como ponto de ebulição muito acima, e ponto de fusão muito abaixo, da temperatura ambiente normal.

O conceito «TVOC» não está ainda contudo completamente testado na prática.

#### IV — Efeitos sobre a saúde causados pelo ambiente interior que devem ser levados em considerações nos estudos epidemiológicos

O aparelho respiratório (nariz, traqueia, pulmões), o sistema nervoso central (SNC), a pele e os olhos são os alvos principais afectados pelo ambiente interior.

Os sintomas subjectivos mais frequentes encontram-se referidos no Quadro IV, com os testes e os exames clínicos correspondentes para avaliar os efeitos sobre a saúde.

No planeamento de um estudo epidemiológico dos efeitos sobre a saúde, a lista de aparelhos e de sintomas subjectivos deve ser primariamente considerada. O critério seguido é o adoptado nas suas linhas gerais pelas recomendações do Estudo Piloto da NATO/CCMS já referido anteriormente<sup>(3)</sup>.

Num estudo epidemiológico das queixas e processos patológicos relacionados com o ambiente interior dos edifícios tem de haver a decisão de individualizar o que é possível de medir objectiva e subjectivamente. Sempre que possível os sintomas subjectivos devem ser confirmados por um exame clínico e recorrendo aos testes disponíveis.

QUADRO IV  
SINTOMAS SUBJECTIVOS MAIS FREQUENTES E EXAMES DISPONÍVEIS

Aparelho/órgão Alvo	Sintomas subjectivos	Testes disponíveis
Aparelho respiratório (Nariz, traqueia, pulmões)	<i>Superior:</i> secura, corrimento, bloqueio nasal <i>Inferior:</i> tosse, opressão torácica, cansaço, respiração ofegante	Exame Clínico; Testes de função pulmonar; Raios X do tórax; Serologia; Testes de inalação provocatória; Testes cutâneos
Sistema Nervoso Central (Função cerebral)	Cansaço; Tonturas, Náuseas; Problemas de concentração; Dores de cabeça; Queixas motoras	Testes de neuro-comportamento; Exame neurológico e oftalmológico (diagnóstico diferencial)
Pele	Secura; Prurido; Eczema; Sensação de queimadura	Exame físico, Biópsias
Olhos	Irritação; Olho vermelho; Prurido; Sensação de secura; Corrimento; Cansaço ocular	Exame físico; Oftalmologia; Teste de rotura do filme lacrimal após instilação de fluoresceína

Quando uma solução, não está bem definida, como é o caso no SEI (SBS), recomenda-se o estudo de efeitos simples que estão mais relacionados com aquele conjunto de sintomas. Para um estudo epidemiológico é recomendado a seguinte lista de sintomas e de indicadores de efeitos sobre a saúde, dependendo a escolha do problema de saúde em questão:

1) *Queixas sobre a má qualidade do ar interior* — Sensação de ar abafado; cheiros desagradáveis; sensação de ar seco.

2) *Síndrome dos Edifícios Insalubres (SEI)* — Irritação das mucosas dos olhos, do nariz e da garganta, dores de cabeça; cansaço e sintomas cutâneos.

3) *Doenças relacionadas com os edifícios*

a) *Infecções (Legionelose, etc.)* — Episódio de febre e sinais de pneumonia; isolamento bacteriológico; resposta imunológica.

b) *Alergia/Hipersensibilidade (sintomas-asmáticos ou rinite alérgica)* — Alveolite alérgica ou síndrome tóxica de empoeiramento

(Febre dos humidificadores); episódios repetidos de febre; sinais de pneumonia; resposta imunológica; identificação do reservatório do agente tóxico ou infeccioso.

- c) Cancro do pulmão — Sinais objectivos unicamente depois de anos de latência; investigação retrospectiva de exposição; relacionamento da exposição com o registo de cancros; história de consumo de tabaco ou possível exposição ao radão ou a carcinogénios químicos.

## V — O uso de questionário nos estudos epidemiológicos relacionados com problemas de Saúde dos Ambientes Interiores

O uso de questionários é provavelmente o melhor método para conduzir um estudo epidemiológico na análise dos problemas de saúde no síndrome dos edifícios insalubres (SEI). O questionário deve incluir:

1) *Um bloco padrão de perguntas* — Que deve ser usado em todos os questionários que tratam da Qualidade do Ar Interior («Indoor Air Quality»), como seja ocupação, sexo, idade, descrição do ambiente de trabalho, antecedentes tabágicos, sintomas e condições de trabalho (satisfação pessoal com o emprego).

2) *Um questionário adicional* — Quando existir um problema específico em estudo.

3) Deve haver o maior cuidado em estabelecer a relação trabalho/sintomas, que depende muitas vezes da maneira de perguntar:

- a) Pensa que os sintomas são devidos ao seu ambiente de trabalho? *ou*
- b) Acha que os sintomas melhoram quando está longe do trabalho? *ou*
- c) Tem os sintomas unicamente quando está a trabalhar?

4) *A lista de sintomas* — Em relação aos sintomas principais não há divergências. As dúvidas podem levantar-se em relação aos sintomas secundários, como p. e. a pergunta «nariz inflamado, bloqueado ou com corrimento» deve ser dividida em três questões simples «nariz inflamado», «nariz bloqueado» (sintoma comum) e «nariz com corrimento» menos comum, por vezes implicando uma rinite alérgica ou uma infecção; sintomas secundários com «tonturas» estão por vezes associados a ou-

tros sintomas e geralmente não se apresentam isolados.

5) *A frequência de sintomas* — Não existe por vezes acordo da maneira como deve ser colocada a pergunta (diariamente, mensalmente) ou (frequentemente, por vezes, nunca).

6) *Período de prevalência* — A maioria dos estudos procuram obter a prevalência a um determinado período de tempo, que deve ser suficientemente curto para evitar influências («bias») mas suficientemente longo para levar em linha de conta as variações sazonais. Um método a levar em consideração seria repetir o questionário em diferentes alturas do ano.

7) *Padronização do questionário* — As escolhas a considerar são:

- a) O questionário deve ser respondido pelo próprio ou por um entrevistador.
- b) Os questionários devem ser escritos, com base em computador (cada vez mais populares, rápidos e com dados de entrada menos susceptíveis de erro) ou através do correio (o método de escolha para grandes populações).

8) *valores de Referência* — É conveniente a existência de Valores de Referência para as populações (desenvolvido à frente) e para os edifícios. A padronização dos Valores de Referência não é fácil, devido aos valores culturais que não podem ser transferidos de um país para o outro pelo que se deve dar ênfase aos grupos de controlo.

Um questionário que tem utilidade em ser desenvolvido é o de uma lista específica sobre aspectos técnicos dos edifícios destinada ao pessoal da manutenção e da segurança.

São aconselhadas as seguintes recomendações:

- a) Simplicidade nos questionários, evitando-se relacionamento com questões mais complexas;
- b) Antes de incluir questões adicionais, as antigas devem ser primeiro validadas;
- c) Grupos de controlo de ocupantes e grupo de controlo de edifícios devem ser sempre incluídos;
- d) Perguntas sobre o relacionamento dos sintomas com os edifícios ou com o trabalho devem ser obrigatoriamente incluídas;
- e) Deve-se dar prioridade à padronização do núcleo de perguntas normalizadas para o estudo da Qualidade do Ar Interior. A normalização do questionário deve incidir em especial sobre os indicadores de frequência e dos períodos de

prevalência de modo a evitar-se os factores que influenciam os curtos intervalos de prevalência e insistir nos longos intervalos de prevalência através de estudos regularmente repetidos durante o ano.

9) *O problema das populações de referência* — Um dos problemas metodológicos mais importantes para a comparação de vários estudos epidemiológicos sobre as doenças relacionadas com edifícios é a inexistência de populações de referência, quer a nível nacional quer internacional. As populações de referência devem ser constituídas numa base nacional. Vários factores devem ser levados em consideração, tanto pessoais, como médicos ou factores relacionados com os locais de trabalho. É, sobretudo, importante que haja uma clara consistência na padronização dos Valores de Referência:

- a) Possibilidade de comparar a influência dos factores climáticos;
- b) Estudo do papel dos factores económicos;
- c) Comparação do efeito das medidas legislativas;
- d) Comparação do grande número dos diferentes locais de trabalho e de habitação;
- e) Comparação dos materiais de construção.

## VI — Exames clínicos e laboratoriais disponíveis para o estudo das queixas relacionadas com edifícios (QRE) ou das doenças relacionadas com edifícios (DRE)

Os vários exames clínicos e testes laboratoriais disponíveis para as QRE ou DRE vão listados nos Quadros V e VI. Um exame preliminar das queixas orientará o médico para os testes a executar e para o diagnóstico diferencial. Além do exame clínico dos doentes, a história médica de cada um dos doentes é indispensável para se estabelecer um julgamento definitivo.

### 1 — Queixas e doenças pulmonares

#### a) *Dificuldades respiratórias*

Exames clínicos e provas respiratórias.

#### b) *Asma*

— Testes de rotina incluem a espirometria, a resposta a broncodilatadores e pesquisa

de anticorpos IgE a alergénios domésticos e ocupacionais (particularmente a antigénios dos humidificadores).

- Medições seriadas do fluxo respiratório no emprego e em casa (usualmente cada 2 horas desde o levantar até ao deitar, incluindo os períodos de trabalho e os períodos de descanso). Estes testes são específicos, com uma sensibilidade de 50-80%. Os tratamentos podem mascarar os resultados e alterar aquelas percentagens.
- Testes de provocação com alergénios, são indispensáveis para a identificação de novos alergénios, particularmente em situações de exposições mistas. Os testes de provocação não específicos (p. e. a histamina ou a metacolina) podem também ser usados. Medidas na reactividade encontram-se dentro da normalidade em cerca de 20% dos asmáticos e são anormais noutras doenças em particular na bronquite obstrutiva.

#### c) *Alveolite alérgica e febre dos humidificadores*

Exames de rotina incluem o Raios X torácico (que é normal em 50% dos doentes com alveolite alérgica e em todos os casos de febre dos humidificadores).

As provas de função respiratória incluem a espirometria e as medições de trocas de gases. As lavagens bronco-alveolares podem ser recurso em caso de dúvida. Uma contagem elevada de linfócitos é particularmente indicadora de causa extrínseca. Os anticorpos IgG são muito sensíveis mas não têm especificidade.

#### d) *Doença dos legionários*

Constitui uma causa pouco comum de pneumonia lobar (1 a 5% da comunidade nos países nórdicos contrai pneumonia) que ocorre em surtos relacionados com os sistemas de aquecimento de água ou do vapor de água das torres de aquecimento. A ligação dos casos individuais com as fontes de contágio requer a cultura dos mesmos serotipos em ambas as origens. A cultura é obtida unicamente em menos de 20% dos casos, a maioria dos diagnósticos é feita retrospectivamente a partir da subida do título de anticorpos ou ocasionalmente através da pesquisa de antigénios em amostras biológicas. O diagnóstico é feito com as normas usuais, Raios X do tórax, cultura

QUADRO V  
TESTES FUNCIONAIS PARA O DIAGNÓSTICO DA DRE

Pulmão	<ul style="list-style-type: none"> <li>— <i>Provas funcionais</i></li> <li>Volumes pulmonares (FVC)</li> <li>Espirometria (FEV<sup>1</sup>)</li> <li>Capacidade de difusão</li> <li>— <i>Raios X Torácico</i></li> </ul>
Sangue	<ul style="list-style-type: none"> <li>— <i>Anemia</i> (Hemoglobina, Eritrócitos)</li> <li>— <i>Eosinofilia</i></li> <li>— <i>Leucocitose</i></li> <li>— <i>Taxa de sedimentação eritrocitária</i></li> </ul>
Testes Imunológicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>— <i>Testes de provocação directa</i></li> <li>Testes na superfície cutânea</li> <li>Teste de hipersensibilidade retardada intratérmico</li> <li>Teste de provocação inalatória</li> <li>— <i>Testes de ligação in vitro</i></li> <li>RAST, ELISA, RIA, RIST</li> <li>— <i>Imonodifusão</i></li> <li>Difusão dupla em agar</li> <li>Difusão simples radial</li> <li>— <i>Ensaio de libertação de histamina dos leucócitos induzida por antigénios</i></li> <li>— <i>Imunoelectroforese</i></li> <li>— <i>Reacções de aglutinação</i></li> <li>— <i>Fixação de complemento</i></li> <li>— <i>Teste da triptase</i></li> </ul>
Testes de Exposição	<ul style="list-style-type: none"> <li>— <i>Estudos de provocação</i></li> <li>Exposição simples com máscara</li> <li>Exposição simples na câmara</li> <li>Exposições múltiplas na câmara</li> </ul>
Exames Histológicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>— <i>Exame histopatológico simples</i></li> <li>— <i>Métodos de imunofluorescência</i></li> <li>— <i>Lavagem bronco-alveolar</i></li> <li>— <i>Lavagem nasal</i></li> </ul>
Testes Biológicos	Ver quadros VI A e VI B

de amostras biológicas e testagem de anticorpos em soro de doentes e de convalescentes. A ligação dos casos isolados com as fontes responsáveis é feita a partir dos estudos epidemiológicos durante os surtos.

e) *Cancro do pulmão induzido pelo radão*

Existe um excesso de risco de cancro do pulmão em residentes de casas com níveis elevados de radão de acordo com os estudos epidemiológicos. O objectivo seria fazer-se a estimativa da medida de exposição ao radão para a vida de um indivíduo, a

qual não é no entanto, possível fazer retrospectivamente. Os testes de alteração do DNA, alterações cromossómicas que identificam elevadas exposições industriais não têm sensibilidade e especificidade para os níveis domésticos de exposição ao radão.

2 — *Queixas neurológicas*

*Os testes neuropsicológicos*

Existem testes que podem medir os efeitos agudos particularmente devido à exposição a solven-

tes orgânicos, ou para as exposições crónicas a outros tóxicos. A maioria dos testes difíceis de usar repetidamente em curtos períodos de tempo devido ao prolongado efeito de aprendizagem. Os testes podem medir tempo de reacção, atenção, memória a curto termo, orientação espacial e deterioração da função intelectual.

Os exames são usualmente reservados para as situações onde se conheçam exposições agudas a solventes, e onde a monitorização biológica é igualmente útil. Não existe validação possível para os sintomas SEI, como a letargia, o cansaço ou a sensação de peso na cabeça, em que os testes existentes não são relevantes para aquele tipo de queixas.

### 3 — Outros sintomas SEI

Não existem testes objectivos para os sintomas SEI suficientemente sensitivos e específicos para uso de rotina. O melhor recurso reside ainda na utilização de cartões diários, registados cada duas horas e por períodos de algumas semanas, tanto em casa como no trabalho. Os cartões devem incluir um sistema de escalas.

#### a) O olho vermelho agudo

Alguns questionários têm sido validados com testes objectivos.

Um oftalmoscópio portátil pode detectar a presença ou a ausência de espuma no epicanto, o qual se pode correlacionar com as respostas do questionário. O teste mais simples necessita de um exame com um «slit lamp», da medição da rotura do filme lacrimal provocado pela fluoresceína, ou a espessura do filme lacrimal da córnea. Estes testes não são, contudo, para uso de rotina.

Um teste moderno envolve a contagem do tempo entre o pestanejar e a queixa de ardor do paciente. O paciente não deve pestanejar durante aquele período.

#### b) Corrimento nasal

O melhor teste consiste na contagem de gotas com o paciente inclinado para a frente. Os espirros também podem ser contados.

#### c) Nariz bloqueado

A rinometria activa ou passiva, anterior ou posterior, tem sido validade na rinite do síndrome dos edifícios insalubres. Os testes não têm contudo,

sensibilidade ou especificidade para serem usados na rotina. Outros testes nasais possíveis incluem a reactividade nasal à histamina, as medições dos fluxos inspiratórios («peak flow») e a medição da espessura da mucosa nasal, por observação com um microscópio binocular ou por biópsia, como para os granulomas nasais. Não são testes de rotina e, portanto, só são acessíveis a especialistas.

#### d) Garganta seca

Não existem testes objectivos.

#### e) Pele seca

A condutividade da pele pode ser medida.

(Um sumário dos testes disponíveis está listado no Quadro VI).

### 4 — Recomendações

- a) O diagnóstico das Doenças Relacionadas com Edifícios devem ser primeiramente baseados na história e no exame clínicos;
- b) Os médicos devem ser treinados e alertados para a possibilidade de que os factores da Qualidade do Ambiente Interior podem dar origem a doenças e queixas, e alertados ainda para as manifestações mais prováveis dos diferentes factores etiológicos;
- c) No caso de sintomas pulmonares com suspeitas de uma etiologia no ambiente interior de um edifício, é recomendado o recurso a testes imunológicos para os alergénios mais comuns, paralelamente às provas funcionais;
- d) A febre do humidificador deve ser sempre suspeita nos casos de febre recorrente em ambientes onde não exista humedificação por aerossóis;
- e) Deve suspeitar-se da pneumonia pouco comum, causada pela *Legionella pneumophila*, em primeiro lugar em pessoas com baixa resistência às infecções que tenham estado em contacto com torres de arrefecimento ou que tenham estado em contacto em países quentes e aerossóis de chuveiros;
- f) Recomenda-se que o radão ou o fumo do tabaco ambiental («Environment Tobacco Smoke», ETS), sejam considerados como suspeitos de causar o cancro do pulmão, em indivíduos não-fumadores vivendo em áreas de elevados níveis de radão.

QUADRO VI  
TESTES LABORATORIAIS PARA AS DOENÇAS CAUSADAS POR AGENTES BIOLÓGICOS

Doença	Agentes causadores	Exames laboratoriais	
		Doente	Ambiente
Infecção	<i>Virus</i> — gripe comum, sarampo, influenza, psitacose <i>Bactérias</i> — tuberculose, estafilococos <i>Outros</i> — criptococos	Os testes classicamente recomendados Aumentos de anticorpos específicos	Sem indicação
	Legionelose, Febre de Pontiac	<i>Cultivo</i> — Secreções respiratórias e lavagem bronco-alveolar (transportadas a 4°C em condições estéreis e protegidas da secagem. Não devem ser utilizadas soluções salinas) <i>Serologia</i> — Pode ser útil para identificar um surto. Diagnóstico retrospectivo, em doentes agudos ou em fase de convalescença; legionella pneumophila, tem 14 subgrupos	Cultivo a partir de fontes suspeitas (das torres de arrefecimento, dos chuveiros, etc.) é aconselhada no caso de mais de um dos doentes não ter estado no estrangeiro O isolamento da legionela não é prova de que a fonte tenha sido identificada. A tipificação das estirpes isoladas do doente e do ambiente é indispensável
	<i>Aspergillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , etc.	Principalmente em doentes imunocomprometidos e nos hospitais Diagnóstico — culturas do sangue ou das secreções respiratórias	Amostragem do ar está indicada para identificar a fonte
Asma, Rinite, etc	Bolores, Pólen, Algas, Detritos animais, Acaros, Detritos de insectos, Baratas	<i>Cultivo</i> — não indicado <i>Serologia</i> — IgE totais, IgE específicas (RIST, RAST EIIISA) Testes cutâneos	<i>Cultivo</i> — não indicado usualmente
Alveolite, Hipersensibilidade, Pneumonia	Bolores, bactérias (conforme o ambiente, hospitais, estábulos, serrações etc.) Cedros vermelhos Dejectos de aves	<i>Cultivo</i> — não indicado <i>Serologia</i> — Testes para anticorpos IgE, se o agente causador é conhecido <i>Teste Positivo</i> — indica exposição mas não diagnostica doença <i>Teste Negativo</i> — doença não causada pelo antígeno usado, mas o doente pode ter sido exposto a outro antígeno Seguimento epidemiológico	<i>Cultivo</i> — não indicado usualmente. O uso de sedimento dos humidificadores como antígenos para a testagem de anticorpos por precipitação <i>Serologia</i> — níveis elevados de IgE num grupo de pessoas pode ser indicativo de uma exposição Medidas preventivas devem ser suplementadas

QUADRO VI (Continuação)

Doença	Agentes causadores	Exames laboratoriais	
		Doente	Ambiente
Febre dos humidificadores	Bactérias, Algas (Diferentes microrganismos implicados e contaminantes dos humidificadores)		
Toxicose Síndrome das poeiras tóxicas orgânicas («Organic toxic dust syndrome»)	Endotoxinas (Micotoxinas)	<i>Cultivo</i> — não indicado <i>Serologia</i> — sem res- posta de anticorpo	<i>Indotóxicos</i> — só inves- tigação <i>Cultivo</i> — usualmente não indicado; verifica- ção da amostragem

## VII — Testes biológicos para bioaeróis

Existem vários exames de rotina para a identificação de vírus, bactérias, fungos e algas em bioaeróis. Para a identificação de ácaros, detritos de insectos ou produtos de origem animal existem vários testes imunológicos. A identificação de produtos metabólicos, micotoxinas e endotoxinas ou dos compostos orgânicos voláteis (COV'S) é mais difícil e só por métodos laboratoriais de investigação.

Para se verificar se existe uma relação causal entre os achados imunológicos no doente e a exposição ambiental, deve ser feita uma amostragem da poluição suspeita. A maioria dos problemas estão relacionados com a amostragem de bioaeróis no ar.

### 1 — A amostragem de bioaeróis no Síndrome dos Edifícios Insalubres (SEI) e nas Doenças Relacionadas com Edifícios (DRI)

Se os factores responsáveis pela contaminação microbiana estão realmente presentes, é muito mais económico admitir que o problema do bioaerosol existe e recomendar imediatamente medidas de precaução, do que esperar pelos resultados de uma confirmação do ar interior. a amostragem do ar interior é cara, demora muito tempo e na maioria das vezes não dá uma resposta precisa<sup>(9)</sup>.

A amostragem do ar torna-se necessária nas seguintes condições:

- As fontes de contaminação não são evidentes, mas os sintomas relacionados com a exposição a bioaeróis existem;

- As fontes de contaminação não são evidentes, e os bioaeróis não parece estarem envolvidos. As queixas são, contudo, positivas e claras sobre a existência de «fungos e bactérias». Podem ser encontrados bioaeróis que não são relevantes;
- Mesmo que as fontes estejam presentes, é por vezes necessário provar que um foco interior está causando contaminação do ar e possivelmente na origem das doenças.

Como técnicas de amostragem citam-se:

- Métodos gravimétricos simples (não recomendáveis);
- Amostragem volumétrica do ar. As técnicas ainda não estão padronizadas. É preferível usar a metodologia dos laboratórios que usem as mesmas técnicas para possibilitar uma comparação posterior.

### 2 — Recomendações

- As pessoas que se queixem de sintomatologias relacionadas com factores dos edifícios devem ser examinadas por um médico com conhecimento dos problemas SEI;
- Existem bastantes testes recomendáveis, mas que devem ser usados passo a passo, dado que são caros e difíceis de interpretar;
- Devido aos custos e ao tempo perdido com os exames, é recomendável a implementação imediata de medidas cautelares ou de remédio se uma fonte de contaminação é identificada à inspecção;

- d) São necessários exames laboratoriais imediatos, se se demonstrou o diagnóstico de infecção por Legionella ou se se verificar uma relação causal entre a exposição no edifício em causa e a doença, noutras exposições semelhantes;
- e) Testes imunológicos usando alérgenos ambientais e o soro dos pacientes são recomendados como os mais úteis para se verificar uma exposição a bolores ou a microrganismos termófilos nas alveólites alérgicas bem como no caso da febre dos humidificadores e da febre de pontiac;
- f) Cada vez que se suspeite de uma situação SEI devem ser incluídos exames ambientais no processo de diagnóstico.

## VIII — Factores da qualidade do ar interior («Indoor Air Quality», IAQ) responsáveis pelas queixas (QRE) e pelas Doenças Relacionadas com Edifícios (DRE)

### 1 — Factores responsáveis

A importância relativa de alguns dos factores responsáveis pelos QRE e DRE mostram-se no Quadro VII.

Quando o médico de família ou o especialista de medicina ocupacional considera que um dos seus doentes está sendo afectado como consequência de uma exposição à má qualidade de um ambiente

### QUADRO VII

#### IMPORTÂNCIA RELATIVA DE ALGUNS FACTORES RESPONSÁVEIS PELAS QUEIXAS RELACIONADAS COM EDIFÍCIOS (QRE) E DAS DOENÇAS RELACIONADAS COM EDIFÍCIOS (DRE)

Poluente da qualidade do ar interior (QAI)	Infecções	Alergias	Síndrome dos edifícios insalubres (SEI)	Outros
Temperatura			XX	
Humidade relativa		X	XX	
Ventilação	XX	X	X	X
Ácaros		XX	X	
Animais de estimação		X	X	X
Fungos		XX	X	
Bactérias	XX		X	
Poeiras		X	X	
Compostos orgânicos voláteis (VOC'S)		X	XX	
Produtos de combustão			X	X
Fumo de tabaco ambiental (ETS)		X	X	X
Radão				XX

interior, deve providenciar uma visita ao local do edifício, na companhia do doente, para se certificar onde e quando ocorrem os efeitos. Posteriormente, na companhia dos engenheiros sanitários, especialistas na área da Qualidade do Ar Interior, deve inspecionar o edifício em questão e tentar localizar as fontes possíveis de poluição.

A metodologia que deve ser utilizada na identificação dos poluentes e respectivas fontes é suma-

rizada no Quadro VIII para os ambientes domésticos e no Quadro IX para os acidentes de trabalho e hospitalares.

### 2 — Recomendações

- a) Para fins clínicos, a inspecção e identificação visual dos compartimentos deve ser a

QUADRO VIII

IDENTIFICAÇÃO DE POSSÍVEIS POLUENTES NA QUALIDADE DO AR INTERIOR DO AMBIENTE DOMÉSTICO

Fontes de poluentes ou poluentes	Métodos de identificação	Factores de importância especial
Temperatura	Monitorização de 24 h	Sobreaquecimento
Humidade	Idem	Sazonal; condensação em superfícies frias
Ventilação	Humidade relativa, CO <sub>2</sub> elevado	Sazonal; sistema de aquecimento; janelas fechadas
Ácaros	Alergénio	Humidade e ciclo sazonal; lavagem de roupa de cama
Animais de estimação	Alergénio	Quarentena; carpetes
Fungos	Visual; olfato, pó; sedimento Amostragem para culturas	Sazonal; humidade; caves sujas e inundadas; fugas
Bactérias	Sedimento visível	Humidificador; temperatura dos sistemas de aquecimento de águas
Poeiras	Visíveis; carpetes; prateleiras abertas	Ambiente exterior; renovação do ar
Compostos orgânicos voláteis	Absorção térmica; amostras com solventes para os compostos totais; etanol como indicador de fungos	Edifícios novos; materiais do mobiliário
Produtos de combustão	«Lápis de fumo»; monóxido de carbono; monitorização de NO <sub>2</sub> e CO	Lavagens próximas, aquecedores não ventilados
Fumo de tabaco ambiental	Partículas suspensas inaláveis	Ventilação, material de forro
	Monitorização (4 dias a vários	

primeira atitude a tomar, que, por si, só pode ser suficiente para um diagnóstico clínico preliminar;

- b) A verificação dos factores relacionados com os edifícios por métodos objectivos, como causa de doença suspeita relacionada com o edifício, deve ser o objectivo para confirmar o diagnóstico etiológico;
- c) A cooperação entre o pessoal médico e o pessoal técnico é indispensável para se en-

contrar a origem da causa mais provável das queixas;

- d) A análise dos compostos orgânicos voláteis (VOC'S) não é usualmente aconselhada no diagnóstico médico das DRI por ser pouco específica e cara. Os estudos epidemiológicos são, contudo, indispensáveis. Se os compostos voláteis são suspeitos de serem um problema e se existe um seguimento das observações, depois de efectuadas alterações,

## QUADRO IX

## IDENTIFICAÇÃO DE POSSÍVEIS POLUENTES NA QUALIDADE DO AR INTERIOR DO AMBIENTE INDUSTRIAL E HOSPITAIS

Fontes de poluentes ou poluentes	Métodos de identificação	Factores de importância especial
Temperatura	Monitorização de 24 h.	Sobreaquecimento
Humidade	Idem	Sazonal; taxas de ventilação
Sistema de ventilação (HVAC)	Inspeção do sistema do ar acondicionado; filtros; isolamento das condutas ás poeiras; inspeção de possível contaminação e de contaminações cruzadas; verificação do abastecimento de ar e dos pontos de exaustão; Possibilidade de despressurização	Poluição por veículos; contaminação cruzada pelos exaustores; mudança de ar e ocupação
Poeiras e fibras	Aquecimento; ventilação; ar condicionado, sua filtração; inspeção visual da limpeza; número de carpetes e prateleiras abertas; Microscopia das fibras sintéticas minerais e de asbestos	Materiais de construção; materiais do tecto; canos de ventilação; limpeza de materiais; estado dos filtros poeiras externas; renovação de materiais
Fungos	Sedimento visível; amostragem do ar, do pó e do sedimento; cultura e identificação de espécies	Sazonal; humidade; caves antigas; materiais em água estagnada; fugas
Bactérias	Sedimento visual, culturas	Humidificadores; sistema de aquecimento de águas
Compostos orgânicos voláteis (VOC'S)	Absorção térmica; amostragem com solventes; detector de chamas de ionização para compostos totais (FID); cromatografia de gás e espectrometria de massa (GC/MS) para os compostos principais; etanol como indicador	Edifícios recentes; materiais de mobiliário; pinturas; fontes pontuais
Produtos de combustão	Lápis de fumo para verificar a ventilação imprópria; CO2 como indicador; monitorização do NO2 por largos períodos de tempo	Estacionamento automóvel; aquecedores de gás não ventilados; fumo de tabaco
Fumo de tabaco ambiental (ETS)	Inspeção visual; cheiros; medição de partículas suspensas inaláveis	Exaustores locais; adsorção a matéria de ferro
Impressoras e fotocopiadoras	Proximidade dos doentes em zonas de trabalho; ozono; compostos orgânicos voláteis	Exaustores locais junto a pessoas doentes

é então recomendável uma análise dos com postos voláteis, antes e depois das remodelações;

- e) Os Quadros VIII e XI são aconselháveis como um guia de escolha para investigar o parâmetro ambiental mais relevante em relação com o diagnóstico etiológico suspeito no edifício insalubre;
- f) Depois da reparação do sistema de ventilação e de outras alterações terem sido feitas, na sequência de queixas SEI, devem ser conduzidos mais exames de verificação;
- g) O diagnóstico de situações DRE ou SEI num edifício deve levar a acções no sentido de se evitarem novos casos, com as mesmas queixas e as mesmas doenças.

## **IX — Conduta médica para o tratamento e prevenção nas situações de Doenças Relacionadas com Edifícios (DRE) ou de Queixas Relacionadas com Edifícios (QRE)**

### **1 — Actividade médica**

A conduta médica a tomar de um ponto de vista preventivo, antes que surjam queixas, a intervenção em casos esporádicos ou em face de surtos epidémicos ou de situações endémicas crónicas, relacionadas com queixas ou processos patológicos, é sumariada no Quadro X.

A conduta do médico de família e a do especialista de medicina ocupacional, envolvidos no processo, são diferente. Em qualquer situação é indispensável alguém com experiência na área da Qualidade do Ambiente Interior.

Para evitar as consequências da exposição a um mau ambiente interior, a sua prevenção constitui a medida mais eficaz. Este aspecto é particularmente importante nas situações em que vastos edifícios são ocupados por centenas de pessoas nas mais variadas actividades. A informação sobre as medidas preventivas pode desempenhar um papel relevante. Assim, os ocupantes dos edifícios devem ser informados do que é o ambiente interior e dos factores que levam ao seu mau funcionamento, como o aquecimento, o ar condicionado, falta de limpeza, uso de químicos, etc. O papel potencial desempenhado pelo equipamento de trabalho na alteração da qualidade do ambiente interior deve também merecer atenção, como as fotocopiadoras, impressoras, monitores

visuais de computadores, utilização de tintas ou desinfectantes, etc.

Na inspecção médica de um candidato a uma empresa deve ser levado em consideração na história clínica a possível existência de processos patológicos que venha a constituir um factor agravante e tornem o futuro empregado mais vulnerável a situação SEI. Estão nestes casos a existência de eczemas, alergias, dores musculares crónicas, antecedentes atópicos, etc. Nestes casos é aconselhável ou a mudança de emprego ou a colocação em ambiente menos agressivo.

Quando um paciente se apresenta numa empresa com sintomas, a história clínica e o exame clínico devem excluir a existência de alterações somáticas ou perturbações psicológicas, mesmo que elas possam coexistir com a sintomatologia SEI. O estabelecimento da relação temporal entre as actividades no interior dos edifícios e o aparecimento dos sintomas é importante, como importante é a maior informação possível, a partir do paciente examinado, de todas as pessoas que apresentam os mesmos sintomas. Deve ser uma norma a aplicar tanto a casos isolados como a situações endémicas ou epidémicas.

Os serviços de saúde ocupacional e de segurança do trabalho conjuntamente na criação de uma política de acção e de educação permanente das pessoas expostas ao ambiente interior dos locais de trabalho. Os serviços de segurança do trabalho devem registar todas as queixas apresentadas durante as visitas de rotina. Deste modo, em situações da ocorrência de casos, devem estar em condições de proceder imediatamente à identificação da causa e recomendar as necessárias medidas de remedeio. Em todas as circunstâncias, o serviço de manutenção deve estar informado sobre as queixas de mal-estar, bem como da importância do bom funcionamento de filtros, exaustores, etc.

A entidade responsável pela conservação dos edifícios deve ser informada de todas as ocorrências e incluir as necessárias despesas no orçamento ordinário da administração. Em caso de aparecimento de casos graves ou da ocorrência de episódios epidémicos a entidade responsável deve estar preparada para uma acção global a nível de toda a empresa ou organização.

### **2 — Recomendações**

- a) O médico responsável deve informar os serviços de segurança do trabalho e de saúde ocupacional e a administração de todos os casos suspeitos de SEI;

## QUADRO X

## SINOPSE DA ACTUAÇÃO MÉDICA EM FACE DAS DRE E DAS QRE

	Paciente	Na Empresa				Fora da Empresa
		Serviço de Saúde Ocupacional	Segurança do Trabalho	Serviço de Manutenção	Administração	Médicos, Engenheiros, Sindicatos e Estado
Acção preventiva	Informação, Canais de Comunicação, Exame médico prévio Colocação no lugar adequado	Programa de acção Registo Regular de queixas	Programa de acção Literatura educativa em panfletos	Informação Treino Percepção social	Programa de acção Orçamento	Divulgação em panfletos para o médico de família
Casos isolados	História e exame clínicos Testes de diagnóstico simples Excluir alterações somáticas e psicológicas Análise da relação temporal dos sintomas com actividade Recomendações Possível tratamento Informação sobre direitos e canais de comunicação Obtenção de informação de outros casos do paciente observado	Visita aos locais de trabalho Discussão de medidas a tomar imediatamente	Participar as ocorrências Coligir as informações	Coligir as informações		Convocar o médico de família Participação obrigatória à Autoridade Sanitária
Grupo de Trabalho Epidemiológico						
Situações epidémicas	Idem	Contacto imediato (telefone)	→ Idem	→ Idem	→ Idem	Idem
		Organização/Corrdenação das várias acções	→ Idem	→ Idem	Preparar uma comunicação geral	
Situações endémicas	Idem	Idem	Idem	Idem	Idem	Evitar os intrusos

- b) A investigação de qualquer caso SEI deve ser o resultado de um esforço integrado dos médicos e dos técnicos responsáveis que tenham experiência em abordar problemas da Qualidade do Ambiente Interior;
- c) Nas situações epidémicas é recomendável a constituição de um grupo de trabalho epidemiológico, com a participação dos representantes da segurança do trabalho e da saúde ocupacional, dos serviços de manutenção e da própria administração.
- d) Nas situações endémicas, onde as queixas apresentadas são numerosas, recomenda-se recorrer a consultores, ou a representantes de equipamentos de controlo que procurarão tirar partido da situação exclusivamente em benefício próprio.

## X — Metodologia e recomendações médicas para o tratamento e prevenção das Doenças Relacionadas com Edifícios (DRE)

### 1 — Metodologia

- a) *Doente* — Fazer uma exaustiva história clínica e competente exame clínico;
- b) *Ambiente Interior dos Edifícios* — Proceder a um estudo do ambiente. Determinar as possíveis fontes para os efeitos adversos para a saúde. Procurar os alérgenos que geralmente são os mesmos no ambiente doméstico ou no ambiente de trabalho (Animais de estimação, Ácaros, Baratas, Fungos e Pólenes);
- c) *Infeções* — As fontes de contaminação e a transmissão podem ser de pessoa a pessoa bem como através da ventilação ou do sistema do ar condicionado;
- d) *Sensibilidade Química Múltipla* («Chemical Hypersensitivity Syndrome») — representa uma provocação especial cuja etiologia e manifestações clínico-patológicas são obscuras e não seguem as tradicionais leis da patologia clássica. Existe por isso uma grande diferença na abordagem das Doenças Ocupacionais e a Sensibilidade Química Múltipla.

A prevenção e a abordagem das Doenças relacionadas com Edifícios (DRE) depende conjuntamente do controlo do ambiente, da identificação e tratamento das infeções, e toma ainda em consideração os factores de comportamento pessoal. Uma

boa revisão dos aspectos médicos é feita por James Day <sup>(10)</sup>.

### 2 — Recomendações

- a) A prevenção de situações como DRE ou QRE devem ser tomadas o mais precocemente possível, logo na concepção arquitectónica, dado que as situações de remedeio são muito mais caras do que resolver situações evitáveis;
- b) As pessoas com um passado de alergia respiratória devem ser alertadas para as situações de excessiva humidade, as quais favorecem o desenvolvimento de fungos e ácaros nos ambientes interiores;
- c) Nos casos de sintomas alérgicos deve ser aconselhado a imediata remoção de alérgenos (de ratos, de ácaros, fungos e de animais de estimação) bem como a remoção dos compostos irritantes das membranas mucosas (formaldeído, solventes, poeiras, etc.);
- d) É especialmente de recomendar a identificação de fontes de infeções e do modo de transmissão e a administração do necessário tratamento médico no caso das infeções de propagação local;
- e) Nos episódios de febre aguda ou recorrente a atenção deve centralizar-se nos humidificadores de ar frio que são os reservatórios por excelência do crescimento de bactérias gram-negativas, algas e legionelas;
- f) É especialmente recomendado que pessoas com síndromas de hipersensibilidade relacionados com o ambiente interior sejam imediatamente assistidos assim que surjam os primeiros sintomas. De igual modo, torna-se necessário identificar os componentes físicos e psicológicos, aconselhar as necessárias medidas terapêuticas e promover a remoção das causas dos sintomas de hipersensibilidade;
- g) Deve pôr-se o maior empenho na investigação dos factores responsáveis: pela sensibilidade Química Múltipla ou pelo Síndrome de Hipersensibilidade Química;
- h) O tratamento médico deve ser o mesmo que para as doenças equivalentes com outras etiologias que não sejam relacionadas com edifícios;
- i) Os médicos responsáveis pelo diagnóstico de uma situação de DRE devem tomar a iniciativa imediata de prevenir o aparecimento de um surto epidémico da mesma doença.

## **XI — Medidas técnicas para eliminar ou prevenir situações de Queixas Relacionadas com Edifícios (QRE) e de Doenças Relacionadas com Edifícios (DRE)**

### **1 — Planeamento das medidas a tomar**

Para se realizar o objectivo de um ambiente saudável e agradável, o planeamento da Qualidade do Ar Interior de um Edifício (QAI) tem de se iniciar logo na concepção do edifício, na construção, no funcionamento, na manutenção e eventualmente nas operações de reestruturação ou renovação futuras.

Quando um problema (QAI) é identificado, existe um conjunto de medidas que podem ser utilizadas para a sua eliminação ou, pelo menos, para a sua atenuação. As medidas técnicas primárias e secundárias encontram-se sumarizadas no Quadro XI.

### **2 — Recomendações**

- a) Os ocupantes de um edifício devem estar familiarizados com as características do ambiente dos edifícios e dos mecanismos regulares da humedificação, ventilação e instalação do ar condicionado. Os critérios de ventilação devem ser publicitados nas diferentes áreas, conjuntamente com o máximo permitido de ocupação de pessoas;
- b) A regulação térmica do ambiente, a manutenção da limpeza e da eficiência da ventilação são a primeira medida para que se evitem queixas por parte dos ocupantes;
- c) A eliminação de alérgenos e de poeiras de acordo com as normas prescritas, são a primeira medida de prevenção às reacções alérgicas à poluição do ar interior;
- d) A estratégia de prevenção da poluição pelo radão, deve ser prioritária em áreas cujo solo seja rico em radão, de molde a reduzir a exposição aos mais baixos níveis de acordo com os valores limiares limites para os edifícios residenciais («Threshold limit value»).

QUADRO XI  
MEDIDAS TÉCNICAS PARA ELIMINAR OU MITIGAR SITUAÇÕES DE QRE E DRE

Poluente	Medidas Primárias	Medidas Secundárias
Animais de estimação	Afastamento	Quarentena dos animais, eliminação das carpetes, especialmente nos quartos e salas de demorada permanência
Fumo de tabaco ambiental	Proibição de fumar	Ventilação por exaustores; eliminação de materiais lanosos
Produtos de combustão	Evitar equipamento sem ventilação; selar as garagens ou casas de máquinas, dos comportamentos habitáveis, e correctamente pressurizados	Eliminar a poluição através de fornalhas com ventilação forçada
Fotocopiadoras, impressoras «laser»	Comportimentos separados com exaustores	Localização afastada
Ácaros	Lavagens das roupas de cama; manter a humidade inferior a 40 % nos meses de inverno	Evitar carpetes de lã; eliminar as carpetes dos quartos e compartimentos com permanência, Humidade inferior a 55 % no Verão
Fungos	Eliminar os humidificadores ou mantê-los limpos semanalmente; desinfecção com biocidas; não colocar carpetes sobre pavimento de tacos; reduzir a humificação no Verão e Outono	Reduzir a humidade no Verão e no Inverno; limpeza de reservatórios; isolar a tubagem fria
Bactérias	Medidas semelhantes aos fungos para reservatórios de água; tanques de água quente a 60° C	Reduzir as aplicações de plástico e borracha nas juntas dos chuveiros
Temperaturas elevadas	Reduzir as temperaturas	Colocação de termostatos
Humidade elevada	Reduzir a 10 % pelo menos	De humidificadores em áreas problemáticas
Ventilação	Utilização de janelas com aberturas; eliminar a readmissão dos poluentes dos exaustores; assegurar uma boa taxa de exaustão e o regular funcionamento dos filtros	Melhorar a circulação do ar e evitar a estratificação do ar ou o turbilhamento
Compostos orgânicos voláteis	Reduzir através da eliminação de fontes produtoras, de exaustores locais e melhoria da circulação	Edifícios novos; materiais do mobiliário
Poeiras	Limpeza húmida semanal; eliminar carpetes	Sistemas de filtrações
	Manter a diferença de pressão à volta do revestimento das caves	Tapar as rachas existentes nas caves

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — WHO — Indoor Air Pollutants. Exposure and Health Effects Asssments. **Euro Reports and Studies**, 78. Working Group Report. Copenhagen: WHO Regional Office, 1992.
- 2 — MØLHAVE, L. — Volatile organic compounds and the sick building syndrome in «Environmental Toxicants. Human Exposures and Their Health Effects, Morton Lippmann editor. Van Nostrand Reinhold, New York, 1992.
- 3 — NATO/CCMS Pilot Study, on Indoor Air Quality. 4th Plenary Meeting in Oslo, August 19-21, 1991, Coordenador Finn Levy, National Institute of Occupational Health, Oslo, Norway.
- 4 — MØLHAVE, L. — Human response to volatile organic compounds as a pollutants in normal building. **J. Exposure Anal and Environ Epidemiol.**, 1, 1991, 1: 63.
- 5 — MØLHAVE, L. and THORSEN — A model for investigations of ventilation systems as sources for volatile organic compounds in indoor climate. **Atmos. Environ**, 25 A, 1991, (2): 241.
- 6 — WHO — Indoor Air Quality: Organic Pollutants. Report on a WHO Meeting, **Euro Reports and Studies**, 111. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 1989.
- 7 — American Conference of Government Industrial Hygienists (CGIH) — TLV'S: Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices for 1990-91. Cincinnati: ACGIH, 1990.
- 8 — MØLHAVE, L. and NIELSEN, G. D. The TVOC indicator of human response to low level exposures to volatile compounds (VOC). *Indoor Air*, 1992.
- 9 — BURGE, H. — Air Sampling of Bioaerosols in BRI/SBS. **J. Allergy Clin. Immunol**, 1990, 86: 696.
- 10 — DAY, J. H. Medical and Laboratory Criteria for the Diagnosis and Differential Diagnosis of Building Related Illnesses (BRI)/Sick Building Syndrome (SBS). NATO/CCMS Pilot Study on Indoor Air Quality, Oslo, Norway, August. 19-21, 1991.



# A utilização de questionários normalizados no estudo do síndrome dos edifícios insalubres

J. J. Amaral Mendes, MD, PhD (London) \*

## Introdução

Este trabalho é baseado na comunicação do Dr. Kjell Andersson apresentada ao workshop NATO sobre «Indoor Air Quality» de 1991<sup>(1)</sup>. Sobre este workshop foi também por nós apresentado um trabalho para publicação nos Arquivos do INSA em 1991<sup>(2)</sup>.

Os ocupantes dos modernos edifícios apresentam com frequência queixas sobre a deterioração da qualidade do ar e de ligeiros sintomas que podem estar relacionados com o clima interior dos edifícios<sup>(3)</sup>. Todos estes sintomas observados são comuns na população em geral e têm causas que podem não estar relacionadas com a construção dos edifícios. As vistorias técnicas ao clima interior daqueles edifícios revelam na maioria dos casos concentrações de substâncias químicas muito abaixo das que seriam responsáveis pelo aparecimento de efeitos deletérios sobre a saúde, além de que os parâmetros térmicos e de ventilação se encontram dentro dos limites aceitáveis pelas recomendações legais. Desta maneira, até ao momento presente, a frequência dos sistemas observados é usualmente a melhor fonte para o estabelecimento do índice sanitário de um edifício. A percepção do ambiente interior pelos ocupantes do edifício, pode ser de igual modo usada para descrever o clima interior em termos de cheiros, da percepção de ar seco, de temperaturas elevadas, etc. O problema reside deste modo, na possibilidade de se estabelecer uma estimativa imparcial da prevalência dos sintomas e das percepções ambientais com boa reprodutibilidade da prevalência dos sintomas e das percepções ambientais com boa reprodutibilidade.

A normalização da informação recolhida dos ocupantes dos edifícios dá possibilidade de estabelecer comparações entre amostras de diferentes populações e comparar os resultados de diferentes estudos. Os questionários directos («Self-administered») constituem um meio simples, barato e economicamente rentável para se obter aquela informação, além de que demonstrou já produzir estimativas satisfatórias dos Sintomas dos Edifícios Insalubres (SEI), evitando-se, deste modo, a potencial influência de um entrevistador<sup>(4)</sup>. A necessidade de desenvolver um questionário normalizado sobre o SEI foi já uma necessidade apresentada em reuniões internacionais, como em Estocolmo, em 1988<sup>(5)</sup>, ou em Toronto, em 1990<sup>(6)</sup>. Este trabalho procura descrever a experiência sueca (Örebro Medical Center) no campo da Medicina Experimental e divulgar ainda a experiência de alguns estudos já efectuados.

## A estrutura do questionário

Ao criar-se um questionário é essencial definir o objecto de estudo. Um questionário básico, como instrumento prático para estudar o clima interior de edifícios, é naturalmente diferente de um questionário concebido para observar os efeitos imediatos na sequência da alteração de determinados parâmetros ambientais, ou de um questionário especificamente elaborado para identificar certas doenças num grupo de pessoas.

O questionário descrito neste trabalho baseia-se em recomendações feitas pela OMS em 1984<sup>(7)</sup> e na tentativa anterior levada a cabo pelo Dr. Kjell Andersson em 1986<sup>(8)</sup>.

Essa primeira tentativa foi orientada fundamentalmente para locais de trabalho, tendo sido ainda criadas outras versões para edifícios residenciais e para escolas. O estudo que se pretende efectuar constitui uma experiência inédita pois vai permitir adaptar o inquérito do Dr. Andersson, dos locais de trabalho, ao ambiente hospitalar.

\* Prof. Associado da Universidade de Évora, Instituto de Anatomia de Coimbra e colab. do Instituto Nacional de Saúde

O princípio básico usado na compilação do questionário foi o de criar um modelo simples e curto, com perguntas objectivas e reproduzíveis. Em todos os questionários, quer para os ambientes de trabalho, quer para os edifícios residenciais, quer para as escolas, foi elaborado um núcleo de perguntas comuns, de modo a tornar possível uma certa comparação entre eles. É um tipo de orientação que poderá ser também levada em consideração, em Portugal, na elaboração de futuros questionários. Para cada tipo de ambiente foram, contudo formuladas perguntas específicas, como é o caso dos locais de trabalho onde eram postas questões, como por exemplo, o aspecto estimulador do trabalho, a saturação posta pela sobrecarga de trabalho, o apoio social no local de trabalho, etc.

A adaptação do inquérito ao ambiente hospitalar português, numa primeira fase, irá certamente sugerir modificações sobre o tipo de alterações específicas a introduzir nas perguntas do inquérito original do Dr. K. Andersson (Fig. 1).

O conjunto geral do questionário contém questões sobre o clima interior, sobre sintomas, relação possível desses sintomas com o ambiente específico de trabalho, características pessoais do entrevistado como a história médica ou a história familiar de doenças atópicas\*.

No caso das questões sobre o ambiente interior, pergunta-se:

«Foi incomodado nos últimos 3 meses por algum dos seguintes factores no local de trabalho?»

— Os factores ambientais incluem, a temperatura, a qualidade do ar e factores físicos em geral, como o ruído e a luminosidade.

— As categorias de respostas possíveis são:

«Sim, com frequência» (cada semana), «Sim, às vezes» e «nunca».

No caso das questões sobre sintomas pergunta-se: «Durante os últimos 3 meses teve alguns destes sintomas?»

— O conjunto de sintomas inclui sintomas vagos ou gerais, irritação das membranas mucosas e problemas de pele.

— As categorias de resposta são as mesmas que as mencionadas anteriormente.

Em relação a cada uma das questões vistas anteriormente pergunta-se ainda:

Acha que os sintomas estão relacionados com o seu ambiente de trabalho?

O conjunto de questões escolhidas mostrou ser o mais adequado para resolver na prática os problemas do ar interior e ainda uma base credível para se obterem medidas e índices.

Os factores psicológicos podem ser de grande importância, especialmente nos locais de trabalho<sup>(9)</sup>. Contudo, na experiência do Dr. K. Andersson<sup>(1)</sup>, não são muito frequentes; as poucas perguntas de carácter psicossocial do inquérito dos locais de trabalho (LT) não dão uma ideia precisa do clima psicossocial nesses locais e são formuladas para dar unicamente uma indicação dado que existe um outro questionário na Suécia especialmente dedicado à saúde ocupacional<sup>(10)</sup>.

Como as dimensões das populações nos edifícios estudados é relativamente pequena (escritórios, centros diários de acolhimento, etc.), verificou-se ser mais racional agrupar os sintomas em conjunto do que usar muitas perguntas isoladas para cada sintoma, como p.e., nariz bloqueado, corrimento nasal ou irritação nasal.

Por outro lado, perguntas combinadas, como «Durante os últimos... meses, teve alguns dos seguintes sintomas que na sua opinião sejam devidos ao clima interior do seu local de trabalho?», que foi usada nos primeiros questionários, deram por vezes resultados confusos. Verificou-se que, dividindo a pergunta em duas partes, se obtinham melhores resultados.

Nos primeiros questionários o período de tempo escolhido foi de um mês. A razão principal era a de que, nesse período seria possível usar os questionários imediatamente a seguir a potenciais ocorrências sanitárias. Verificou-se por vezes, contudo, que era necessário eliminar certas pessoas do estudo devido ao absentismo durante o período de estudo (férias, deslocações profissionais, períodos de doença, etc.). O período teve, assim, de ser alterado para 3 meses.

Como na Suécia as condições climáticas oscilam acentuadamente durante o Inverno e o Verão, os problemas do clima interior são exagerados nos períodos mais quentes. Os estudos de clima interior eram conduzidos, deste modo, de Outubro a Maio. Os questionários suecos, no entanto, utilizados durante o Verão na Suíça e nos Estados Unidos (Salt Lake City)<sup>(11)</sup>. É um ponto a ter em atenção noutros climas.

Como os factores ambientais interiores e os sintomas escolhidos são usuais na população, tornou-se necessário verificar se os interrogados eram afectados por alguns dos factores ambientais ou se regularmente exibiam alguns dos sintomas.

\* A Fig. 1 reproduz a versão portuguesa do Inquérito Örebro.

Usualmente era analisada só a alternativa «Sim, Não».

Verificou-se não ser necessário perguntar sobre a intensidade dos sintomas ou dos factores ambientais. Esta exigência tornaria a estrutura do questionário mais complicada, dado exigir-se mais uma dimensão, ao mesmo tempo que contrariava a ideia básica de um questionário simples e perguntas curtas.

## O procedimento na condução do inquérito

A descrição do clima interior é baseada na resposta directa dos ocupantes. A validade dos resultados obtidos deste modo é difícil de verificar mas é usualmente justificada quando é possível recorrer à fiabilidade de um teste de recontrole («test-retest») A validação feita contra o julgamento profissional de um médico ou de um higienista industrial é uma alternativa aceitável, mas uma validação externa feita contra medições físicas ou outros métodos objectivos é preferível. O problema é que, de uma maneira geral não existem boas medições físicas para descrever o clima interior de uma forma compreensiva, especialmente quando se tem de descrever a qualidade do ar ou do cheiro. «Ar seco», significa não só uma humidade relativamente baixa mas também gases e partículas emitidas. Na prática é, por vezes, feita uma validação imensa, isto é no sentido que os questionários apontam para alguns factores específicos do ambiente interno, os quais são subsequentemente verificados com medições. Nos últimos anos tem sido, aliás, desenvolvidos métodos muito práticos para validar numa base colectiva alguns dos sintomas do SEI. Está neste caso uma técnica dinamarquesa para o estudo da estabilidade do filme lacrimal do olho <sup>(12)</sup> e de uma técnica sueca que torna possível a sensibilidade da mucosa do nariz <sup>(13)</sup>.

A validade dos sintomas em questão nos primeiros questionários era aferida por comparação das respostas do questionário com o julgamento de um médico. A conformidade era aceitável para a inflamação da membrana mucosa (valor K de 0,5-0,7) mas muito baixa para sintomas gerais como a fadiga e a dor de cabeça (valor K de 0,3-0,4). A validade externa para factores de fundo («background»), tal como a dimensão de um apartamento, mostrava uma elevada correlação ( $r=0,97$ ). A fiabilidade do teste de controlo o hábito de fumar como indicador de validade era elevada, nos questionários suecos tanto para os locais de trabalho como para as habitações. A validação para a percepção do ruído contra o ruído, medida por

um sonómetro em decibéis, em 74 centros de acolhimento de dia, mostrou uma correlação positiva <sup>(14)</sup>. Durante as medições não se encontravam crianças nos edifícios pelo que o ruído só poderia ser atribuído ao sistema de ventilação.

A fiabilidade do teste de controlo para as perguntas nas versões finais tem valores apresentáveis apresentados apresentados como Valores Kappa. A média para os factores ambientais em questionários residenciais era de 0,58, com uma amplitude de 0,49-0,70; para os sintomas era de 0,57, com uma amplitude de 0,40-0,70, num estudo que envolveu 137 pessoas <sup>(15)</sup>. Valores K ainda de 0,75 correspondiam a uma concordância excelente para a maioria dos objectivos, valores entre 0,40 e 0,75 eram classificados de aceitáveis, enquanto valores mais baixos que 0,40 tinham um significado de fraca concordância <sup>(16)</sup>.

## Valores de referência

Se não são apresentadas queixas sobre o clima interior, pelos ocupantes de um edifício, o ambiente interior pode ser considerado saudável. Existem usualmente, contudo, pessoas que se queixam de sintomas, os quais creem estar relacionados com o clima interior dos edifícios. O problema aqui reside em verificar se a prevalência de queixas e sintomas são mais elevadas que o normal. Diferenças baseadas em sensibilidades individuais, atitudes, um clima psicossocial ou outros factores afectam os resultados do questionário e do estudo pelo que é importante avaliar o impacto desses factores sempre que possível.

A criação de Valores de Referência envolve variados aspectos políticos. As entidades patronais ou os senhorios mostram-se sempre relutantes em iniciar investigações em áreas onde aparentemente não existem problemas de clima interior. Quando é possível levar a cabo um estudo num edifício considerado salubre, mostra a experiência que é sempre possível encontrar problemas reais no clima interior desses edifícios.

Os Valores de Referência para a versão final do Questionário LT, que se mostra no Quadro 1, apresentam os resultados obtidos em 9 edifícios classificados «saudáveis» na Suécia (7 escritórios e 2 escolas). A variabilidade da prevalência de sintomas isolados ou de queixas é grande quando baseada nos nove edifícios, pelo que se torna necessário alargar esta referência de base. Diferenças em hábitos culturais e nacionais tornam necessário, provavelmente, criar Valores de Referência para cada país.

Uma questão geral que importa colocar é se se torna necessários Valores de Referência diferentes para ocupações diferentes. No questionário sueco usa-se um só tipo de referências.

Valores de Referência para habitações e escolas encontram-se igualmente a ser preparados na Suécia a nível nacional<sup>(17)</sup>.

## Efeito das medições

Na análise dos resultados do questionário do estudo são usados diferentes parâmetros de efeitos, tais como a prevalência de sintomas específicos (dores de cabeça, tosse, etc.), sintomas agrupados (sintomas gerais, inflamação/irritação da membrana mu-

QUADRO I  
PREVALÊNCIA DE SINTOMAS (%) COM DESVIOS PADRÃO (DP) E AMPLITUDE PARA O QUESTIONÁRIO DOS LOCAIS DE TRABALHO

	Sintomas relacionadas com o Ambiente					
	Valores de Ref.	DP	Amplitude	Valores de Ref.	DP	Amplitude
Fadiga	10	7,0	(4-21)	6	6,2	(0-17)
Sensação	5	5,4	(0-17)	4	5,3	(0-17)
Dor de Cabeça	5	4,4	(0-11)	4	3,4	(0-10)
Náusea/Vertigens	1	1,4	(0- 3)	1	1,1	(0- 3)
Dificuldade de Concentração	2	3,4	0-10)	2	3,4	(0-10)
Olhos inflamados	6	5,4	(0-14)	5	5,2	(0-14)
Nariz inflamado	9	3,3	(0-14)	5	5,2	(0-14)
Garganta rouca	5	3,2	(0,8)	4	2,6	(0- 7)
Tosse	3	4,1	(0-10)	2	2,6	(0- 7)
Pele da face seca	5	4,0	(0-14)	2	3,6	(0,10)
Orelha escamosa	6	2,8	(0-14)	2	2,0	(0- 4)
Mãos secas; Pele vermelha	4	2,8	(0- 5)	2	2,0	(0- 5)

cosa, problemas de pele), de diferentes índices (índice de sintomas de edifícios) e medidas (número médio de sintomas por pessoa, etc.). A análise do padrão dos sintomas é uma outra técnica já consagrada na literatura neuropsicológica. O uso de alguns dos parâmetros mencionados serão analisados à frente; contudo, de um ponto de vista geral nenhum deles se destaca como mais relevante.

## A estratégia do estudo

Torna-se necessário o maior cuidado na avaliação dos problemas do clima interior nas situações em que

os ocupantes se encontram desorientados e onde não existe possibilidade de uma comunicação efectiva. É por isso da maior importância utilizar-se o questionário com o maior cuidado, de maneira a não incluir no estudo grande número de excluídos ou exageros de informação. Informar e motivar os ocupantes é da maior importância, do mesmo modo que as pessoas financeiramente responsáveis pelos edifícios. A confidencialidade é outro aspecto a levar em conta. É igualmente importante não atrasar desnecessariamente a publicação dos resultados, especialmente se está planeado um estudo de catamnese. Um ponto crucial a ter em mente é o de se iniciar todo o processo pela área de interesses revelada pelos ocupantes.

É igualmente fundamental apresentar os resultados de maneira clara e facilmente compreensível como, por exemplo, através de gráficos que mostram a prevalência dos números para os factores ambientais ou para os sintomas. Estes gráficos devem incluir os Valores de Referência.

Esta técnica que corresponde a uma análise de um modelo/padrão, é um dos mais valiosos argumentos para que as pessoas aceitem o uso dos questionários.

É ainda indispensável que os questionários sejam considerados como parte básica do estudo e complementados por medições ou análises de carácter técnico. O questionário do Dr. Andersson foi inicialmente concebido como o instrumento básico para avaliar o clima interior de edifícios. Cinco anos de experiência de vários estudos mostraram ser possível o uso de questionários uniformizados/standardizados nas seguintes situações:

- 1 — Avaliação do clima interior de um edifício ou de uma amostra de edifícios;
- 2 — Comparação do clima interior de outro edifício ou com resultados de diferentes estudos, quando o mesmo questionário é utilizado;
- 3 — Orientação das recomendações técnicas e das medições de exposição;
- 4 — Estudos de seguimento na sequência de obras de reparação.

Em anexo, são descritos alguns exemplos onde os Questionários do Dr. Andersson serviram em diferentes estudos do clima interior ou como instrumento de reconhecida utilidade.

## Comentários críticos aos questionários

Desde 1983 que, na Suécia o «Industrial Health Care» (IHC) usa um conjunto uniformizado de questionários. Aproximadamente 10 % da força laboral daquele país respondeu àqueles questionários pelo menos uma vez. Os dados coligidos pelos inquéritos permitiram a criação de manuais de referência com mais de 100 designações oficiais. Foi com base na experiência e na compilação dos dados daqueles inquéritos que o Dr. K. Andersson concebeu o Questionário Örebro que é aqui objecto de apreciação.

Existe uma variação no intervalo de amplitude nos sintomas referidos pelos questionários usados nos estudos do clima interior dos edifícios. A redacção das perguntas do Questionário Örebro é baseada nos questionários suecos da «IHC» referidos atrás, pelo que perguntas do tipo, «Foi alguma vez incomodado por...?», ou «Com que regularidade

tem...?», mostravam-se sensíveis aos questionados e com aceitável especificidade<sup>(7)</sup>.

A redacção do questionário proposta em 1990, na V Conferência de Ottawa, propunha uma escala de frequências para um período de seis meses e com 5 categorias de resposta: nunca; menos de 1 vez por mês; 1-3 vezes por mês; 1-3 vezes por semana; quase diariamente<sup>(6)</sup>.

A experiência do Questionário Örebro mostrou que o período de 6 meses era longo, devido às condições climatéricas na Suécia que permitiam unicamente um período de estudo de Março a Maio, e diminuíam a utilidade do questionário consideravelmente. As 5 categorias de resposta davam mais informação, mas ao mesmo tempo tornavam a estrutura dos questionários consideravelmente mais compacta o que conduzia a uma taxa de resposta mais baixa. Na maioria das situações práticas torna-se necessário incluir outras categorias na análise devido ao pequeno número de questões.

Para classificar os sintomas como relacionados com o trabalho ou relacionados com o trabalho ou relacionados com outros ambientes específicos, ou não relacionados com qualquer deles existem duas possibilidades. A primeira é a de perguntar se os sintomas desaparecem com o afastamento dos locais de trabalho, ou do ambiente específico. A segunda, a adoptada no Questionário Örebro, é a de perguntar directamente aos interrogados se eles atribuem os sintomas aos locais de trabalho ou ao ambiente específico. Na experiência do Questionário Örebro verificou-se que os interrogados têm dificuldade em responder àquele tipo de perguntas são usados habitualmente para quantificarem aproximadamente o problema da dimensão dos edifícios com grandes problemas de clima interior, 70 a 90 % dos ocupantes relaciona os sintomas com o clima interior, mas nos edifícios considerados «saudáveis» as percentagens não vão além dos 50 %.

Poucos questionários incluem perguntas sobre a severidade dos sintomas. A razão principal é que com a nova dimensão os questionários afastam-se do princípio de os manter simples e curtos. O Questionário Örebro adopta como norma aquele princípio, que foi responsável pela elevada taxa de resposta, 85 %, nos questionários enviados por correio nas áreas residenciais.

A utilização dos questionários, como instrumento de avaliação para se obterem elementos e uma orientação técnica de investigação, ou para estudos de seguimento, exige estabilidade e reprodutibilidade. Torna-se necessário que as pessoas possam responder aos questionários várias vezes. É igualmente importante que não seja afectada por factores alheios

à esfera do clima interior. Há que salientar a importância dos «mass media» nas áreas residenciais.

Numa área residencial (Exemplo 10) um grupo de activistas emitiu a opinião de que uma renovação feita com elevados custos tinha falhado. O questionário de estudo, com 85 % de respostas, mostrou, contudo, quase o mesmo padrão de respostas que para a área de referência, situação que se repetiu nove meses mais tarde.

Se um estudo é feito de maneira correcta e os interrogados bem informados do propósito do estudo, a técnica do questionário não é afectada pelos «mass media» ou por factores de desordem.

Uma das preocupações da literatura relacionada com os problemas do clima interior é a desconfiança em relação ao exagero de queixas e aos sintomas em ambiente com mau clima interior. A experiência do Questionário Örebro contradiz este ponto de vista, pois a validação dos estudos a partir do sistema «IAC» sueco, mostrou significativamente baixa prevalência de queixas em ambientes que higienistas industriais classificavam como ameaçadores para a saúde. Uma entrevista de estudo conduzida por um psicólogo de comportamento numa área residencial, feita antes do questionário de estudo ter sido feito, mostrou que muitos residentes, na sua maioria idosos, dissimulavam com receio de sofrer incómodos de uma renovação.

Um estudo de investigação sobre a sensibilidade da membrana mucosa do nariz à histamina, numa área residencial com uma elevada exposição a poluentes químicos, mostrou que, mesmo pessoas negando qualquer problema, tinham as membranas sensíveis ao teste<sup>(13)</sup>.

É importante analisar os efeitos resultantes de vários factores individuais (idade, sexo, constituição atópica, estatuto profissional, etc.). Às vezes, são observadas diferentes correlações em locais de trabalho e em residenciais. Num estudo, marido e mulher concordavam em 85 % acerca do clima interior, mas as mulheres tinham uma mais elevada prevalência de sintomas, pelo que a concordância dos sintomas era menor que 60 %. Nos locais de trabalho são, por vezes, observadas grandes diferenças na apreciação do clima interior entre operários e operárias. Uma explicação possível é a de que o tipo de trabalho e «status» são diferentes para o homem e a mulher no mesmo local<sup>(11)</sup>.

\* N. B.: Para não sobrecarregar muito o texto, só alguns dos exemplos são ilustrados em forma gráfica.

## Exemplos práticos da experiência \*

### I — Os questionários como instrumento de inquirição

#### A — Locais de trabalho, escolas e residências

##### Primeiro exemplo

Numa área residencial nos arredores de Estocolmo constituída em 1979/81, quase logo a seguir à construção, os ocupantes começaram a queixar-se da má qualidade do ar e de efeitos sobre a saúde. Uma vistoria técnica localizou deficiências na construção e ventilação, pelo que vieram a ser feitas obras de reparação. No entanto os ocupantes continuaram a queixar-se. Um Estudo/Questionário preliminar revelou uma elevada prevalência de queixas e de sintomas, mas não se conseguiram detectar as causas.

Em Março de 1979, 1809 adultos foram interrogados pelo Questionário Örebro com uma taxa de respostas de 84 %. As queixas focam especialmente a má qualidade do ar com cheiro desagradável, poeira e sujidade. A prevalência dos sintomas era significativa em comparação com a área de referência. O sintoma mais referido era a irritação da membrana mucosa. Uma vistoria técnica revelou que um dos factores causais mais importantes era a emissão de vapores de caseína no conteúdo dos revestimentos do pavimento além de insuficiências de ventilação. Um exame de microscopia electrónica revelou serem as poeiras constituídas por material têxtil, com partículas de 10 a 30 µm de dimensão.

##### Segundo exemplo

Numa área residencial com 120 apartamentos os ocupantes queixavam-se do pavimento escuro de carvalho e de efeitos sobre a saúde. A companhia proprietária verificou igualmente a existência do mesmo problema de coloração do pavimento numa segunda área, mas aqui sem queixas dos moradores. Foi feito um Questionário/Estudo nas duas áreas e numa terceira como referência.

A taxa de resposta do estudo foi de 84 % e mostra-se na Fig. 2. As duas áreas em estudo tinham um padrão de sintomas muito semelhante, mas a primeira área tinha problemas evidentes de clima interior. Uma vistoria técnica verificou uma muito má ventilação na primeira área. O sistema de ventilação foi reparado imediatamente, tendo esta medida um bom efeito psicológico, além de que deixaram de existir queixas.

### Terceiro exemplo

Numa escola com o pavimento totalmente alcatifado, tanto os alunos como os professores se queixavam de mau clima interior. A escola tinha telhados simples com algumas infiltrações. O Questionário Örebro revelou uma elevada prevalência de queixas, como se mostra na Fig. 3. Contudo, na escola escolhida como controlo, a prevalência de sintomas era semelhante, dando-se até o caso de na escola controlo ser mais elevada a prevalência de problemas alérgicos que do na escola objecto de estudo.

Neste estudo foi possível comparar o padrão de resposta dos sintomas dos adultos com o dos alunos como se mostra na Fig. 3. De uma maneira geral os estudantes não referem elevados níveis de irritação para as membranas mucosas e para os problemas cutâneos, mesmo nos casos em que os adultos mostram prevalências elevadas.

Na análise do padrão dos factores ambientais e dos sintomas referidos pelos ocupantes, verificou-se que o problema principal era a má ventilação, pois os níveis de dióxido de carbono excediam 2500 ppm. As salas de aula praticamente não tinham sistema de ventilação.

Os resultados deste estudo deram azo a que os políticos na Suécia desencadeassem uma campanha, a nível municipal, para renovação dos edifícios das escolas, e que fosse reconhecido o valor da iniciativa pela administração local.

### B — Partes de edifícios ou residências isoladas

No interior de edifícios podem ocorrer grandes diferenças no que respeita ao clima interior. Torna-se, por isso, necessário seleccionar logicamente partes dentro de um edifício ou numa área vasta, por vezes diferentes andares, sectores com diferentes sistemas de ventilação, diferente localização geográfica, etc. Um problema que merece especial cuidado é o número relativamente pequeno de pessoas a trabalhar em escritórios. Nas escolas pode sempre haver o recurso ao interrogatório de estudantes com mais de 12 anos.

### Quarto exemplo

Num edifício construído no início dos anos 80 começaram a surgir queixas frequentes. Diferentes soluções foram propostas, mas sem resultado. Foi inclusivamente conduzido um estudo com a primeira versão do questionário dos locais de trabalho,

simultaneamente com uma vistoria técnica. O padrão dos sintomas variavam substancialmente nos três andares do edifício.

Através da leitura do diário de construção do edifício, verificou-se que as alcatifas foram colocadas no 1.º e 2.º andares, ainda com os pavimentos húmidos, enquanto a colocação nos 3.º e 4.º andares já encontrou os pavimentos mais secos. Além disso, o 3.º e 4.º andares não tinham ocupantes, em parte devido ao conhecimento que havia dos problemas nos dois primeiros andares, não tendo por isso, havido a possibilidade de fazer o inquérito. Verificou-se ao mesmo tempo, também através dos diários de construção, que o problema era muito menor na cave do edifício devido à utilização de um tipo diferente de cimento. A circulação do ar era, contudo, muito má em todo o edifício.

### Quinto exemplo

A área residencial do Primeiro Exemplo tinha 14 blocos com aproximadamente 100 apartamentos. O resultado do Questionário de Estudo mostrava grandes diferenças na prevalência de sintomas entre os diferentes blocos de apartamento, mesmo que o padrão básico de sintomas fosse semelhante. Um índice sanitário foi criado numa tentativa de graduar a salubridade dos diferentes blocos habitacionais. O Índice era definido como a percentagem de pessoas que davam uma resposta positiva em, pelo menos, uma das três perguntas: sintomas gerais, irritação da membrana mucosa e problemas de pele, mas nas quais o interrogado responsabilizasse o clima interior.

O padrão de sintomas é semelhante para as diferentes áreas, mas verifica-se uma diferença substancial entre os diferentes blocos de apartamentos. Todas as áreas controlo têm índices abaixo de 5%. Áreas acima de 10% usualmente correspondem a problemas graves.

### C — Estudos epidemiológicos

#### Sexto exemplo

Numa província do norte da Suécia, foram seleccionados 6000 empregados, de todos os locais de trabalho com mais de dez empregados<sup>(17)</sup>. A taxa de resposta com o Questionário Örebro foi bastante elevada (95%).

Baseados neste estudo de triagem, foram conduzidos estudos de controlo de casos aos problemas de

pele com  $n=150$ . Os estudos dos casos controlo incluíam uma parte clínica e uma parte técnica, tendo todos os empregados sido clinicamente examinados por um dermatologista e sujeitos igualmente a um estudo sociológico sobre a carga psicossocial do trabalho.

Todos os sintomas do SEI eram mais prevalentes nas mulheres que nos homens. A fadiga, a sensação de peso na cabeça, olhos inflamados, pele seca facial, dores de cabeça, etc., tinham as mais elevadas prevalências atribuíveis ao clima interior.

#### Sétimo exemplo

Neste momento está ocorrendo na Suécia uma avaliação a nível nacional como parte do programa de investigação «Conservation of energy in existing buildings» (ELIB). É utilizada uma versão modificada do Inquérito Örebro, envolvendo o estudo cerca de 30 000 pessoas, vivendo em 5000 casas seleccionadas ao acaso.

O estudo do questionário postal é complementado por vistorias técnicas aos locais e por medições da temperatura do ar interior, taxas de ventilação e humidade relativa do ar interior, numa subamostra de 1200 casas (800 casas pequenas e 400 apartamentos). Em 200 casas são feitas medições mais rigorosas do clima interior, incluindo níveis de formaldeído e compostos orgânicos voláteis. As medições são do tipo passivo e integrador, consideradas simples, económicas e suficientemente rigorosas para serem utilizadas na avaliação à escala nacional<sup>(18)</sup>.

O protocolo do estudo está feito para dar os valores de prevalência relacionados com, características dos edifícios, situação geográfica, etc. Vai dar ao mesmo tempo possibilidade de validar os aspectos e o estudo das interrelações entre as variáveis descrevendo as características técnicas de um edifício.

#### Oitavo exemplo

Na Primavera de 1990 foi conduzida uma entrevista numa amostra norueguesa sobre a qualidade do clima interior de suas casas e dos seus locais de trabalho. Foi utilizado um Questionário Örebro com algumas perguntas adicionais. A maioria das pessoas inquiridas, 89 %, mostrou-se satisfeita com o clima interior das suas casas, enquanto 57 % deu a mesma opinião sobre os respectivos locais de trabalho. As mulheres apresentaram maior número de queixas

que os homens, dado que 35 % relacionou os sintomas referidos com o clima interior das suas casas e 75 % com o clima interior dos locais de trabalho.

A maioria das queixas relacionava-se com alergias, enquanto «ar seco», «ar bafiento» e «ruído» eram as causas mais frequentes referidas como factores ambientais. As respostas dos cidadãos noruegueses quando comparadas com os valores suecos de referência do Quadro I, mostra prevalências mais elevadas de queixas e de sintomas para os locais de trabalho.

#### O Questionário de Örebro como instrumento de correcção de vistorias técnicas

Recorrendo à informação obtida através dos ocupantes dos edifícios num inquérito, foi possível utilizar aquela informação para orientar de maneira mais económica e objectiva as vistorias técnicas efectuadas. A análise dos gráficos dos questionários tornou possível muitas vezes uma primeira avaliação das possíveis causas dos problemas da qualidade de ar interior. Deste modo, suspeitas do mau funcionamento da ventilação podem ser inferidas através de uma elevada prevalência de sintomas gerais ou de queixas de ar viciado, muitas vezes associadas a queixas de ar seco ou a cheiros desagradáveis.

Se existem emissões de químicos, os gráficos ambientais mostrarão uma elevada prevalência de queixas de cheiros desagradáveis, de ar seco, e por vezes de ar viciado, combinadas com uma elevada frequência de irritação das membranas mucosas de que é ilustração o Exemplo 1. Por vezes, existe uma combinação de má ventilação e da emissão de poluentes que dão ao padrão de respostas uma maior complexidade.

É mesmo possível, por vezes, descobrir problemas subtis. Num estudo efectuado na Suíça<sup>(11)</sup>, num edifício de escritórios de muitos andares, verificou-se a existência de problemas específicos de clima interior. Num dos andares verificava-se contudo uma maior prevalência de problemas de irritação dos olhos e queixas da iluminação e do fumo do tabaco. Uma vistoria técnica revelou a existência de uma iluminação deficiente nas secretárias de trabalho aliada a um exagerado brilho dos monitores dos computadores. Mesmo que a relação causa/efeito seja desconhecida é importante anotar e analisar cuidadosamente todos os possíveis «sinais» verificáveis antes de se proceder a esforços ou medições mais sofisticadas.

## Estudos de seguimento (catamnese)

Um dos princípios básicos da estratégia da O.M.S. antes mencionada <sup>(7)</sup> é o de se acompanhar um dado problema depois de terem sido tomadas as necessárias medidas de correção para o clima interior. Os Questionários Örebro uniformizados têm sido usados em muitas situações práticas, umas vezes com custos bastante baixos, outras vezes com custos elevados <sup>(19)</sup>.

### Nono exemplo

Numa escola primária, os pais dos alunos e os funcionários apresentavam queixas há já muitos anos sobre a qualidade do clima interior. Uma vistoria técnica, com algumas medições e o uso de um questionário breve, revelou uma ventilação deficiente que, contudo, não explicava a elevada prevalência da irritação das membranas mucosas. Os sintomas gerais diminuíram rapidamente, mas os problemas de pele persistiram. Observações posteriores em duas ocasiões depois das obras de reparação revelaram melhorias mas o edifício não foi considerado ainda completamente salubre.

### Décimo exemplo

Numa área residencial do Primeiro Exemplo foram feitas obras dispendiosas de restauração para melhorar o clima interior, cerca de 40 000 dólares por apartamento. Num dos blocos com aproximadamente 100 apartamentos foi mudada a ventilação e feito um estudo alguns meses mais tarde. A melhoria do ambiente era notória, mas alguns problemas básicos persistiram como era o caso dos cheiros e do pó.

Num outro bloco de apartamentos o sistema de ventilação foi também mudado, o revestimento de cimento do soalho retirado e os apartamentos totalmente remodelados. Alguns meses mais tarde foi feito um estudo de seguimento que revelou melhoria do clima interior, o que veio a ser confirmado por outro estudo ainda mais tarde. Alguns dos problemas persistiram no edifício, especialmente nos apartamentos do rés-do-chão devido à luminosidade dos soalhos.

Noutros blocos da mesma área com problemas em menor escala as obras de remodelação invertiram, quer o padrão de sintomas, quer os factores ambientais que se tornaram semelhantes aos edifícios considerados salubres.

FIG. 1

<b>CLIMA INTERIOR</b>		<b>MM 040 EA</b>		Nome _____
<b>Ambiente de Trabalho</b>		Data		Instituição/Hospitalar/Companhia _____
<b>VERSÃO PORTUGUESA</b>		Ano	Mês	Dia
1-6				
7-11	Número <input type="text"/>	Ocupação	<input type="text"/>	Departamento/Serviço _____
12-21	Utilizador <input type="text"/>	Grupo	<input type="text"/>	
A preencher pelo Inquiridor				

Este Questionário ocupa-se do clima interior do seu ambiente de trabalho e dos possíveis sintomas que possam estar a afectá-lo

**FACTORES BÁSICOS**

22-23	Ano de Nascimento 19 <input type="text"/>	Ocupação _____
24	Sexo M <input type="checkbox"/> 1 F <input type="checkbox"/> 2	Há quantos anos se encontra no presente
25	Fuma? Sim <input type="checkbox"/> 1 Não <input type="checkbox"/> 2	lugar de trabalho? <input type="text"/> Anos <sup>26-27</sup>

**AMBIENTE DE TRABALHO**

Foi afectado nos últimos três meses por alguns dos seguintes factores no local de trabalho?		Sim, com frequência (cada semana) (1)	Sim, algumas vezes (2)	Nunca (3)
28	Correntes de ar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
29	Temperatura ambiental demasiado elevada	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
30	Variações da temperatura ambiental	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
31	Temperatura ambiental demasiado baixa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
32	Ar bafiento e desagradável	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
33	Ar seco	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
34	Cheiros desagradáveis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
35	Electricidade estática, por vezes causando choques	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
36	Exposição a fumo de tabaco (fumador passivo)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
37	Ruído	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
38	Luz insuficiente ou provocando encadeamento ou reflexos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
39	Poeiras e sujidades	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**CONDIÇÕES DE TRABALHO**

		Sim, com frequência (1)	Sim por vezes (2)	Não, raramente (3)	Não, nunca (4)
40	Considera o seu trabalho interessante e estimulante?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
41	Tem muito trabalho para fazer?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
42	Tem alguma hipótese de influenciar as suas condições de trabalho?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
43	Os seus colegas ajudam-nos nos problemas que encontram no seu trabalho?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

75-80

Andersson K and Stridh G. The use of Standardized questionnaires in building-related illness (BR) and sick building syndrome (SBS) surveys. NATO/CCMS Pilot Study on Indoor Air Quality, eds. F. Levy and M. Maroni, National Institute of Occupational Health, Oslo, Norway, 1992.

**DOENÇAS E SINTOMAS/PASSADOS E ACTUAIS**

	Sim (1)	Não (2)
1 Teve algumas vezes problemas asmáticos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2 Sofreu, alguma vez de febre dos fenos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 Sofreu alguma vez de eczema?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4 Alguém na sua família sofre de alergias? (p. e. asma, febre dos fenos, eczema)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**SINTOMAS ACTUAIS**

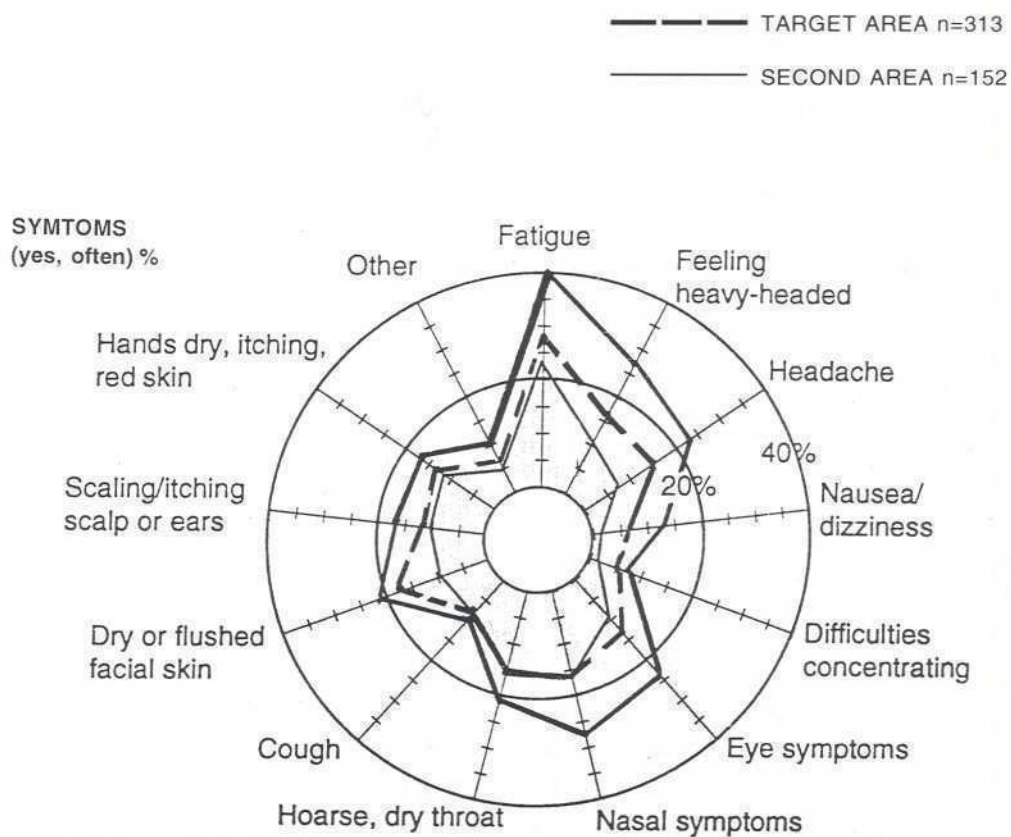
Nos últimos 3 meses teve algum destes sintomas

			Se SIM: Está convencido que estes sintomas são devidos ao ambiente de trabalho		
	Sim, frequente (1)	Sim, às vezes (2)	Não, nunca (3)	Sim (1)	Não (2)
5-6 Fadiga	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7-8 Sensação de sonolência	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9-10 Dor de cabeça	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11-12 Náusea/Tonturas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13-14 Dificuldade de concentração	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15-16 Prurido, sensação de ardor ou irritação nos olhos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17-18 Irritação, corrimento ou bloqueio nariz	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
19-20 Garganta seca e áspera	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
21-22 Tosse	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
23-24 Pele seca ou vermelhidão da face	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
25-26 Prurido e descamação na cabeça ou nas orelhas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
27-28 Mãos secas, com ardor ou vermelhidão	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
29-30 Outros sintomas _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**COMENTÁRIOS ADICIONAIS**

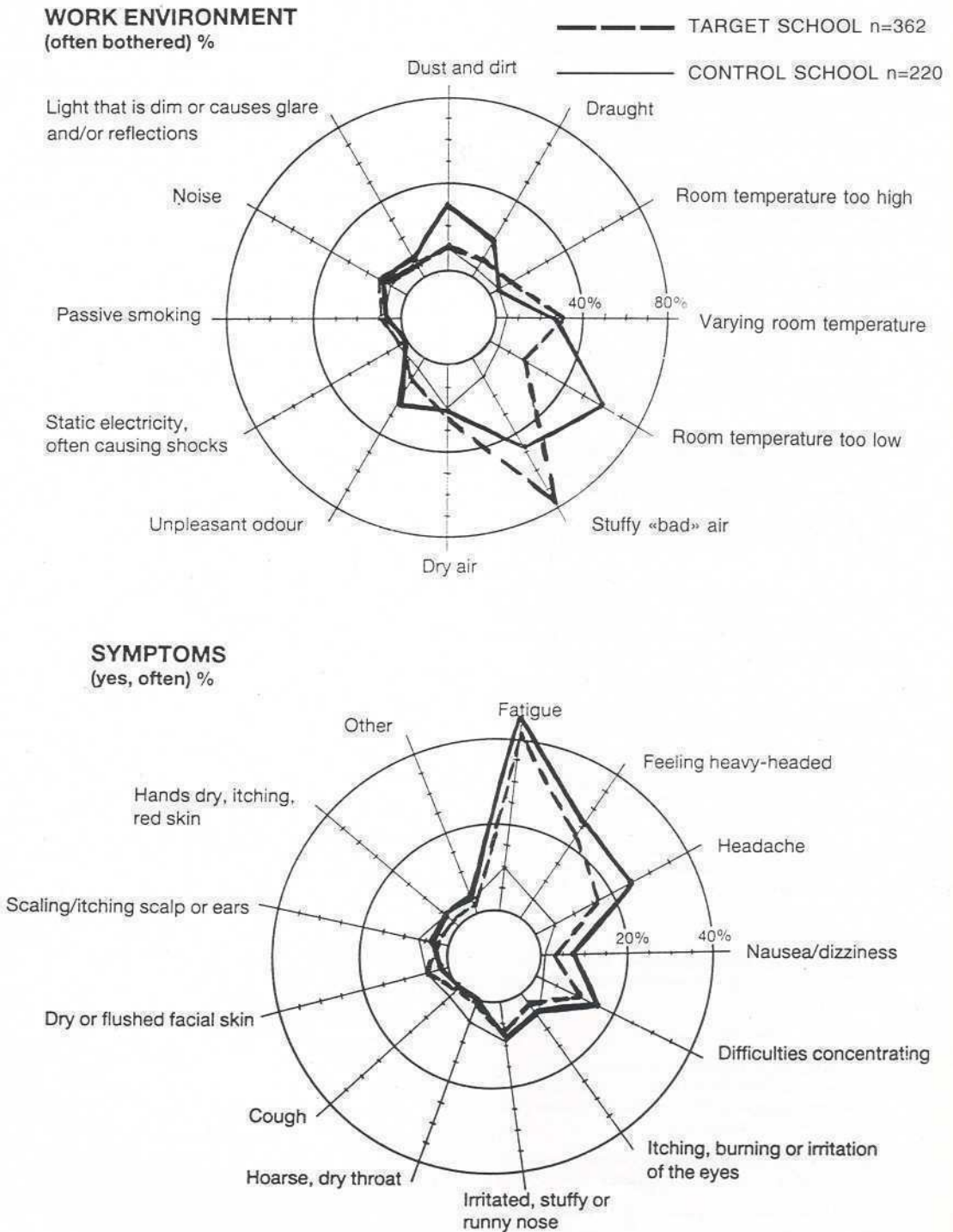

MUITO OBRIGADO

FIG. 2



Fonte: Andersson, K. et al. 1989

FIG. 3



Fonte: Andersson, K. et al, 1989

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — ANDERSSON, KJEL — The use of standardized questionnaires in BRI/SBS surveys. Comunicação ao NATO/CCMS Pilot Study on Indoor Air Quality, August 19/21, 1991, Oslo, Norway.
- 2 — AMARAL-MENDES, J. J. — Síndrome dos Edifícios Insalubres («Sick Building Syndrome») **Arquivos do Instituto Nacional de Saúde**, vol. 16-17, 1991-1992.
- 3 — ANDERSSON, K. et al. (1989: Questionnaire as an instrument when evaluating indoor climat. In: Proceedings from Healthy Buildings '88. Vol. 1, pp. 139-146). Stockholm: Swedish Council for Building Research.
- 4 — BURGE, S. P., et al. (1990: Validation of self-administered questionnaire in the diagnosis of sick building syndrom. Proceedings from 5th International Conference. Vol. 1, pp. 575-580). Ottawa 1990.
- 5 — AKIMENKO, V. et al. (1986: The «sick» building syndrome. Evaluations and Conclusions for Health Sciences and Technology. Vol. 6, pp. 87-97), Stockholm: Swedish Council for Building Research.
- 6 — HEDGE, A. (1990: Questionnaire design guidelines for investigation of «sick» buildings. Proceedings from 5th International Conference. Vol. 1, pp. 605-610). Ottawa 1990.
- 7 — W.H.O. (1983) Indoor Air Pollutants: exosure and health effects. EURO Reports and Studies 78, World Health Organization.
- 8 — ANDERSSON, K., HANE, M. (1984: Compilation and testing questionnaires in occupational health — experiences from the Örebro system. Proceedings from XXI International Congress on Occupational Health, p. 706), Dublin 1984.
- 9 — SKOV, P. et al. (1990: Influence of personal characteristics, job-related factors on the sick building syndrome. **Scand J. Work Environ. Health**, 1989, 15, 286-295.
- 10 — SUNDELL, L., ANDERSSON, K. (1984: Standardised Questionnaires — an important aid to occupational health care. Proceedings from XXI International Congress on Occupational Health, p. 705), Dublin 1984.
- 11 — SHULZ, U. W. et al. (1990: Indoor Climate of a Swiss Building evaluated with adapted Swedish Questionnaires. Proceedings from 5th International Conference Vol. 1, pp. 647-650) Ottawa 1990.
- 12 — FRANK, C., SKOV, P. (1990: Validation of two Questionnaires used for diagnosing the Sick Building Syndrome. Proceedings from 5th International Conference Vol. 1, pp. 485-487), Ottawa 1990.
- 13 — JUTO, J.-E. — Thesis-Rhinostereometri.
- 14 — SVERDRUP CH., et al. (1990: A Comparative Study of Indoor Climate and Human Health in 74 Day Care Centers in Malmö, Sweden. Proceedings from 5th International Conference Vol. 1, pp. 651-655), Ottawa 1990.
- 15 — FLEISS, J. L. — Statistical Methods for Rates and Proportions. John Wiley & sons, Second Edition, p. 218, USA 1981.
- 16 — STRIDH, et al. (1988: A Stepwise Model for Curing Buildings with Climate Problems. Proceedings from Healthy Buildings 88, Vol. 3, pp. 247-254), Stockholm 1988.
- 17 — STENBERG, G. et al. (1990: The Office Illness Project in Northern Sweden. Part. 1. A Prevalence Study of Sick Building Syndrome (SBS) relate to Demographic Data, Work Characteristics and Building Factors. Proceedings from the 5th International Conference, Vol. 4, pp. 627-632), Ottawa 1990.
- 18 — NORLEN, U. et. al. — A Survey of the Indoor Climate in the Swedish Housing Stock, Submitted to the Healthy Building — IAQ'91 Conference Sept. 1991.
- 19 — ANDERSSON, K. et al. (1990: A Follow-up Questionnaire Study after restoring modern Dwellings with SBS Problems. Proceedings from 5th International Conference. Vol. 1, pp. 563-568), Ottawa 1990.

# O núcleo de estudos ambientais do Ministério da Saúde

## Quatro anos de actividade

*J. J. Amaral Mendes MD, PhD (London) \**

Por deliberação do Conselho de Ministros de 8 de Fevereiro de 1990 foi decidido que «os ministérios especialmente envolvidos em acções em que o vector ecológico deva ser considerado em simultâneo com os aspectos económicos, comerciais, energéticos, agrícolas ou outros, devem constituir no seu âmbito centros ou núcleos de estudos ambientais que lhes confirmem capacidade de prever possíveis danos sobre o ambiente e de procurar soluções que permitam evitá-los, nas suas acções sectoriais».

Considerando que a construção de hospitais poderá implicar reflexos na qualidade do ambiente, de modo a justificar o estudo de impacte ambiental, o Ministro da Saúde por Despacho Ministerial de 26 de Abril de 1990, determinou:

- 1 — É criado no Ministério da Saúde um núcleo de estudos ambientais, nos termos e para os efeitos previstos na deliberação do conselho de ministros de 8-2-90, sobre o assunto.
- 2 — O núcleo é constituído por técnicos da Direcção-Geral das Instalações e Equipamentos de Saúde, que o coordenará, Direcção-Geral dos

Cuidados de Saúde Primários, Direcção-Geral dos Hospitais, Escola Nacional de Saúde Pública e Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

- 3 — Ao núcleo compete realizar os estudos necessários para prever os impactes ambientais resultantes da construção de hospitais ou outros empreendimentos a realizar neste Ministério e propôr soluções que permitam evitar eventuais danos sobre o ambiente.
- 4 — Para constituírem o referido núcleo são nomeados os seguintes elementos:

- Arquitecto Américo João Santos Rodrigues, chefe de divisão da DGIES.
- Engenheiro Vasco Morais Fonseca, director de serviços de engenharia sanitária da DGCSP.
- Arquitecta Maria Cecília da Silva Costa Cardoso da Conceição, técnica superior estagiária da DGH.
- Prof. Doutor Engenheiro António Sarmento Lobato de Faria, professor da ENSP.
- Prof. Dr. José Jerónimo Amaral Mendes, Prof. da Univ. de Évora, pelo INSA.

De acordo com o n.º 3 do Despacho do Ministro da Saúde, os elementos do Núcleo de Estudos Ambientais do Ministério da Saúde, que adoptou a sigla NEA/MS, teve a sua primeira reunião no dia 4 de Julho de 1990, tendo decidido encontrar a melhor maneira de atingir os objectivos constantes do despacho, e apresentar à consideração superior um relatório preliminar para análise da sua actuação, definição do respectivo plano de trabalhos e apresentação de propostas.

\* Professor Associado da Univ. de Évora, do Instituto de Anatomia Patológica da F. M. Coimbra e colab. do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

Logo na primeira reunião do Núcleo de Estudos Ambientais foi constatada a publicação do Decreto-Lei n.º 186/90, de 6 de Junho, que sujeitava à «avaliação dos efeitos de determinados projectos, públicos e privados no ambiente». Nesse diploma legal não eram mencionados, de entre os empreendimentos sujeitos a avaliação de impacte ambiental, nem os hospitais, nem quaisquer outros estabelecimentos de prestação de cuidados de saúde, situação que, na opinião dos membros do Núcleo, adquiria certa gravidade dado os efeitos importantes que estas estruturas tem sobre a saúde do Homem e o equilíbrio dos ecossistemas. Este ponto veio a ser imediatamente objecto de uma proposta do plano geral de trabalhos no Relatório. Preliminar apresentado em 16 de Agosto de 1990 e que na íntegra se transcreve:

## Plano Geral de Trabalhos

### 1 — Estudo n.º 1

Tipificação dos empreendimentos cuja realização e/ou licenciamento pelo Ministério da Saúde deverá incluir estudos de avaliação dos seus efeitos no ambiente.

### 2 — Estudo n.º 2

Definição dos limites dentro dos quais se deverá realizar a avaliação do impacte ambiental (AIA).

### 3 — Estudo n.º 3

Previsão dos efeitos ou indirectos, na saúde humana, dos hospitais e outros estabelecimentos prestadores de cuidados de saúde.

### 4 — Estudo n.º 4

«Estabelecimento de soluções gerais para hospitais e outros estabelecimentos de saúde, com vista a evitar os mais previsíveis e importantes danos, previamente determinados, para o Ambiente.

Nota — Dada a importância científica e documental os quatro Estudos são reproduzidos na íntegra (Anexos I, II, III e IV).

5 — Efectivação das diligências indispensáveis à inclusão dos hospitais e outros estabelecimentos de prestação de cuidados de saúde no Anexo III do

Decreto-lei n.º 186/90, de 6 de Junho. O plano geral de trabalhos veio a ser aprovado pelo Sr. Ministro da Saúde, no dia 13 de Dezembro de 1990.

## A actividade global do NEA/MS

Do dia 4 de Julho de 1990, data da primeira reunião do Núcleo de Estudos Ambientais, até ao dia 1 de Julho de 1992, foram efectuadas cerca de 30 reuniões de trabalho, tendo sido apresentados superiormente 13 relatórios formais, a saber:

- Relatório Preliminar — 16 de Agosto de 1990
- 1.º Relatório — 28 Novembro de 1990
- 2.º Relatório — 15 Janeiro de 1991  
(Incluiu parecer sobre o PNPA)
- 3.º Relatório — 30 Janeiro de 1991  
(acompanhava o Estudo n.º 1)
- Informação 18/19 de 16 de Fevereiro
- 4.º Relatório — 28 Fevereiro de 1991  
(acompanhava o Estudo n.º 2)
- 5.º Relatório — 1 Agosto de 1991  
(acompanhava o Estudo n.º 3)
- 6.º Relatório — 10 Agosto de 1991
- 7.º Relatório — 23 Setembro de 1991
- 8.º Relatório — 9 Abril de 1992
- Informação 52/92 de 12 de Maio
- 9.º Relatório — 15 Maio de 1992  
(acompanhava o Estudo n.º 4)
- 10.º Relatório — 30 Junho de 1992
- 11.º Relatório — 31 Julho de 1992  
(acompanhava o Relatório Final, plano de actividades complementares)

## Actividades adicionais do Núcleo de Estudos Ambientais

Paralelamente às atribuições que lhe foram inicialmente consignadas, foi o Núcleo de Estudos Ambientais superiormente indigitado para proceder aos seguintes trabalhos:

- a) Parecer sobre o Plano Nacional de Política do Ambiente (PNPA), 1991-1995, que foi incluído no Relatório n.º 2 de 15 de Janeiro de 1991. Não tendo sido possível a elaboração de um documento conjunto, dado o curto período de tempo disponível, apresentaram-se unicamente as análises que foram consideradas oportunas e eram subscritas por dois membros do Núcleo (Amaral Mendes e Morais da Fonseca). Comprometeu-se, no

entanto, o Núcleo a elaborar um parecer conjunto relativo ao PNPA, caso fosse considerado oportuno.

- b) Contribuição para a análise do Documento de trabalho «Plano Nacional de Política do Ambiente-Versão 1» de 31 de Dezembro de 1990 — Informação n.º 18/91, de 16 de Fevereiro de 1991; dado o seu interesse e importância a contribuição do Núcleo de Estudos Ambientais é reproduzida na íntegra no Anexo V.
- c) Proposta de alteração do Decreto-Regulamentar n.º 38/90, de 27 de Novembro, incluída no Relatório n.º 6, de 6 de Julho de 1991; a proposta visou a alteração da redacção do n.º 4 do anexo do Decreto Regulamentar supra citado, relativo à tipificação dos empreendimentos do âmbito do Ministério da saúde cujos projectos deverão incluir estudos de avaliação de impacto ambiental (AIA); no Anexo VI reproduz-se a alteração ao Decreto Regulamentar n.º 38/90 de 27 de Novembro;
- d) Parecer sobre o «Projecto de Decreto-Lei que estabelece o regime a que fica sujeita a avaliação de impacto ambiental de projectos, dando cumprimento ao disposto na Directiva n.º 85/337/CEE, do Conselho de 27 de Junho de 1985, que estabelece as normas relativas à avaliação dos efeitos de determinados projectos públicos e privados no ambiente» — Informação n.º 52/92 de 12 de Maio de 1992;
- e) No dia 6 de Novembro de 1991 todos os elementos do Núcleo de Estudos Ambientais deslocaram-se numa visita de estudo ao Novo Hospital da Universidade de Coimbra (H.U.C.), tendo discutido «in loco», com os elementos da Administração e do Pessoal Técnico todos os aspectos relacionados com a gestão do clima interior dos vários sectores de actividade médica (Enfermarias, Salas de Operação, Consultas Externas, etc.) e dos vários serviços de apoio (Cozinhas, refeitórios, lavandarias, central térmica), incineradores, oficinas e tratamento de esgostos); a partir desta visita o Eng.º Otávio Gonçalves Lopes, Director dos Serviços de Instalações e Equipamentos passou também a colaborar com o Núcleo de Estudos Ambientais;
- f) Igualmente em Novembro de 1991, um dos elementos do Núcleo (Amaral-Mendes) aproveitou uma sua deslocação a Inglaterra para contactar na Universidade de Birmingham o

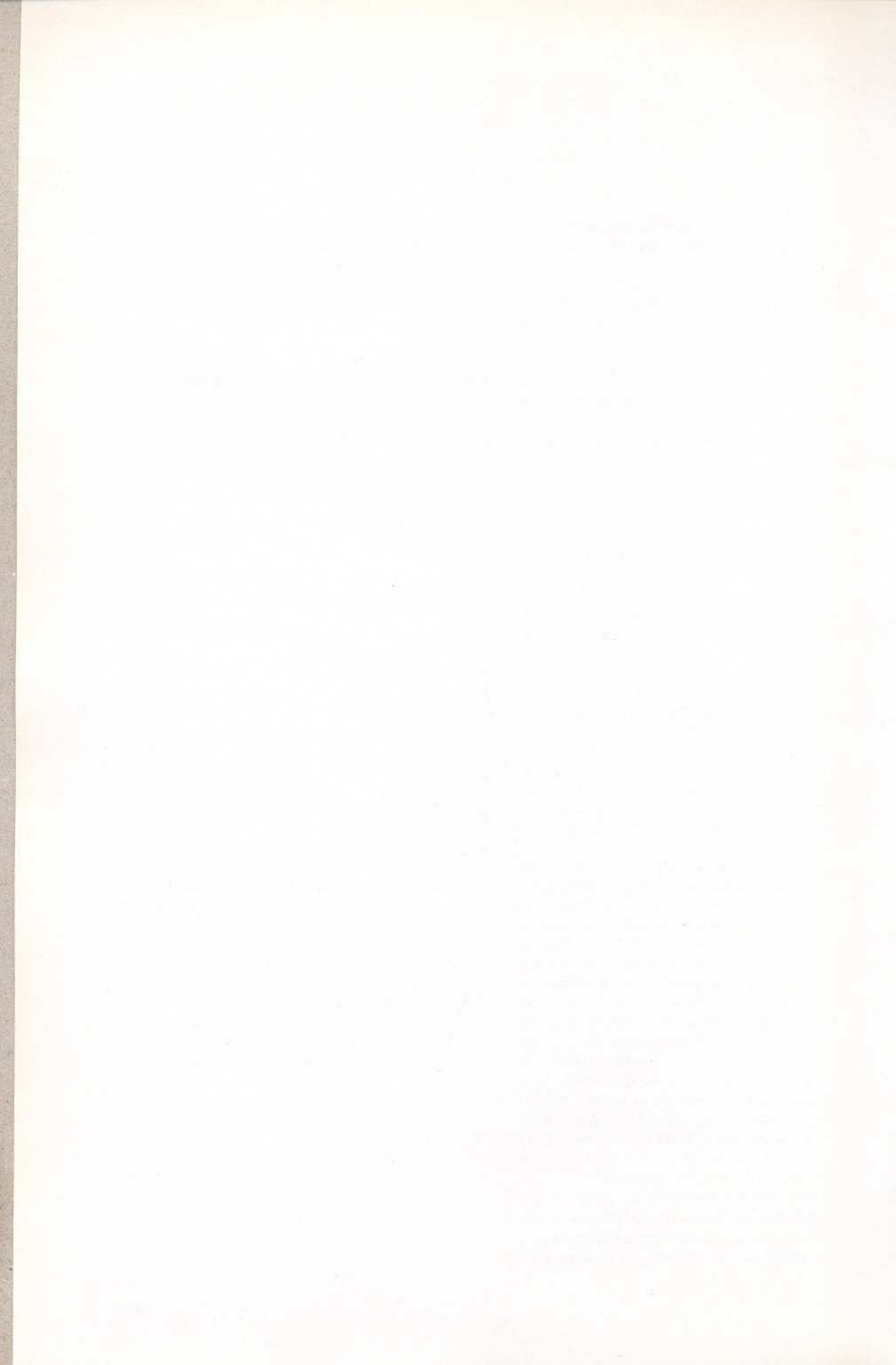
«Institute of Occupational Health», o Prof. Malcolm Harrington e o Dr. Len Levy, especialistas de Saúde Ambiental, e de recolher ainda diversos documentos do «Department of Health» do Reino Unido para uso do Núcleo de Estudos Ambientais;

### Programa de Trabalhos Complementares

Na última reunião de trabalho em Julho de 1992, os elementos do Núcleo de Estudos Ambientais, concordaram que, na sequência dos Estudos apresentados, da experiência adquirida e da numerosa bibliografia reunida, deveria ser apresentado superiormente um Programa de Acção Complementar, com base nos vários Projectos e propostas sugeridos durante dois anos de trabalho.

Para o Programa de Acção Complementar foi decidido desenvolver os seguintes pontos:

- 1 — Elaboração de um Relatório Síntese dos 4 Estudos para divulgação;
- 2 — Proposta para adaptação ao português dum documento francês apresentado pelo Eng. Otávio Lopes («Guide pour la rénovation et la conception des unités des soins»);
- 3 — Adaptação para português do «Questionário Örebro» para estudo do clima interior de edifícios públicos, utilizado na Escandinávia e para ser utilizado uma primeira fase nos onze Hospitais Centrais portugueses;
- 4 — Estudo de avaliação do impacto ambiental com base num Documento da CEE («Vade Mecum a utilizar no fornecimento de informações ambientais relacionadas com planos, programas e projectos financiados através dos fundos estruturais»);
- 5 — Documento técnico sobre a regulamentação de Resíduos Sólidos e Líquidos;
- 6 — Elaboração dum documento sobre a temática do «desfasamento cultural, ou o atraso cultural dum sociedade e as suas repercussões no conceito moderno de Saúde Ambiental...»



## Anexo I

### ESTUDO N.º 1

#### **Tipificação dos empreendimentos cuja realização e/ou licenciamento pelo Ministério da Saúde deverá incluir estudos de avaliação dos seus efeitos no ambiente**

1. O Relatório Preliminar elaborado pelo NEAMS, em 16 de Agosto de 1990, e que mereceu a concordância de S. Exa. o Senhor Ministro da Saúde (despacho de 18 de Outubro de 1990), continha, no seu ponto 4., a proposta de que deveriam ser desenvolvidas as diligências indispensáveis à inclusão dos hospitais e outros estabelecimentos de prestação de cuidados de saúde no Anexo III do Decreto-Lei n.º 186/90, de 6 de Junho. Este diploma, como salienta o seu preâmbulo, destinou-se a «adoptar princípios gerais de avaliação do impacte de projectos, públicos ou privados, no ambiente, com vista a coordenar os processos da respectiva aprovação».

Posteriormente à data do Relatório Preliminar referido foi publicado, no Diário da República, o Decreto Regulamentar n.º 38/90, de 27 de Novembro, que regulamenta os aspectos que decorrem do Decreto-Lei n.º 186/90, de 16 de Junho.

Este Decreto é particularmente importante no contexto do trabalho do NEA/MS, porquanto regulamenta, pelo seu Art.º 2.º, número 2, e anexo correspondente, o Artigo 7.º do Decreto-Lei referido acima.

2. O plano geral de trabalhos proposto pelo NEA/MS e também já aprovado por despacho de 12 de Dezembro de 1990, de S. Exa. o Senhor Ministro da

saúde, previa que o Estudo 1 fosse constituído pela tipificação completa dos empreendimentos cujo impacte deverá ser avaliado.

É evidente que os estabelecimentos hospitalares e outros empreendimentos congêneres, quer públicos quer privados, poderão determinar o surgimento de efeitos negativos, directos e/ou indirectos, não só no que se refere à saúde do homem como também na higiene e saneamento do meio ambiente e do próprio equilíbrio dos ecossistemas e do património (natural e/ou edificado).

Mantendo embora este princípio genérico, convém limitar, por razões práticas, a obrigatoriedade de avaliação de impacte ambiental (AIA), e consequente apresentação formal de estudo de impacte ambiental (EIA), aos projectos cujos limites ou dimensões, previamente estudados, sejam excedidos, na linha do determinado pelo Artigo 1.º, número 1, do Decreto Regulamentar n.º 38/90, de 27 de Novembro.

3. Sendo da competência dos Órgãos e Serviços do Ministério da Saúde a promoção, orientação, licenciamento e fiscalização dos diversos empreendimentos públicos e privados que têm como objectivo a prestação de cuidados de saúde, o NEA/MS propõe que os projectos dos empreendimentos, que seguidamente se discriminam, sejam sujeitos à disciplina do

Artigo 7.º do Decreto-Lei n.º 186/90, de 6 de Junho, e dos Artigos 1.º e 2.º, número 2, do Decreto Regulamentar n.º 38/90, de 27 de Novembro:

- a) Hospitais
- b) Centros de Saúde
- c) Casas de Saúde
- d) Estabelecimentos Termais
- e) Instituições de Investigação em Saúde
- f) Estabelecimentos de Prestação de Meios Auxiliares de Diagnóstico e Terapêutica
- g) Laboratórios.

4. Os projectos de ampliação, reconstrução e beneficiação de empreendimentos dos tipos referidos no número anterior devem seguir doutrina idêntica à aplicada para os projectos de construção nova, a não ser que a sua diminuta importância leve à aplicação do preceituado no Artigo 2.º, números 4 e 5, do Decreto-Lei n.º 186/90, de 6 de Junho.

## Anexo II

### ESTUDO N.º 2

## Definição dos limites dentro dos quais se deverá realizar a avaliação do impacte ambiental (AIA)

### 1. Introdução

O plano de trabalhos proposto pelo NEA/MS englobava, como Estudo n.º 2, a definição dos limites dentro dos quais se deverá realizar a avaliação do impacte ambiental (AIA) dos projectos com importância suficiente para se tornar indispensável a elaboração dum estudo de impacte ambiental (EIA), projectos que foram assinalados no Estudo n.º 1.

No que respeita ao presente estudo, foram consideradas três ordens de limites, a saber:

- a) Limites geográficos;
- b) Limites ecológicos;
- c) Limites construtivos.

### 2. Limites geográficos

Os limites geográficos do EIA, deverão ser em princípio, aqueles que forem definidos conjuntamente pelos seguintes critérios:

- 1.º critério — Os limites ecológicos (ver ponto 3)
- 2.º critério — O interior de um perímetro situado a, pelo menos, 300 m (trezentos metros) dos limites construtivos (ver ponto 4)
- 3.º critério — Os limites que forem definidos previamente pelo Ministério da Saúde, caso a caso, para projectos cujas caracte-

terísticas específicas obriguem à consideração de limites mais dilatados do que os resultantes dos critérios anteriores.

### 3. Limites ecológicos

#### 3.1 Delimitação lata

Todo o espaço físico, superficial, subterrâneo ou aéreo, susceptível de conter factores de desequilíbrio na estrutura do ecossistema e, ou manifestações consequentes sobre ou em os componentes do ambiente biofísico (água, ar, solo, biota, alimentos, habitat artificial humano e do ambiente psicossocial (população, actividades humanas, quadro socio-económico e cultural, paisagem).

#### 3.2 Delimitação por componentes do ambiente biofísico

##### 3.2.1 Água

Superficial — até ao limite da influência de resíduos líquidos.

Subterrânea — até ao limite da influência das águas de drenagem e dos resíduos líquidos infiltrados.

### 3.2.2 Ar

Até ao limite da influência de fumos e gases insalubres ou incómodos produzidos no estabelecimento.

### 3.2.3 Solo

Até ao limite da influência de resíduos sólidos.

### 3.2.4 Biota

Até ao limite da influência do estabelecimento sobre factores bióticos importantes pela sua unidade, necessidade de protecção, valor patrimonial e relevo económico.

### 3.2.5 Alimentos

Até ao limite da influência do estabelecimento em produtos alimentares, naturais ou preparados, ou em actividades de comercialização ou consumo desses produtos.

### 3.2.6 Habitat artificial humano

Até ao limite da influência do estabelecimento nos edifícios adjacentes, nos estabelecimentos comerciais e industriais, nas redes viárias, e outras infraestruturas e nos espaços habitados.

## 3.3 Delimitação por componentes do ambiente psicossocial

### 3.3.1 População

Afecções em grupos de risco (crianças, velhos, profissionais de Saúde).

### 3.3.2 Actividades humanas

Interferência em actividades humanas dos vários sectores económicos (primário, secundário e terciário).

### 3.3.3 Quadro sócio-económico e cultural

Alterações nos parâmetros sócio-económicos da população afectada pelo estabelecimento e influência no património cultural identificado ou classificado.

### 3.3.4 Paisagem

Até ao limite de influência do estabelecimento na paisagem, seja em áreas protegidas ou em zonas identificadas como importantes, pelo seu valor paisagístico ou sensibilidade ecológica.

## 4. Limites construtivos

Considerar-se-ão, como limites construtivos, para além dos que disserem respeito aos edifícios que fazem parte do projecto em apreço, os das seguintes áreas, dentro do perímetro do empreendimento.

- a) Edifícios de apoio;
- b) Anexos;
- c) Estações de tratamento de águas para consumo humano, de águas residuais, de resíduos sólidos, líquidos e gasosos;
- d) Centrais de energia, de calor, de aquecimento, de ventilação, de ar condicionado e quaisquer outros equipamentos mecânicos e, ou eléctricos;
- e) Vias de circulação de viaturas e de peões.
- f) Jardins e outras zonas verdes, naturais ou artificiais;
- g) Outros edifícios ou construções que, pelas suas características tenham impacte digno de consideração.

## Anexo III

### ESTUDO N.º 3

# Previsão dos efeitos directos ou indirectos, na saúde humana, dos hospitais e outros estabelecimentos prestadores de cuidados de saúde

## 1. Introdução

O plano de trabalhos proposto pelo NEA/MS, aprovado superiormente por despacho de S. Exa. O Ministro da Saúde de 1990-12-11, engloba, como Estudo n.º 3, a previsão dos efeitos directos e indirectos sobre a saúde do Homem, dos hospitais e outros empreendimentos a realizar no âmbito do Ministério da Saúde.

Tendo em conta aquele objectivo é feita, neste estudo, uma análise dos diversos factores a ter em consideração na avaliação de impacte ambiental daqueles estabelecimentos.

Esta análise é apresentada de acordo com a seguinte itemização:

- Conceitos limiares
  - Contexto do presente estudo no âmbito legal
  - Planificação, alternativas e exigências programáticas
  - Impacte ambiental nos elementos biofísicos
  - Impacte ambiental em Saúde
- 
- Ambiente interior
  - Resíduos hospitalares
  - Condições psicossociais

## 2. Conceitos liminares

O NEA/MS tem como objectivo fundamental o estudo do impacte provocado pelos hospitais nos elementos do ambiente biofísico. Entendeu, no entanto, incluir outros aspectos que são fundamentais neste contexto.

Na realidade tendo o grupo de trabalho sido criado por Despacho do Conselho de Ministros de 8 de Fevereiro de 1990 para estudar unicamente as implicações sobre a qualidade ambiental resultante da construção de hospitais, teve oportunidade de tomar conhecimento, durante as discussões nas sessões de trabalho, dum assunto de crescente importância nos países da Comunidade Europeia, os estudos de impacte interior nos hospitais sobre a Saúde («Indoor Environment Quality»). Saliente-se ainda que todos os diplomas legais existentes da legislação portuguesa põem só ênfase na protecção dos ecossistemas naturais e são omissos nos aspectos acima referidos.

Para além dos problemas apontados achou, também, o NEA/MS que deveria ser alargado o âmbito estritamente biofísico do estudo para mais dois aspectos extremamente importantes: os resíduos hospitalares e as repercussões psicossociais da construção e funcionamento dos estabelecimentos de saúde.

O NEA/MS, dada a importância do Impacte Ambiental Interior dos Hospitais, entende por bem chamar superiormente a atenção para um assunto que há já mais de dez anos é objecto de estudo nos países do mundo ocidental. Na impossibilidade de fazer uma revisão bibliográfica sobre o assunto, referem-se três documentos essenciais para uma objectiva informação da matéria e da sua já grande dimensão. O primeiro documento é da responsabilidade do «Department of Health» do Reino Unido — «The Control of Substances Hazardous to Health — Evidence for the Initial Assessment in Hospitals»<sup>(1)</sup>. O segundo corresponde ao «Pilot Study on Indoor Air Quality — The Implications of Indoor Air Quality for Modern Society», num «Work-

shop» da NATO/CCMS, em progresso desde 1989<sup>(2)</sup>. O terceiro corresponde ao Congresso, realizado em Lisboa em 1990, sobre «Indoor Air Quality and Ventilation»<sup>(3)</sup>. Refira-se que o termo «Air» é usado na língua inglesa também como sinónimo de «Espaço».

Existe assim nos hospitais, além do impacte externo sobre o ambiente circundante, o impacte interior sobre a comunidade que aí trabalha. Aquela comunidade é composta, para além dos profissionais de saúde (médicos e enfermeiros), pelo pessoal administrativo e também pelo número considerável de pessoas da comunidade exterior que tem de se deslocar aos hospitais (os doentes, como elementos da comunidade exterior, os visitantes, os fornecedores habituais, os alunos de medicina e de enfermagem, etc.).

Dado que muito brevemente, no mês de Agosto, se vai realizar em Oslo, na Noruega, a reunião do «Workshop» da NATO/CCMS dedicada à «Epidemiology and Medical Management of Building Related Complaints and Illnesses»<sup>(4)</sup>, e da qual um dos elementos do NEA//MS é participante, espera-se que, com base nas conclusões daquela importante reunião, seja possível incluir no próximo estudo um projecto de estudo no âmbito do Ministério da Saúde relacionado com o Impacte Interior dos Hospitais sobre a Saúde.

A problemática dos resíduos hospitalares constitui um assunto de primeiro plano no que toca ao impacte sobre a saúde não só no espaço próximo das unidades hospitalares como no modo em que é feito o transporte para os seus destinos finais e localização destes, aqui com mais lata incidência no meio ambiente.

A realização de um empreendimento de prestação de cuidados de saúde não tem implicações somente de natureza biofísica, apresentando ou podendo apresentar também consequências de índole psicossocial sobre os indivíduos e a comunidade existentes na área de influência da obra.

### 3. Contexto do presente estudo no âmbito legal

De uma forma estrita, o EIA (Estudo de Impacte Ambiental) com que temos que nos preocupar deveria reportar-se apenas aos projectos constantes do Anexo III ao Decreto-Lei n.º 186/90, de 6 de Junho, e, consequentemente, cumprir as exigências determinadas no número 2 do artigo 2.º do Decreto Regulamentar n.º 38//90, de 27 de Novembro.

No entanto, dada a evidente correlação entre os aspectos enumerados neste último diploma e a relação das especificações figurando no anexo II

#### EIA — QUADRO COMPARATIVO

Decreto-Lei n.º 186/90, de 6 de Junho (N.º 3 do at.º 3.º e Anexo II)	Decreto Reg. n.º 38/90, de 27 de Novembro N.º 2 do art.º 2.º
Descrição do projecto	Localização, descrição e características funcionais do projecto
Esboço de alternativas	Não figura qualquer exigência
Descrição dos elementos do ambiente susceptíveis de serem afectados	Não figura explicitamente qualquer exigência, embora se possa deduzir indirectamente
Descrição dos efeitos no ambiente	Incidência sobre o sistema de drenagem, etc. Incidência da emissão de resíduos ou efluentes, etc. Factores de desequilíbrio na estrutura do ecossistema
Resumo não técnico das informações transmitidas	Não figura qualquer exigência
Resumo das eventuais dificuldades	Não figura qualquer exigência
Não figura qualquer exigência	Medidas mitigadoras das incidências negativas sobre o ambiente.

do Decreto-Lei n.º 186/90, conjugada com a importância destas especificações no âmbito da CEE, é da maior prudência não limitar o Estudo n.º 3 ao simples cumprimento da relação de aspectos contida no Decreto Regulamentar mas sim conjugá-los com as especificações do Decreto-Lei, visto estas constituírem a base essencial de todo o EIA, quaisquer que sejam a grandeza e a dimensão dos projectos.

O Quadro anexo faz uma breve tentativa de exprimir a correlação acima apresentada e mostra claramente a importância da indicação, nos EIA, dos «elementos do ambiente susceptíveis de serem consideravelmente afectados pelo projecto» e das alternativas consideradas ao projecto apresentado assim como da qualidade de informação e das dificuldades encontradas na sua compilação.

Assim, parece ser pacífico que a melhor solução para o equacionamento da previsão dos efeitos dos empreendimentos que nos preocupam, sobre o ambiente e o Homem, passa por uma tentativa de conciliação entre a letra do disposto no Decreto Regulamentar e o espírito do que determina o Decreto-Lei, sem esquecer que este mesmo espírito é o que informa a Directiva da CEE sobre a matéria.

A melhor solução parece ser a de exigir aos projectos um nível de desenvolvimento muito mais apontado para a defesa do ambiente e da saúde do que é habitual fazer-se, conseguindo, assim, de uma forma simples, dar resposta às exigências legais e será sob esta ótica que o estudo n.º 4 vai ser desenvolvido.

## 4. Planificação, alternativas e exigências programáticas

### 4.1 Planificação

Aspectos que deverão ser tidos em conta no planeamento e programação de hospitais ou estabelecimentos de prestação de cuidados de saúde, com vista à protecção do ambiente e saúde do homem:

- Localização.
- Planeamento existente: tendências da expansão urbana.
- Actividades ruidosas: sua expansão; proximidade de aeroportos ou de zonas de tráfego aéreo.

- Redes viárias e fluxos de trânsito: níveis de ruído de tráfego rodovial e ferroviário.
- Infraestruturas de águas, esgotos e electricidade existentes e necessárias.
- Ventos dominantes.
- Natureza dos solos: reconhecimento geotécnico e hidrogeológico.
- Índices admissíveis de ocupação do solo: área necessária à instalação.
- Acessos.
- Implantação e orientação geral mais favoráveis.
- Interferências urbanas e na paisagem: integração urbana e protecção das vistas.
- Perturbações gerais no ambiente: protecção da natureza.
- Emissão e tratamento de resíduos sólidos: quantidades previstas e sua natureza: destino final dos lixos.
- Emissão e tratamento de águas residuais: redes de saneamento, estações de tratamento e destino final dos esgotos.
- Tratamento dos espaços exteriores: arborização, zonas verdes, arruamentos e estacionamento de viaturas; mobiliário urbano.
- Estes conceitos serão desenvolvidos nos capítulos seguintes (5 e 6).

### 4.2 Normativa para a elaboração de projectos

Definição de regras sobre:

- Tratamento da água de consumo (físico, químico, biológico e microbiológico) de acordo com as respectivas utilizações.
- Redes de águas pluviais e de águas residuais domésticas — sistemas separativos.
- Desinfecção de águas residuais infectadas.
- Tratamento de águas residuais gordurosas.
- Arrefecimento de águas residuais quentes.
- Níveis de iluminação, natural e artificial, dos espaços interiores.
- Instalação de Centrais Térmicas, Incinerações, Cozinhas e Lavandarias.
- Natureza dos combustíveis e seu armazenamento e distribuição.
- Emissão de fumos (altura de chaminés) e seu tratamento (aditivos e despojeadores).
- Sistemas de aquecimento, ar condicionado e ventilação dos espaços interiores, de acordo com as condições de ambiente e de higienização requeridas.
- Triagem na origem dos resíduos sólidos, com separação entre resíduos contaminados e não contaminados.

(\*) Desp. n.º 16/90, de 11 de Julho.

- Incineração de resíduos contaminados (Grupo A) (\*)
- Tratamento e remoção de resíduos não contaminados (Grupo B) (\*)
- Tratamento de resíduos radioactivos.
- Triagem (na origem) de roupas infectadas e seu tratamento separado.
- Armazenagem e distribuição de gases medicinais.
- Gestão de energia e sistemas de recuperação de matéria e energia.

### 4.3 Importância dos EIA nos projectos

Os projectos em questão deverão reflectir os efeitos dos EIA que os informam, devendo estes, para tanto, ter em conta especificamente, para além do que é exigido no n.º 2 do art.º 2.º do Dec. Reg. n.º 38/90, de 27 de Novembro, os seguintes aspectos:

- Planeamento e satisfação das exigências programáticas do projecto.
- Normativa adoptada e medidas alternativas propostas com vista a eliminar as consequências para o ambiente. Inserção do EIA no projecto e complementarização dos estudos nesse sentido.
- Descrição dos elementos do ambiente relativamente aos quais foi dada especial atenção na elaboração do projecto e/ou que são susceptíveis de virem a ser afectados (clima interior e exterior, paisagem e solo, fauna e flora, recursos hídricos, atmosfera e património cultural).

## 5. Impacte ambiental nos elementos biofísicos

### 5.1 Clima exterior

A influência do clima exterior nos empreendimentos avalia-se mediante a consideração de três situações bem distintas:

- Condições macroclimáticas naturais.
- Condições microclimáticas naturais.
- Condições climáticas antrópicas.

Nas condições climáticas englobam-se não só os parâmetros geográficos clássicos, como a temperatura, a humidade, a precipitação, a insolação,

mas também os relativos às catástrofes, de que são exemplos os sismos, as erupções vulcânicas, os raios, os abatimentos de terras, as secas, as cheias.

Segue-se uma sugestão de índice de alguns factores de maior relevo, para cada um dos quais conviria efectuar uma análise mais detalhada:

- Susceptibilidade a catástrofes:
  - Sismos
  - Erupções vulcânicas
  - Abatimentos de terras
  - Secas e cheias
  - Temporais: ventos e raios

### 2. Condições microclimáticas naturais

- Modificações significativas dos parâmetros macroclimáticos: causas e efeitos:
- Chuva e humidade de penetração nos edifícios.
- Eventualidade de queda de neve e de congelação das águas.
- Penetração solar directa

### 3. Condições climáticas antrópicas

- Modificações significativas dos parâmetros climáticos naturais:
  - Poluentes do ar
  - Partículas em suspensão
  - Óxidos de enxofre
  - Óxidos de azoto
  - Hidrocarbonetos
  - Óxidos de carbono
  - Oxidantes fotoquímicos
  - Chumbo

### — Ruídos e vibrações:

- Tráfego aéreo
- Tráfego automóvel
- Tráfego ferroviário
- Estabelecimentos industriais e comerciais
- Reparações em estradas e outras vias de comunicação

### 5.2 Paisagem e solo

Paisagem e solo são dois importantes valores a considerar, por vezes de forma interligada, na avaliação do impacte ambiental.

## 1. Paisagem

- Valores estéticos e culturais da paisagem envolvente: inter-relações com o empreendimento; zonas ambientalmente sensíveis.
- Recursos paisagísticos necessários para recreio activo e passivo dos utentes: inventariação, classificação e possível valorização.
- Protecção do empreendimento pela paisagem: áreas verdes naturais e artificiais; barreiras vivas de defesa contra o ruído e a poluição atmosférica: áreas reguladoras climáticas.
- Conservação dos recursos naturais pela interactividade entre os empreendimentos (e seus utentes) e as zonas de paisagem envolventes: biótipos mais relevantes; áreas protegidas.

## 2. Solo

- Aptidão do solo onde se implantará o empreendimento: riscos de erosão e escorregamento.
- Constituição do solo: possibilidades de emanações e de irradiação ionizante.
- Morfologia da superfície, antes e depois da realização do empreendimento.
- Utilização do solo, actual e prevista em planeamento legalmente aprovado, e sua interligação com o empreendimento.

## 5.3 Fauna e flora

Este capítulo não pode ser considerado completamente separado do anterior, que referia a paisagem e, dentro desta, as zonas ambientalmente sensíveis e os biótipos mais relevantes. Como é evidente, a consideração destes locais, geograficamente bem definidos, implica a inclusão da fauna e da flora que os caracterizam.

Existam ou não áreas classificadas, é indispensável ter conhecimento das espécies naturais e vegetais predominantes na zona do empreendimento e das possíveis implicações de tais espécies na saúde:

Fauna — invertebrados, peixes, répteis, aves e mamíferos.

Flora — vegetação aquática e terrestre.

É particularmente importante a presença de condições de sobrevivência de vectores de doença

e pragas, em especial ratos, mosquitos, moscas, cogumelos venenosos e outros seres vivos incómodos ou perigosos.

## 5.4 Recursos hídricos

Os pontos capitais a equacionar na avaliação do impacte ambiental dos empreendimentos, no capítulo dos recursos hídricos, são os seguintes:

- Recursos hídricos existentes, naturais e artificialmente criados (p. ex. albufeiras). inventariação geral.
- Localização e quantificação dos recursos mais relevantes.
- Qualidade da água.
- Utilizações dos recursos hídricos com mais importância.

Para cada um destes pontos, a verificação do impacte pode ser feita em relação às características a seguir indicadas com mais pormenor.

### 1. Recursos hídricos existentes

- Água doce, superficial e subterrânea:
  - Cursos de água
  - Lagos, lagoas e albufeiras
  - Lençol freático
- Água salgada:
  - Áreas confinadas
  - Águas marinhas, costeiras e profundas

### 2. Localização e quantificação

- Cartografia em escala apropriada:
  - Bacias hidrográficas
  - Contornos de áreas confinadas
  - Lençol freático: emergências
- Caudais de águas correntes
- Volumes de águas paradas
  - Médias mensais
  - Máximos e mínimos

### 3. Qualidade da água

Parâmetros a extrair do Decreto-Lei n.º 74/90, de 7 de Março, sobre as normas de qualidade da água.

#### 4. Utilização dos recursos hídricos

- Abastecimento de água para consumo humano.
- Utilização recreativa: banho, lazer.
- Abastecimento de água para fins terapêuticos, com ou sem ingestão.
- Utilização agrícola: rega, pecuária, outros fins.
- Utilização industrial.
- Produção de hidroelectricidade.
- Aquacultura.

#### 5.5 Atmosfera

Ver «Condições climáticas atmosféricas» em 5.1 Clima exterior.

#### 5.6 Património cultural

##### 1. Considerar as disposições previstas em diplomas legais e outros diplomas relevantes existentes e, designadamente:

- Lei de Bases do Ambiente.
- Planos Regionais de Ordenamento do Território.
- Planos Directores Municipais.
- Outros diplomas ou documentos com influência na intervenção urbanística e de protecção e conservação do património (natural e/ou edificado).

##### 2. Inventariação

- Centros arqueológicos.
- Centros históricos (em áreas urbanas e rurais).
- Paisagens primitivas naturais notáveis.
- Edifícios e conjuntos monumentais.
- Património histórico cultural (natural e construído):
  - Classificado
  - Interesse Público
  - Cuja classificação deve ser proposta
- Usos e costumes locais.
- Reservas ecológicas.
- Reservas agrícolas, sítios e paisagens que estejam sujeitos a estatutos especiais de conservação.

##### 3. Prevenção contra:

- Construções
- Implantação de construções e infraestruturas viárias.
- Estruturas diversas que pela:
  - Localização
  - Dimensão
  - Silhueta
  - Volume
  - Cor

determinam impacte violento na paisagem pré-existente, e alterem, degradem, ou exerçam pressão sobre a paisagem/património.

#### 6. Impacte ambiental em saúde

##### 6.1 Impacte do ambiente interior dos hospitais

Factores que podem ter efeito sobre a saúde da comunidade hospitalar (pessoal médico e administrativo) e sobre a comunidade externa com ligação ao hospital (doentes, visitantes, fornecedores, alunos, etc.).

##### 1. Qualidade do ar e padrões de ventilação

- a) Taxas de Ventilação;
- b) Temperatura;
- c) Humidade relativa;
- d) Ausência de fibras de asbesto;
- e) Muito baixos níveis de formaldeído;
- f) Níveis aceitáveis de compostos orgânicos voláteis (VOC) a partir do mobiliário, pinturas, cortinados, revestimento das paredes, etc.;
- g) Manutenção das canalizações, filtros e tanques de armazenagem.

##### 2. Considerações especiais em relação à propagação de doenças infecciosas e do foro alérgico

- a) Isolamento de doentes infectados em quartos com um fluxo de ar negativo. Protecção do pessoal hospitalar com especial ênfase nas doenças com disseminação aérea;
- b) Monitorização do pessoal hospitalar, periodicamente, para se assegurar que não foram infectados;
- c) Protecção dos doentes na sequência da destruição da medula óssea, dos enxertos de medula óssea e dos enxertos de osso ortopédicos.  
Uso de plásticos isoladores;

- d) Especial protecção nas áreas de enfermarias de queimados, não só devido à prevenção de infecções, mas também de incêndios, devido ao uso de plásticos isoladores e outro material combustível.
  - e) Protecção do pessoal hospitalar por imunização, sobretudo nas doenças de grande risco, como a hepatite B, e com outras virósas;
  - f) Medidas especiais em relação ao isolamento de doentes com SIDA;
  - g) Controlo do pessoal hospitalar em relação ao problema das alergias de contacto e respiratórias.
3. *Risco de drogas e medicamentos* (\*):
- a) Medicamentos administrativos por aerossóis;
  - b) Medicamentos administrados por via parental;
  - c) Medicamentos aplicados (cremes, pomadas) na pele;
  - d) Uso de radiosótopos;
4. *Riscos de explosão e incêndio*:
- a) Éter;
  - b) Outros compostos, em especial solventes orgânicos;
  - c) Despejos de solventes inflamáveis e material infectado pelas pias e pelas sanitas.
5. *Despejo dos resíduos hospitalares* (\*\*):
- a) Pensos, seringas, material com sangue e pús;
  - b) Medicamentos tóxicos;
  - c) Material e resíduos radioactivos.
6. *Riscos especiais postos pela roupa suja das camas, toalhas, vestuário das salas de operações e vestuário de serviço em geral*
7. *Riscos das salas de esterilização*
- a) Óxido de etileno;
  - b) Autoclaves e estufas;
  - c) Risco de Queimaduras.

8. *Fumar*

- a) Doentes;
- b) Pessoal Hospitalar;
- c) Visitantes;
- d) Perigo de explosões e incêndios;
- e) Risco especial de gases ou compostos irritantes para o foro pneumatólogico.

9. *Salas de operações*

Gases anestésicos, seus níveis e correcto funcionamento da exaustão.

10. *Serviços de imagiologia*

- a) Protecção radiológica do pessoal médico e auxiliar;
- b) Acidentes nas câmaras escuras.

11. *Laboratórios*

- a) Inalação por solventes orgânicos (manutenção de uma boa ventilação);
- b) Contacto dérmico com tóxicos.

**6.2 Resíduos hospitalares**

6.2.1 *Condições gerais*

Catalogados como resíduos perigosos, os hospitalares têm ainda a acrescida nefasta particularidade de serem infecciosos (?). Assim, o problema do seu impacto ambiental deverá ser encarada segundo três perspectivas:

- a) Impacte no meio ambiente circundante;
- b) Higiene exemplar no ambiente interno;
- c) Minimização do desperdício de matérias ou materiais.

Importa que cada uma delas seja convenientemente estudada, tendo em atenção os seguintes princípios ou orientações gerais:

- a) Impacte no meio ambiente circundante, visando a protecção do património nacional, através da luta contra a degradação do meio natural (ar e solo) e poluição dos recursos hídricos;
- b) Higiene do ambiente interno, visando uma gestão dos resíduos de modo a evitar a contaminação interior dos estabelecimentos e a garantir as regras gerais de salubridade;

(\*) Não são considerados os efeitos devido à acção terapêutica de medicamentos.

(\*\*) De um ponto de vista como factores que podem ter efeitos sobre a saúde (Veja-se também o parágrafo 6.2).

A colecta ou recolha intra-hospitalar tem importância decisiva em todo o processo, em qualquer das suas três fases — triagem, transporte e armazenamento — e deverá ser programada segundo o critério básico da separação entre:

- resíduos não contaminados;
  - resíduos contaminados.
- c) Desperdícios de matérias ou materiais (perspectiva económica), tendo em vista que deverão ser considerados não tanto como materiais a abandonar, mas mais como potenciais fontes de matéria-prima e de produtos com valor comercial.

Deverá objectivar-se que os resíduos sejam integrados num circuito económico: se mal geridos, ocasionam despesas suplementares; se bem geridos, poderão permitir, não só a diminuição das despesas inerentes à própria gestão, mas ainda a redução do seu impacte ambiental negativo.

### 6.2.2 Estudos de impacte ambiental

Os estudos de impacte ambiental constituirão uma natural consequência dos programas previamente estabelecidos de gestão de resíduos compatíveis com a higiene hospitalar.

Assim, estabelecidos os princípios técnicos a que deve obedecer um programa de gestão de resíduos, ficarão caracterizados os parâmetros que devem orientar os Estudos de Impacte Ambiental, ou seja, os parâmetros com incidência relevante na saúde humana e no meio ambiente.

Tais estudos deverão, desde logo, procurar identificar as seguintes duas fases:

- a) conhecimento dos fluxos de produção e identificação dos resíduos;
- b) identificação dos circuitos de recolha.

#### 6.2.2.1 Quantidade e qualidade dos resíduos

Parâmetros directamente relacionados com a grandeza e natureza da unidade de saúde e com o grau de utilização de objectos de *uso único*.

#### A — Resíduos sólidos

Estes resíduos são classificados quanto à sua proveniência e quanto à sua perigosidade.

#### A<sub>1</sub> — Quanto à proveniência

- a) resíduos especificamente ligados à actividade hospitalar:

- de intervenção terapêutica: pensos, objectos metálicos ou plásticos de uso único (agulhas, bisturis, seringas, luvas, máscaras, sondas, etc.);
- anatómicos, provenientes principalmente dos serviços de cirurgia, obstetrcia e patologia (fetos, placetas, resíduos de salas de operações, etc.);
- de laboratórios de radiologia, de química, ou de microbiologia (sais de prata, produtos químicos, películas radiográficas inutilizadas, pipetas, placas de Petri, provetas de cultura, cadáveres de animais de experiências, etc.);
- radioactivos, compreendendo não só as embalagens de produtos injectados ou utilizados nos doentes, como também certos reagentes de laboratório; estes resíduos estão subordinados a legislação específica;
- ortopédicos (gessos, material de prótese, etc.);
- farmacêuticos (medicamentos fora de prazo, produtos químicos, embalagens de produtos farmacêuticos, etc.).

- b) resíduos dos sectores de restauração e alojamento, considerados como assimiláveis aos domésticos, excepção feita aos contaminados:

- de preparação de refeições (embalagens de produtos alimentares, restos de preparação de carne e de refeições não utilizadas);
- restos de refeições não totalmente consumidas por doentes (consideradas como contaminadas);
- objectos de utilização pessoal, na restauração, como loiças, vidros, garrafas, (considerados como contaminados);
- embalagens diversas utilizadas por doentes (consideradas como contaminadas);
- resíduos das operações de limpeza efectuada próxima de doentes (considerados como contaminados).

#### A<sub>2</sub> — Quanto à perigosidade

Deve adoptar-se o determinado no Despacho 16/90, publicado no D. R. n.º 192, II Série de 21-08-90.

## B — Resíduos líquidos

Segundo a sua proveniência, deverão ser considerados os seguintes efluentes líquidos:

- a) dos laboratórios (águas residuais ácidas ou alcalinas, solventes orgânicos);
- b) da medicina nuclear (águas residuais contaminadas e urinas de doentes em tratamento);
- c) da hemodiálise (águas residuais da desinfeção obrigatória após cada sessão de tratamento, contendo desinfectantes como o formol, água de jável);
- d) da imagiologia (águas residuais com produtos químicos utilizados nos banhos de fixação);
- e) das cozinhas (águas residuais gordas, de descasque e limpeza de produtos alimentares);
- f) das lavandarias (águas residuais com detergentes, com microrganismos patogénicos);
- g) das piscinas de serviços de medicina física e de reabilitação (águas quentes com cloro, bromo, isocianetos);
- h) águas negras (com fezes, urinas);

## C — Resíduos gasosos

Provenientes, em geral, de instalações de produção de águas quentes, de operações de incineração, de lavandarias e de serviços específicos (laboratórios, esterilização com óxido de etileno, utilização de gás radioactivo em medicina nuclear).

Deverão ser considerados, entre outros:

- a) poeiras;
- b) óxidos de enxofre;
- c) óxidos de azoto;
- d) óxidos de carbono;
- e) cloro e compostos de cloro;
- f) hidrogénio;
- g) vapor de água;
- h) compostos orgânicos voláteis.

### 6.2.2.2 Identificação dos circuitos de recolha

A recolha intra-hospitalar de resíduos inclui as fases de triagem, transporte e armazenamento.

A ponderação deste domínio, conjugada com a que deverá ser feita relativamente ao das soluções adoptadas ou a adoptar para o destino final desses resíduos, identificará a maior ou menor incidência de cada um dos factores de risco para a saúde e para o ambiente.

Importa referir princípios ou regras essenciais à formulação de programas para os dois domínios citados.

## A — Triagem, transporte e armazenamento

### A<sub>1</sub> — Resíduos sólidos

- Devem obrigatoriamente obedecer à distinção entre contaminados e não contaminados (Disp. 16/90, de 21/08);
- após identificação, fazer-se-á a triagem ou separação nos próprios locais de produção;
- tendo em vista o seu transporte, serão acondicionados em sacos ou recipientes fechados e facilmente identificáveis;
- os percursos de transporte, dos locais de produção para os de armazenamento, devem ser estabelecidos de modo a evitar o encontro entre «limpos» e «sujos»;
- o armazenamento de resíduos deve prever os seguintes locais:

- a) local para contaminados destinados à incineração;
- b) local de armazenamento central para resíduos domésticos;
- c) local para resíduos radioactivos.

### A<sub>2</sub> — Resíduos líquidos

A separação de efluentes líquidos exige redes internas de drenagem, próprias, assim como pequenas câmaras de pré-tratamento.

Em regra, são observadas as seguintes condições:

- os efluentes provenientes das cozinhas deverão, antes do seu lançamento na rede pública, ser sujeitos a decantação, com vista à diminuição dos seus teores em gorduras;
- os efluentes radioactivos terão de ser codificados e acondicionados, tendo em vista o seu transporte para o exterior da unidade hospitalar;
- os efluentes provenientes de laboratórios que contenham substâncias perigosas serão recolhidos em recipientes herméticos e também convenientemente codificados.

## B — Destino final

Trata-se da fase que mais directamente orientará os estudos de impacte ambiental.

As boas ou más condições adoptadas para o tratamento e destino final dos resíduos das unidades hospitalares determinarão os menores ou maiores agravos ao meio ambiente circundante.

Em consequência, as perspectivas adoptadas para o domínio em causa, deverão ter em conta o seguinte:

#### B<sub>1</sub> — Resíduos sólidos

##### 1) Resíduos contaminados

- serão incinerados, quer por incinerador hospitalar, quer por incidência de outro serviço, público ou privado; para os aterros sanitários suplectivos e de emergência, serão considerados os seus efeitos negativos;
- pelos desequilíbrios que origina no meio ambiente, em consequência da libertação de poeiras, maus odores e gases resultantes de más combustões, o dimensionamento de incineradores deve ser feito na observância de parâmetros criteriosa e correctamente estabelecidos.

##### a) Situações a considerar:

- a.1 — de carácter mecânico, resultantes da natureza química e abrasiva dos resíduos;
- a.2 — das condições, de combustão, resultantes da composição heterogénea dos resíduos;

##### b) Composição dos resíduos:

- b.1 — matérias combustíveis (madeiras, plásticos);
- b.2 — matérias inertes (vidros, metais);
- b.3 — grau de humidade;

- c) poder calorífico inferior (P.C.I.), tendo em conta a natureza dos resíduos a incinerar;
- d) temperatura de combustão, tendo em conta a natureza dos resíduos a incinerar;
- e) capacidade do incinerador, calculada em função do P.C.I. e não do seu volume;

— os resíduos provenientes de laboratórios poderão, eventualmente, ser submetidos a processos de esterilização a vapor sob pressão.

#### B<sub>2</sub> — Resíduos líquidos

1 — A solução para o destino final dos efluentes líquidos de unidades hospitalares deve basear-se no estabelecimento de protocolos entre essas unidades e os serviços públicos estabelecidos para o saneamento urbano, tendo em vista:

- o estudo de compatibilização entre hospital e a estação de depuração;
- a melhoria, ou optimização de instalações existentes.

2 — Deverão ser determinadas as cargas poluidoras com base nas características físicas, químicas e biológicas e microbiológicas dos diferentes tipos de efluentes.

Tal determinação ditará a necessidade de proceder ou não, a pré-tratamentos, ou de instalar, na própria unidade hospitalar, uma estação de tratamentos.

#### C — Resíduos gasosos

São, essencialmente, provenientes da incineração e deverão ser submetidos, antes da sua dispersão no meio ambiente, a processos de depuração (filtração, etc.).

### 6.3 Condições psicossociais

Este tipo de impacte deverá ser equacionado sob três perspectivas:

- Saúde mental
- Estilos de vida
- Tecido sociocultural

Nem todas as repercussões deste género, derivadas da realização e do funcionamento das unidades de saúde, têm sinal negativo, sendo de admitir que muitas delas virão contribuir para um melhor sentimento de segurança, individual e colectivo, em relação à assistência na doença e às possibilidades acrescidas de promoção da saúde.

Não se pode ignorar, por outro lado, que as condições de mudança nas imediações dos estabelecimentos, causadas por estes, terão necessariamente que afectar em sentido inverso, algumas das características psicológicas e sociológicas dominantes na comunidade afectada.

B — *Resíduos líquidos*

Segundo a sua proveniência, deverão ser considerados os seguintes efluentes líquidos.

- a) dos laboratórios (águas residuais ácidas ou alcalinas, solventes orgânicos);
- b) da medicina nuclear (águas residuais contaminadas e urinas de doentes em tratamento);
- c) da hemodiálise (águas residuais da desinfeção obrigatória após cada sessão de tratamento, contendo desinfectantes como o formol, água de javel);
- d) da imagiologia (águas residuais com produtos químicos utilizados nos banhos de fixação);
- e) das cozinhas (águas residuais gordas, de descasque e limpeza de produtos alimentares);
- f) das lavandarias (águas residuais com detergentes, com microrganismos patogénicos);
- g) das piscinas de serviços de medicina física e de reabilitação (águas quentes com cloro, bromo, isocianetos);
- h) águas negras (com fezes, urinas);

C — *Resíduos gasosos*

Provenientes, em geral, de instalações de produção de águas quentes, de operações de incineração, de lavandarias e de serviços específicos (laboratórios, esterilização com óxido de etileno, utilização de gás radioactivo em medicina nuclear).

Deverão ser considerados, entre outros:

- a) poeiras;
- b) óxidos de enxofre;
- c) óxidos de azoto;
- d) óxidos de carbono;
- e) cloro e compostos de cloro;
- f) hidrogénio;
- g) vapor de água;
- h) compostos orgânicos voláteis.

6.2.2.2 *Identificação dos circuitos de recolha*

A recolha intra-hospitalar de resíduos inclui as fases de triagem, transporte e armazenamento.

A ponderação deste domínio, conjugada com a que deverá ser feita relativamente ao das soluções adoptadas ou a adoptar para o destino final desses resíduos, identificará a maior ou menor incidência de cada um dos factores de risco para a saúde e para o ambiente.

Importa referir princípios ou regras essenciais à formulação de programas para os dois domínios citados.

A — *Triagem, transporte e armazenamento*

A<sub>1</sub> — *Resíduos sólidos*

- Devem obrigatoriamente obedecer à distinção entre contaminados e não contaminados (Disp. 16/90, de 21/08);
- após identificação, fazer-se-á a triagem ou separação nos próprios locais de produção;
- tendo em vista o seu transporte, serão acondicionados em sacos ou recipientes fechados e facilmente identificáveis;
- os percursos de transporte, dos locais de produção para os de armazenamento, devem ser estabelecidos de modo a evitar o encontro entre «limpos» e «sujos»;
- o armazenamento de resíduos deve prever os seguintes locais:

- a) local para contaminados destinados à incineração;
- b) local de armazenamento central para resíduos domésticos;
- c) local para resíduos radioactivos.

A<sub>2</sub> — *Resíduos líquidos*

A separação de efluentes líquidos exige redes internas de drenagem, próprias, assim como pequenas câmaras de pré-tratamento.

Em regra, são observadas as seguintes condições:

- os efluentes provenientes das cozinhas deverão, antes do seu lançamento na rede pública, ser sujeitos a decantação, com vista à diminuição dos seus teores em gorduras;
- os efluentes radioactivos terão de ser codificados e acondicionados, tendo em vista o seu transporte para o exterior da unidade hospitalar;
- os efluentes provenientes de laboratórios que contenham substâncias perigosas serão recolhidos em recipientes herméticos e também convenientemente codificados.

B — *Destino final*

Trata-se da fase que mais directamente orientará os estudos de impacte ambiental.

As boas ou más condições adoptadas para o tratamento e destino final dos resíduos das unidades hospitalares determinarão os menores ou maiores agravos ao meio ambiente circundante.

Em consequência, as perspectivas adoptadas para o domínio em causa, deverão ter em conta o seguinte:

#### B<sub>1</sub> — Resíduos sólidos

##### 1) Resíduos contaminados

- serão incinerados, quer por incinerador hospitalar, quer por incidência de outro serviço, público ou privado; para os aterros sanitários suplectivos e de emergência, serão considerados os seus efeitos negativos;
- pelos desequilíbrios que origina no meio ambiente, em consequência da libertação de poeiras, maus odores e gases resultantes de más combustões, o dimensionamento de incineradores deve ser feito na observância de parâmetros criteriosa e correctamente estabelecidos.

##### a) Situações a considerar:

- a.1 — de carácter mecânico, resultantes da natureza química e abrasiva dos resíduos;
- a.2 — das condições, de combustão, resultantes da composição heterogénea dos resíduos;

##### b) Composição dos resíduos:

- b.1 — matérias combustíveis (madeiras, plásticos);
- b.2 — matérias inertes (vidros, metais);
- b.3 — grau de humidade;

- c) poder calorífico inferior (P.C.I.), tendo em conta a natureza dos resíduos a incinerar;
- d) temperatura de combustão, tendo em conta a natureza dos resíduos a incinerar;
- e) capacidade do incinerador, calculada em função do P.C.I. e não do seu volume;

- os resíduos provenientes de laboratórios poderão, eventualmente, ser submetidos a processos de esterilização a vapor sob pressão.

#### B<sub>2</sub> — Resíduos líquidos

- 1 — A solução para o destino final dos efluentes líquidos de unidades hospitalares deve basear-se no estabelecimento de protocolos entre essas unidades e os serviços públicos estabelecidos para o saneamento urbano, tendo em vista:

- o estudo de compatibilização entre hospital e a estação de depuração;
- a melhoria, ou optimização de instalações existentes.

- 2 — Deverão ser determinadas as cargas poluidoras com base nas características físicas, químicas e biológicas e microbiológicas dos diferentes tipos de efluentes.

Tal determinação ditará a necessidade de proceder ou não, a pré-tratamentos, ou de instalar, na própria unidade hospitalar, uma estação de tratamentos.

#### C — Resíduos gasosos

São, essencialmente, provenientes da incineração e deverão ser submetidos, antes da sua dispersão no meio ambiente, a processos de depuração (filtração, etc.).

### 6.3 Condições psicossociais

Este tipo de impacte deverá ser equacionado sob três perspectivas:

- Saúde mental
- Estilos de vida
- Tecido sociocultural

Nem todas as repercussões deste género, derivadas da realização e do funcionamento das unidades de saúde, têm sinal negativo, sendo de admitir que muitas delas virão contribuir para um melhor sentimento de segurança, individual e colectivo, em relação à assistência na doença e às possibilidades acrescidas de promoção da saúde.

Não se pode ignorar, por outro lado, que as condições de mudança nas imediações dos estabelecimentos, causadas por estes, terão necessariamente que afectar em sentido inverso, algumas das características psicológicas e sociológicas dominantes na comunidade afectada.

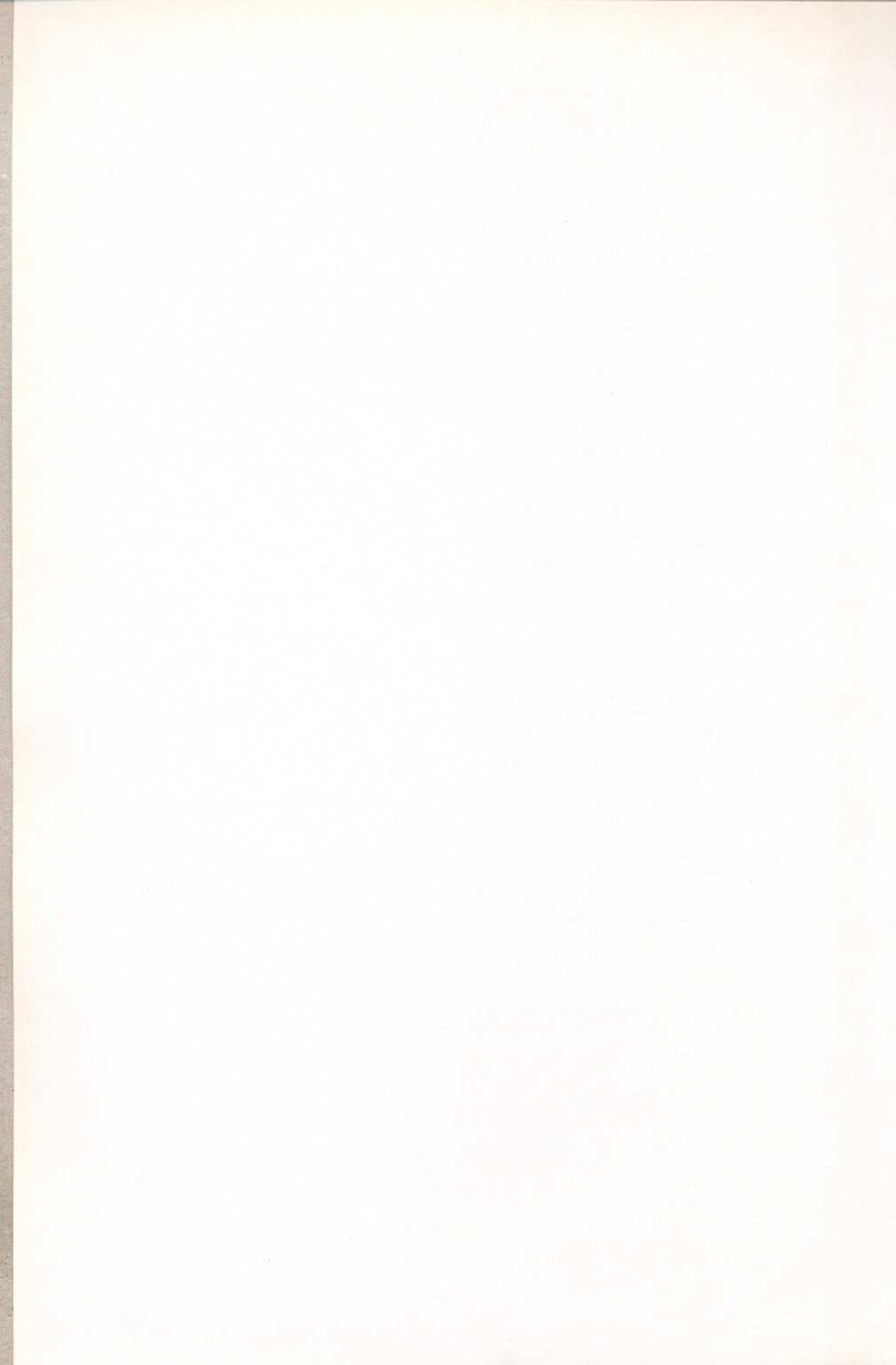
Julga-se, portanto, de toda a pertinência, exigir um estudo aprofundado deste tipo de problemas numa avaliação do impacte ambiental.

#### *Aspectos psicossociais*

- a) A importância da estrutura social do pessoal de saúde na manutenção de uma disciplina sanitária;
- b) O reflexo do nível de educação individual e do estilo de vida na actividade da comunidade hospitalar;
- c) Aspectos psíquicos com base neuropatológica devido a exposição crónica (e ocasionalmente aguda) a compostos tóxicos (caso dos solventes orgânicos);
- d) Aspectos psíquicos, e com base orgânica, resultantes da exposição excessiva a monitores dos computadores.

#### **BIBLIOGRAFIA**

- 1 — DEPARTMENT OF HEALTH — **The control of substances hazardous to health — Evidence for the initial assessment in Hospitals.** The Institute of Occupational Health, The University of Birmingham, Birmingham, HMSO, London 1990.
- 2 — NATO/CCMS REPORT N.º 183 — **Pilot Study on Indoor Air Quality — The Implications of Indoor Air Quality for Modern Society.** Report on a Meeting held in Erica, Italy, February 1989.
- 3 — **Indoor Air Quality and Ventilation.** Ed. by F. Lunay and G. L. Reynolds. Publ. by Selper Ltd, London 1990.
- 4 — NATO/CCMS PILOT STUDY ON «INDOOR AIR QUALITY», 4th Plenary Meeting — **Epidemiology and Medical.**



## Anexo IV

### ESTUDO N.º 4

# **Estabelecimento de soluções gerais tipo para os hospitais e outros estabelecimentos de saúde, com vista a evitar os mais previsíveis e importantes danos, previamente determinados, para o ambiente**

## **1. Introdução**

### **1.1 Objectivo**

De acordo com o plano de trabalhos proposto pelo NEA/MS e aprovado por despacho de Sua Excelência o Senhor Ministro da Saúde, de 90-12-11, o presente estudo tem em vista o estabelecimento de soluções gerais tipo a adoptar nos Hospitais e outros estabelecimentos prestadores de cuidados de saúde, com vista a evitar os mais previsíveis e importantes danos, previamente determinados, para a saúde do Homem e ambiente em geral.

Este objectivo foi o estabelecido no sentido de dar sequência dos estudos anteriormente elaborados por este Núcleo de Estudos Ambientais, designadamente o Estudo n.º 3, em que se procedeu à análise dos principais efeitos, directos e indirectos, deste tipo de estabelecimentos, para o ambiente em geral e para a saúde dos seus utentes em especial, em consonância aliás, com a crescente importância que os problemas de ambiente interior vêm ganhando nos países da Comunidade Europeia.

### **1.2. Âmbito do estudo**

Os estabelecimentos abrangidos por este estudo encontram-se tipificados no Estudo n.º 1, do NEA/MS, de 30 de Janeiro de 1991, tendo sido elaborado posteriormente e em conformidade com o despacho ministerial de 11 de Junho de 1991, um Projecto de

Alteração ao Decreto-Regulamentar n.º 38/90 de 17 de Novembro, que o torne extensivo aos mesmos, aditando uma alínea g) à redacção do n.º 10 do Anexo III do Decreto-Lei n.º 186/90 de 6 de Junho.

Os estabelecimentos abrangidos neste Estudo são, deste, modo, os seguintes:

- a) Hospitais e Casas de Saúde com lotação superior a 100 camas;
- b) Centros de Saúde servindo uma população superior a 26 000 habitantes;
- c) Estabelecimentos termais com capacidade de atendimento diário superior a 200 utentes;
- d) Instituições de Investigação em Saúde e Laboratórios de âmbito nacional.

### **1.3 Alargamento do estudo aos problemas de ambiente interior**

Conforme referido no Estudo n.º 3 (capítulo 2 Conceitos Limiares), um dos propósitos destes estudos é o rever o processo de conhecimento científico nos últimos anos em relação aos riscos para a saúde no Ambiente Interior (em inglês usam-se as duas designações «Indoor Air Quality» ou «Environment Indoor Quality») dado que, tradicionalmente, estes estabelecimentos não têm sido considerados como locais de risco para a saúde como sucede para as indústrias e outras actividades. As referências na literatura são bastantes sobre a problemática do «Indoor Air Quality» sendo de citar

em especial a Conferência Internacional realizada precisamente em Lisboa em 1990<sup>(1)</sup> e o estudo que se está desenvolvendo no âmbito do programa científico da NATO<sup>(2)</sup>. A nível internacional existe já mesmo uma sociedade científica<sup>(3)</sup>.

Existe além disso uma certa indefinição sobre quem deve ser responsável pelos cuidados de saúde hospitalares e sua coordenação a nível da administração central. Em muitos países existem já Serviços de Saúde Ocupacional nos Hospitais que exercem aquelas funções<sup>(4)</sup>. Em Portugal com a criação das Comissões de Higiene e Epidemiologia Infecciosa nos hospitais portugueses<sup>(5)</sup> a solução do controlo dos riscos hospitalares para a saúde parece facilitada.

Os riscos ambientais interiores afectam não só os profissionais de saúde (médicos, enfermeiros e técnicos) mas também o restante pessoal que trabalha nos hospitais (serviços administrativos, blocos operatórios, esterilização laboratórios, farmácia, incineração, cozinhas, central térmica, central de emergência, oficinas, etc.). Estudos europeus mostram que excluindo o pessoal de saúde, o restante pessoal constitui cerca de 60 % da força de trabalho no hospital<sup>(6)</sup>. A legislação existente e a bibliografia sobre este assunto é já abundante<sup>(7), (8), (9)</sup>.

#### 1.4 Recolha de elementos de estudo

No decorrer da elaboração deste estudo foi necessário estabelecer contactos com a realidade hospitalar, tendo, para o efeito, sido feita uma visita ao Novo Hospital da Universidade de Coimbra, por se tratar de uma unidade de grandes dimensões e de construção relativamente recente, onde, portanto, os problemas de carácter ambiental terão, «à priori» efeitos de escala superiores à da generalidade dos hospitais portugueses.

Esta visita foi extremamente útil no tocante à recolha de elementos de estudo, quer pela disponibilidade e extrema atenção postos pelo Conselho de Administração na sua obtenção, quer ainda pela prestimosa colaboração de todos os técnicos do Hospital que acompanharam o Núcleo naquela visita.

Por dificuldades de tempo e de disponibilidade dos membros do Núcleo, não foi possível visitar outros hospitais, até de construção mais recente, cuja análise de certo revelaria outros problemas de índole ambiental.

O trabalho de recolha de elementos revelou-se, em alguns casos, bastante difícil, designadamente nos aspectos menos «tradicionais» da problemática

do ambiente, como são os da qualidade do ambiente interior em edifícios de saúde e, ainda, naqueles em que não há especialistas no Núcleo (caso dos aspectos psicossociais).

A resolução destes problemas implicou um trabalho de pesquisa muito intenso e o contacto a nível individual com organismos científicos, tais como o «Institute of Occupational Health» e o «Department of Biochemistry and Toxicology» da Universidade de Birmingham, nas pessoas dos Drs. Len S. Levy, A. S. Dobberson, D. C. Glass e Prof. Kevin Chipman.

A realização do estudo implicou, ainda, da parte dos elementos do Núcleo mais ligados àqueles problemas, uma excepcional dedicação e uma extraordinária disponibilidade pessoal.

#### 1.5 Colaboração do Núcleo

Na elaboração deste estudo, foi possível ao Núcleo dispor da colaboração do Senhor Engenheiro Octávio Lopes, Director dos Serviços de Instalações e Equipamentos dos Hospitais da Universidade de Coimbra, a qual se revelou de extraordinária importância para o conhecimento dos aspectos da realidade hospitalar, e, ainda, na elaboração dos diversos capítulos deste estudo, designadamente e com maior relevância, na do capítulo 8 — «Recomendações Gerais com Vista a Minimizar os Riscos no Ambiente dos Estabelecimentos de Saúde».

### 2. Antecedentes

#### 2.1 Finalidade e competências do Núcleo de Estudos Ambientais

A finalidade do NEA/MS é definida pelo teor da deliberação do Conselho de Ministros, de 8 de Fevereiro de 1990, relativa ao envolvimento dos vários ministérios em acções em que o vector ecológico deve ser considerado em simultâneo com os, mais tradicionais, como os comerciais, económicos, energéticos, agrícolas ou outros.

Pode, nesse sentido, estabelecer-se a finalidade do Núcleo como a de conferir ao Ministério da Saúde, nas suas acções sectoriais, a capacidade de prever possíveis danos sobre o ambiente e de procurar soluções que permitam evitá-los.

As competências do NEA/MS, por seu lado, estão inscritas no número 3 do despacho do Senhor Ministro da Saúde, de 26 de Abril de 1990, que o criou:

- 1.ª — Efectuar os estudos necessários para prever o impacte ambiental resultante da construção dos hospitais ou outros em-

preendimentos a realizar no Ministério da Saúde;

- 2.<sup>a</sup> — Propor soluções que permitam evitar eventuais danos sobre o ambiente consequentes do impacte acima referido.

## 2.2 Actividade do Núcleo até à data

Dentro da primeira das duas competências no número anterior, o NEA/MS propôs e tem vindo a dedicar-se à elaboração de uma série de estudos, em número de quatro, três dos quais já foram concluídos e apresentados à consideração superior:

- Estudo n.º 1 — Tipificação dos empreendimentos cuja realização e/ou licenciamento pelo Ministério da Saúde deverá incluir estudos de avaliação dos seus efeitos no ambiente (entregue em 30 de Janeiro de 1991);
- Estudo n.º 2 — Definição dos limites dentro dos quais se deverá realizar a avaliação do impacte ambiental — AIE (entregue em 30 de Janeiro de 1991);
- Estudo n.º 3 — Previsão dos efeitos, directos ou indirectos, na saúde humana, dos hospitais e outros estabelecimentos prestadores de cuidados de saúde (entregue em 1 de Julho de 1991).

O Estudo n.º 4 agora em curso, e ao qual este documento é especialmente dedicado, destina-se a fechar o ciclo de estudos programados, enquadrando-se na segunda das competências do Núcleo, em relação à qual já se efectuaram as seguintes duas actividades:

- 1.<sup>a</sup> — Proposta de inclusão dos hospitais e outros estabelecimentos de prestação de cuidados de saúde no Anexo III do Decreto-Lei n.º 186/90, de 6 de Junho, como solução básica indispensável à consideração destes empreendimentos no âmbito dos projectos carentes de avaliação de impacte ambiental no contexto legal vigente;
- 2.<sup>a</sup> — Proposta de um plano de saúde ambiental no seio do Ministério da Saúde, compreendendo oito programas intersectoriais e multidisciplinares, como solução necessária à consecução das metas derivadas

dos objectivos estratégicos contemplados na versão original do PNPA (Plano Nacional de Política do Ambiente), em relação aos quais não se vislumbra razão para alterar e se mantêm portanto muito válidos. A primeira destas propostas foi aprovada superiormente, aguardando-se despacho ministerial para segunda.

## 2.3 Estudos de impacte ambiental

Nos concursos de concepção-construção para os novos hospitais, promovidos pelo Ministério da Saúde através da D.G.I.E.S., têm vindo a ser exigidos estudos de impacte ambiental (EIA), cujas condições técnicas especiais foram elaboradas com base nos estudos já executados e em curso por parte deste Núcleo de Estudos Ambientais.

## 3. Metodologia

### 3.1 Interpretação do termo «soluções gerais tipo»

O título do Estudo n.º 4 e a importância que é conferida ao próprio estudo pelo facto de ser o último de uma série, impõem uma prévia definição do termo «soluções gerais tipo».

Nessa designação haverá que incluir, não apenas as tradicionais soluções tecnológicas, quando pertinentes, mas também as orientações que guiarão os projectistas dos empreendimentos a produzir um melhor trabalho e os gestores dos estabelecimentos (hospitalares e afins) a conseguir um mais satisfatório desempenho.

Dado o andamento dos trabalhos do NEA/MS até à data, podemos dizer que procuramos «soluções gerais tipo» para duas categorias de problemas:

- 1.<sup>a</sup> — Directrizes para a efectiva realização de estudos de impacte ambiental decorrentes da inclusão dos hospitais e outros estabelecimentos prestadores de cuidados de saúde no contexto do Decreto-Lei n.º 186/90, de 6 de Junho;
- 2.<sup>a</sup> — Inclusão das matérias com carácter prioritário relativas aos efeitos, na saúde humana, do funcionamento dos estabelecimentos que nos interessam, de modo a influenciar concretamente o desenvolvimento do processo projectual e da actividade de gestão dos empreendimentos.

### 3.2 Capítulos que tratam do tema «soluções gerais tipo»

A primeira categoria de problemas acima referida é tratada no capítulo n.º 4 — *Termos de referência para estudos de impacte ao abrigo da legislação em vigor*.

Os aspectos com carácter prioritário relativos aos efeitos, na saúde humana do funcionamento destes estabelecimentos são incluídos em três grandes capítulos (n.ºs 5, 6 e 7), cujas matérias são as seguintes:

Cap.º 5 — *Qualidade do ambiente interior*

Cap.º 6 — *Resíduos*

Cap.º 7 — *Aspectos psicosociais*

Estes capítulos tratam dos seguintes temas:

#### 5. *Qualidade do ambiente interior*

5.1 O Síndrome dos edifícios insalubres

5.2 O ar interior

5.3 O espaço interior

5.4 Perigosidade múltipla ambiental dos diferentes serviços dos estabelecimentos de saúde

#### 6. *Resíduos*

6.1 Resíduos sólidos

6.2 Resíduos líquidos

6.3 Resíduos gasosos

#### 7. *Aspectos psicosociais*

7.1 Factores da ordem específica (actividade)

7.2 Factores de ordem institucional (organização)

7.3 O problema da comunicação intra-hospitalar e a perspetção de risco

### 3.3 Apresentação de recomendações gerais

Com vista a minimizar os riscos de carácter ambiental postos pelos hospitais e outros estabelecimentos prestadores de cuidados de saúde, são apresentados, no capítulo 8, as conclusões das matérias tratadas nos capítulos anteriores.

## 4. Termos de referência para estudos de impacte ao abrigo da legislação em vigor

### 4.1 Âmbito geral

Torna-se necessário proceder a um estudo de impacte das soluções propostas, no ambiente, no

sentido da sua conservação, da protecção da saúde humana e da formação da qualidade de vida das comunidades, tal como se encontra legislado na Lei de Bases do Ambiente.

De acordo com as prioridades estabelecidas na Carta Europeia do Ambiente e Saúde, os principais aspectos que se relacionam com uma instalação hospitalar e relativamente aos quais deverá ser dada particular atenção são todos aqueles que se relacionam com o tratamento das emissões de resíduos sólidos, líquidos e gasosos, por forma a evitar:

- perturbações gerais no ambiente local;
- influência sobre a qualidade da água, relativamente às águas superficiais, subterrâneas e de recreio;
- Influência sobre a qualidade do ar exterior, no que se refere a emissões de gases tóxicos e de partículas;
- emissão de resíduos perigosos designadamente quanto ao seu transporte e destino final.

O estudo de impacte ambiental deverá ainda ter em conta aspectos de ambiente interno e externo, tais como:

- interferência urbana e na paisagem;
- qualidade do ar interior e padrões de ventilação e respectivas medidas de controlo;
- medidas de conservação de energia, de recuperação de calor e de eficiência de funcionamento de centrais térmicas e de incineração;
- monitorização dos poluentes atmosféricos;
- controlo das emissões de resíduos sólidos e líquidos.

### 4.2 Limites da avaliação

Deverão ser consideradas três ordens de limites, a saber:

- a) Limites geográficos;
- b) Limites ecológicos;
- c) Limites construtivos.

#### 4.2.1 Limites geográficos

Os limites geográficos do EIA deverão ser, em princípio, aqueles que forem definidos conjuntamente pelos seguintes critérios:

- 1.º critério — Os limites ecológicos (ver ponto 4.2.2);
- 2.º critério — O interior de um perímetro situado a pelo menos, 300 m (trezentos metros) dos limites construtivos (ver ponto 4.2.3).

#### 4.2.2 Limites Ecológicos

##### A) Delimitação lata

Todo o espaço físico, superficial, subterrâneo ou aéreo, susceptível de conter factores de desequilíbrio na estrutura do ecossistema ou manifestações consequentes sobre os componentes do ambiente biofísico (água, ar solo, biota, alimentos, habitat artificial humano) e do ambiente psicosocial (população, actividades humanas, quadro socioeconómico e cultural, paisagem).

##### B) Delimitação por componentes do ambiente biofísico água

Superficial — até ao limite da influência de resíduos líquidos.

Subterrânea — até ao limite da influência das águas de drenagem e dos resíduos líquidos infiltrados.

##### Ar

Até ao limite da influência de fumos e gases insalubres ou incómodos produzidos no estabelecimento.

##### Solo

Até ao limite da influência de resíduos sólidos.

##### Biota

Até ao limite da influência do estabelecimento sobre factores bióticos importantes pela sua unidade, necessidade de protecção, valor patrimonial e relevo económico.

##### Alimentos

Até ao limite da influência do estabelecimento em produtos alimentares, naturais ou preparados, ou em actividades de comercialização ou consumo.

##### Habitat artificial humano

Até ao limite da influência do estabelecimento nos edifícios adjacentes, nos estabelecimentos comerciais e industriais, nas redes viárias e outras infraestruturas e nos espaços/habitados.

##### C) Delimitação por componentes do ambiente psicosocial

##### População

Afecções em grupos de risco (crianças, velhos, profissionais de saúde).

##### Actividades humanas

Interferência em actividades humanas dos vários sectores económicos (primário, secundário e terciário).

##### Quadro sócioeconómico e cultural

Alterações nos parâmetros socioeconómicos da população afectada pelo estabelecimento e influência no património cultural identificado ou classificado.

##### Paisagem

Até ao limite de influência do estabelecimento na paisagem, seja em áreas protegidas ou em zonas identificadas como importantes, pelo seu valor paisagístico ou sensibilidade ecológica.

#### 4.2.3 Limites construtivos

Considerar-se-ão, como limites construtivos, para além dos que disserem respeito aos edifícios que fazem parte do projecto em apreço, ou das seguintes áreas, dentro do perímetro do empreendimento:

- Edifícios de apoio;
- Anexos;
- Estações de tratamento de águas para consumo humano, de águas residuais, ou resíduos sólidos, líquidos e gasosos;
- Centrais de energia, de calor, de aquecimento, de ventilação, de ar condicionado e quaisquer outros equipamentos mecânicos e, ou eléctricos;
- Vias de circulação de viaturas e de peões;
- Jardins e outras zonas verdes, naturais ou artificiais;

- Outros edifícios ou construções que, pelas suas características tenham impacto digno de consideração.

#### 4.3 Factores a avaliar

A avaliação de impacto ambiental e o consequente estudo de impacto ambiental estão previstos no Decreto-Lei n.º 186/90, de 6 de Junho, estando em curso a efectivação de diligências para a inclusão dos hospitais e de outros estabelecimentos de prestação de cuidados de saúde no respectivo Anexo III.

Sendo os principais aspectos a analisar nos estudos de impacto ambiental previstos no referido Anexo III ao Decreto-Lei n.º 186/90, os considerados no n.º 2 do Art.º 2.º do Dec. Regulamentar n.º 38/9, de 27 de Novembro, deverão ser eles os factores a ter em conta:

- Localização, descrição e características funcionais do projecto;
- Incidência sobre o sistema de drenagem, zonas ribeirinhas e sistemas costeiros e estuários;
- Incidência da emissão de resíduos ou efluentes sobre os parâmetros de qualidade do solo, água e ar;
- Factores de desequilíbrio na estrutura do ecossistema;
- Medidas mitigadoras das incidências negativas sobre o ambiente.

Deste modo, deverão ser analisados todos aqueles aspectos que contribuam para a determinação e mitigação dos efeitos directos e indirectos do empreendimento, nomeadamente quanto a:

- Aspectos relativos ao planeamento e programação com incidência no ambiente interior e exterior do estabelecimento, indicando as respectivas soluções e medidas mitigadoras:
  - Localização;
  - Planeamento e tendências da expansão urbana;
  - Proximidade de actividades ruidosas;
  - Proximidade de redes viárias, zonas de tráfego aéreo e aeroportos: níveis de ruído existentes;
  - Existência e adequado dimensionamento das infraestruturas;

- Ventos dominantes;
- Natureza dos solos: reconhecimento geotécnico e hidrológico;
- Índices de ocupação do terreno;
- Acessos e estacionamento;
- Outros.

- Avaliação das soluções de projecto, nos aspectos que tenham influência no ambiente interior e exterior do estabelecimento e indicação de possíveis soluções alternativas para o seu melhoramento, tais como:

- Condicionantes urbanas e paisagísticas;
- Orientação geral do edifício;
- Orientação das enfermarias e quartos de internamento
- Iluminação e ventilação naturais dos espaços interiores;
- Qualidade e níveis de iluminação artificial;
- Insolação e respectivo controlo;
- Transmissão de ruídos e isolamento sonoro em relação às fontes de ruído;
- Conforto térmico, visual, táctil e mecânico;
- Qualidade de ar interior e padrões de ventilação;
- Tratamento dos espaços exteriores: arborização, zonas verdes, arruamentos, estacionamento e equipamento urbano;
- Medidas de protecção da natureza;
- Tratamento (físico, químico, biológico e microbiológico) das águas de consumo, de acordo com as respectivas utilizações;
- Segurança de redes de águas pluviais e residuais;
- Desinfecção, desengorduramento e arrefecimento de águas residuais;
- Localização e condições de instalação e de funcionamento de centrais térmicas, incinerações, cozinhas e lavandarias;
- Armazenamento e distribuição de combustíveis e de gases medicinais;
- Exaustão de fumos e respectivo tratamento;
- Exaustão de gases poluentes, tóxicos ou amnésicos e sua não interferência com as tomadas para condicionamento ou renovação do ar interior;
- Protecção radiológica do pessoal e utentes;
- Protecção contra riscos de produção de doenças infecciosas e alérgicas, explosão

e incêndio, gases tóxicos e anestésicos, drogas e queimaduras;

- Triagem de roupas e de resíduos sólidos contaminados (na origem);
- Remoção, tratamento e destino final dos resíduos sólidos;
- Gestão de energia e sistemas de recuperação de calor.

## 5. Qualidade do ambiente interior

Há a considerar o duplo aspecto do Ar Interior («Indoor Air Quality») propriamente dito, onde se dispersam os contaminantes tóxicos nas suas formas gasosa, líquida ou sólida, além dos contaminantes biológicos e do *Espaço Interior*, o compartimento onde têm ocorrência fenómenos de natureza física, igualmente factores de risco para a saúde. Um terceiro aspecto merece ser referido pois tem merecido particular atenção da OMS

nos últimos anos, o «Sick Building Syndrome» em tradução literal: *Síndrome dos edifícios insalubres*.

De cada risco ambiental considerado, seja de natureza química, física ou biológica, é feita uma apreciação com dois aspectos complementares, um médico-patológico e outro técnico-sanitário.

A identificação dos Serviços Hospitalares segundo a perigosidade da exposição aos riscos ambientais interiores e das normas de prevenção desses riscos é feita numa segunda fase.

No ambiente interior hospitalar há a considerar sucessivamente:

- O síndrome dos edifícios insalubres;
- O ar interior;
- O espaço interior.

### 5.1 O síndrome dos edifícios insalubres

Em 1982 um grupo de trabalho da OMS concluiu que certos problemas postos pelo clima interior de edifícios e referidos na bibliografia internacional, correspondiam a um mesmo tipo de situações<sup>(10)</sup>. Os problemas que tinham origem em certos edifícios eram caracterizados pelo aparecimento de um mesmo conjunto de queixas e de sintomas. O grupo de trabalho da OMS sugeriu o nome de «Sick Building Syndrome» (SBS) e que em português poderá ter o seu equivalente em Síndrome dos Edifícios Insalubres (SEI).

Na bibliografia internacional têm aparecido várias definições para o conjunto de sintomas e de queixas que caracterizam o Síndrome dos Edifícios Insalu-

bres e que na maioria dos casos são sinónimos, como por exemplo, doença dos edifícios («building disease») doenças relacionadas com os edifícios («building-re-lated illness») ou mesmo «síndrome da doença dos edifícios» («building illness syndrome»).

Para se evitar a diversidade de definições, e muitas delas incorrectas, o grupo de trabalho da NATO/CCMS sobre («Indoor Air Quality») <sup>(2)</sup> sugeriu as seguintes definições:

- a) («*Building Related Complaints*» BRC) ou seja: *Queixas Relacionadas com Edifícios* sobre a pobre qualidade do ar interior ou com ambiente interior de má qualidade;
- b) («*Building Related Symptoms*» BRS) ou seja: *Sintomas Relacionados com Edifícios*: As queixas sobre a saúde (sintomas subjectivos) apresentadas por um só indivíduo e ocorrendo no interior do edifício e usualmente desaparecendo quando deixa o edifício.
- c) («*Sick Building Syndrome*» SBS) ou seja: *Síndrome de Edifício Insalubre*: Um termo que refere uma situação em que a maioria dos ocupantes do edifício se queixam de sintomas gerais irritativos não específicos;
- d) («*Building Related Illness*», BRI) ou seja: *Doença Relacionada com Edifícios*: Uma condição clínica com sintomas e sinais definidos e nos quais a etiologia está relacionada com o edifício;
- e) O termo («*Sick Building*») não deve ser usado, sendo preferível a expressão («*Building with indoor climate problems*»). As queixas apresentadas pelos ocupantes de um edifício podem ser agrupadas em cinco categorias, no âmbito do que se designa por *Doença Relacionada com Edifícios*:

- 1 — Irritação sensorial dos olhos, nariz e garganta;
- 2 — Sintomas neurológicos e da saúde em geral;
- 3 — Irritação da pele;
- 4 — Reacções não específicas de hipersensibilidade;
- 5 — Sintomas relacionados com o odor e o sabor.

Com o intuito de combinar aqueles sintomas com o conjunto de queixas do Síndrome de Edifícios Insalubres, a OMS <sup>(10)</sup> sumariza:

- 1 — As cinco categorias de sintomas da lista anterior;
- 2 — Irritação das membranas mucosas nos olhos, no nariz e na garganta, como os sintomas mais frequentes;

- 3—Outros sintomas, como por exemplo das vias respiratórias inferiores ou de órgãos internos são pouco frequentes;
- 4—A maioria dos ocupantes do edifício apresenta queixas;
- 5—Os sintomas são mais frequentes num determinado edifício ou em parte dele;
- 6—Não é possível identificar uma relação causal evidente quer em relação à exposição quer em relação à sensibilidade dos ocupantes.

O ambiente interior dos hospitais põe riscos para a saúde que constituem um complexo problema com o mesmo grau de perigosidade encontrado em muitas actividades industriais. Em muitos países europeus o problema está já a ser estudado através de questionários, provavelmente o método mais útil para conduzir uma investigação epidemiológica relacionada com a saúde do ambiente interior dos hospitais<sup>(11)</sup>, iniciativa que se irá recomendar a ser seguida no nosso país.

## 5.2 O ar interior

A respiração toxicológica e patológica resultante dos elevados graus de poluição que se atingem nos espaços interiores hospitalares constitui o mais grave problema de saúde de todos os riscos hospitalares. A gravidade do problema reside em dois factores principais. Em primeiro lugar a repetida exposição a níveis contaminantes por longos períodos de tempo, meses e até anos, pelo que é mandatário reduzir esses níveis aos mais baixos valores possíveis utilizando metodologias diversas que vão desde a diferenciação dos espaços origem, a soluções arquitectónicas, existência de ventilação, etc., com uma ventilação/extracção eficiente e com um regular sistema de monitorização. Em segundo lugar, há a considerar a toxicologia específica de cada poluente que põe medidas de prevenção específicas.

Os contaminantes químicos podem dispersar-se no ar ambiental a temperaturas e a pressão normais, numa forma gasosa, líquida ou sólida. Estas duas últimas representam suspensões particulares, os aerossóis. A sua formação pode ser potencializada com o manuseio hospitalar de concentrações elevadas e a temperaturas também elevadas, pelo que a sua prevenção requer compartimentos próprios com ventilação adequada. Os vapores, que se distinguem dos gases por serem suspensões de moléculas de compostos que à temperatura normal têm uma forma líquida ou sólida, podem igualmente

ver os seus níveis aumentados com uma descuidada manipulação.

Em relação ao ar interior consideram-se os seguintes factores:

- Os factores químicos no ambiente hospitalar;
- Os bioaerossóis contaminantes;
- O fumo do tabaco ambiental (environmental tobacco smoking, ETS);

### 5.2.1 — Os factores químicos no ambiente familiar

A larga variedade de agentes químicos que está sendo usada nos hospitais é o reflexo do paralelo aumento de xenobióticos na vida moderna. O problema tem merecido a devida atenção pelos serviços de saúde de vários países, sendo de realçar em especial o estudo «The Control of Substances Hazardous to Health», editado pelo Departamento de Saúde do Reino Unido<sup>(12)</sup>. Este estudo constitui referência obrigatória para quem tem de projectar um hospital e posteriormente para quem for responsável pela sua gestão.

Seria deslocado fazer aqui uma referência exaustiva a todos os químicos utilizados no ambiente hospitalar. Será uma tarefa a realizar através de manuais especializados que o Ministério da Saúde terá de editar futuramente, pelo que aqui se referem os grupos mais importantes:

- a) Gases anestésicos voláteis — Até recentemente pouca atenção foi dada aos efeitos adversos para a saúde devido à exposição a compostos químicos no ambiente hospitalar. Nos gases anestésico tem de se incluir o protóxido de azoto e os etanos ou éter halogenados (tais como o halotano, o metoxiflurano, o enflurano, etc.). Muitos dos anestésicos halogenados por serem considerados tóxicos e inflamáveis foram abandonados. Uma revisão compreensiva dos efeitos dos gases anestésicos e dos seus riscos pode encontrar-se em duas referências para consulta, a primeira pelo U. S. Dept. of Health<sup>(13)</sup> e a segunda na Suécia<sup>(14)</sup>.

Estudos recentes indicam que o pessoal trabalhando nas salas de operações está sujeito a um aumento da taxa de abortos espontâneos, de malformações congénitas na descendência (exposição na fase inicial da gravidez) além das das alterações funcionais renais, hepáticas ou do sistema nervoso.

É particularmente grave o mau funcionamento dos sistemas de renovação de ar, criando («hot spots»), (pontos críticos) ou prolongados períodos de exposição a níveis mais elevados do que os recomendados <sup>(14)</sup>. Além dos cirurgiões, anestesistas e pessoal de enfermagem, estão envolvidos na exposição, não só o pessoal de limpeza, mas igualmente todo o pessoal trabalhando nos corredores e nos serviços vizinhos às salas de operações.

- b) *Compostos esterilizantes* — Devem incluir-se aqui o óxido de etileno, utilizando como esterilizador de equipamento sensível ao calor e o formaldeído que é usado como esterilizador de equipamento de diálise. Em relação ao óxido de etileno existem as recomendações da NIOSH de 1977 <sup>(15)</sup> sobre os riscos de exposição e seu controlo. Para o formaldeído, responsável por alterações respiratórias, em particular uma forma de asma ocupacional, existe uma revisão no Brit. J. of Ind. Medicine <sup>(16)</sup>. São também responsáveis por dermatites tóxicas e alérgicas.
- c) *Agentes antimicrobianos* — A referir aqui o hexaclorofeno, não mais usado como agente terapêutico, mas unicamente como desinfetante de instrumentos cirúrgicos e para lavagens de mão de pessoal dos blocos operatórios. Como ponto de referência cita-se a referência do JAMA <sup>(17)</sup>.
- d) *Agentes orgânicos voláteis* — «Volatile organic compounds», VOC's) — Constitui um grupo heterogêneo de compostos (formaldeído, benzeno, percloro-etileno) que, em forma sólida ou líquida, tem tido moderna utilização em produtos usados no ambiente exterior ou nos ambientes interiores. Podem levar à produção de efeitos agudos ou crónicos. O mais conhecido é a espuma de ureia-formaldeído usada como isolante. O formaldeído pode ser ainda um componente de painéis de madeira, de mobílias, pavimentos, em materiais para estofos, tapeçarias, etc. Uma revisão competente é dada pela EPA <sup>(18)</sup>.
- e) *Metais tóxicos* — O uso de cloreto de mercúrio tem sido associado com elevadas concentrações de valores de mercúrio e constitui um risco real para os estomatologistas que têm de preparar as amálgamas para aplicações dentais <sup>(19)</sup>. Além do mercúrio outros metais podem entrar nas próteses metálicas em estomatologia, como o crómio, o cobalto, o molibdénio e o berílio; contudo uma boa ventilação dos gabinetes pode eliminar os riscos com eficiência.

f) *Medicamentos* — O risco de exposição vem do uso de citostáticos na quimioterapia oncológica. Dado que muitos destes compostos são agentes metagénicos ou mesmo carcinogénicos para o homem, o seu manuseamento põe problemas de exposição repetida ao pessoal médico e de enfermagem. Veja-se a referência da Lancet <sup>(20)</sup>.

Deve no entanto, referir-se que o efeito iatrogénico dos medicamentos «per si», não deve ser considerado no âmbito da exposição dos compostos tóxicos do ambiente interior.

g) *Plásticos* — Há aqui a referir os esterres do ácido acrílico, em particular o metilmetacrilato, uma resina plástica, muito usada em Histologia de alta resolução (para inclusão de peças), na preparação de próteses em estomatologia e ainda como material de consolidação das fracturas de ossos pelos cirurgiões ortopédicos. O material acrílico com as suas propriedades adesivas tem larga aplicação em medicina; contudo é volátil e pode levar à produção de efeitos adversos para a saúde <sup>(21)</sup>.

Os polímeros acrílicos são responsáveis, juntamente com outros compostos (trioximetileno, várias amálgamas) de causar dermatites tóxicas e alérgicas no pessoal do serviço de estomatologia, além de uma elevada incidência de infecções da pele <sup>(22)</sup>.

### 5.2.2 Os bioaerossóis contaminantes

São microrganismos em suspensão ou partículas de origem biológica. Têm uma estrutura complexa e, ao contrário dos contaminantes químicos, não podem ser submetidos a uma análise química automática (NRC 1981, 23).

O ar interior é a maior fonte responsável por bioaerossóis patogénicos para o homem. Ainda que presentes em pequenas quantidades, produzem efeitos sobre a saúde (OMS, 1990, 24). Grande parte dos bioaerossóis interiores resultam de uma infiltração de fontes externas, como é o caso dos pólenes. Bactérias e vírus (que se não reproduzem no ambiente interior) são normalmente trazidos para o espaço interior pelo homem, o principal reservatório. Algumas bactérias, como por exemplo as *Pseudomonas*, os bacilos da tuberculose e alguns vírus podem permanecer viáveis adusidos a partículas inertes, as «fomitas», e ser dispersas devido à facilidade de contágio como resultado do confinamento hospitalar, um grande factor na promoção das chamadas infecções cruzadas.

As bactérias e os fungos são oblíquos e encontram nos microclimas hospitalares condições de desenvolvimento. Os sistemas de ventilação, de ar condicionado e os humidificadores, com os seus níveis de temperatura e de humidade, favorecem, por exemplo, o aparecimento dos Legionelos e das Pseudomas. Uma má manutenção dos sistemas de ventilação leva a que os filtros, saturados, constituam uma fonte de nutrientes para bactérias e fungos. Não pode ser ignorado o importante factor que representam os antibióticos e os desinfectantes em geral, na produção de estirpes bacterianas altamente resistentes e que constituem uma séria ameaça pelas quase incontáveis infecções a que dão origem.

As partículas biológicas, com origem nas matérias fecais de artrópodos e de baratas e de outros detritos de origem orgânica, dão origem a problemas alérgicos, pelo que o empoeiramento hospitalar é um problema a suprimir.

A selecção de um método de amostragem no ambiente hospitalar e a subsequente análise laboratorial, são determinados pelo meio a analisar e pelo tipo de agente a identificar (OMS 1990, 24).

### 5.2.3 Fumo de tabaco ambiental («Environmental Tobacco Smoking», (ETS)

Numerosos estudos toxicológicos, experimentais e epidemiológicos demonstram ser o consumo do tabaco a maior causa evitável de morbilidade nos E. Unidos (USDHHS 1989, 25) ou no mundo ocidental em geral (IARC 1986, 26). De um ponto de vista do ambiente interior hospitalar interessa sobretudo outro aspecto importante. Existem igualmente estudos epidemiológicos pondo em evidência que os «fumadores passivos» estão sujeitos aos mesmos riscos patológicos que os «fumadores activos» (27).

Dado que o acto de fumar é uma opção livre e voluntária, cada «fumador activo» está no seu direito de o fazer. Não pode é envolver outros indivíduos numa exposição involuntária ao fumo do tabaco, transformando-os em «fumadores passivos».

No hospital devem assim ser reservadas zonas específicas onde seja permitido fumar, zonas que devem claramente estar isoladas e com avisos bem explícitos.

## 5.3. O espaço interior

O interior do hospital pode ser visualizado como um complexo compartimento subdevidido em múltiplos

espaços, cada um com os riscos próprios e com o seu grau de perigosidade, dadas as diversas actividades e produções diferenciadas existentes.

Podemos analisar os riscos, considerando as seguintes categorias:

- A exposição a factores físicos no ambiente hospitalar;
- Aspectos ergonómicos e tensão (stress) no trabalho;
- Os acidentes e a sinistralidade;
- O problema da triagem dos resíduos sólidos e dos compostos tóxicos.

### 5.3.1 Exposição a factores físicos no ambiente hospitalar

De entre os principais riscos físicos que se podem encontrar no ambiente hospitalar há a considerar os devidos a electricidade e aos campos magnéticos e electromagnéticos de alta intensidade, a radiações ionizantes, a causas mecânicas, ruído e vibrações, ultrasons, raios laser, o calor e criogénicas.

As radiações ionizantes constituem o risco mais importantes pois são largamente utilizadas em radiodiagnóstico e em radioterapia. O subgrupo de pessoal mais em risco inclui não só os radiologistas e técnicos, mas também o pessoal técnico da manutenção do equipamento, da limpeza e contínuos. As consequências patológicas descritas são graves (cataratas, radiodermites, alterações hematológicas, incluindo leucemias, etc.) pelo que se aconselham as recomendações da OMS (28).

As radiações não ionizantes, campos electromagnéticos de alta intensidade, ultrasons e raios laser, põem em riscos bem estudados, nos serviços de fisioterapia, na cirurgia com laser ou na cirurgia diatérmica. As recomendações da IEC (29) são exaustivas na divulgação preventiva sanitária, da utilização do equipamento eléctrico as da WHO (30) sobre a protecção das radiações não ionizantes em geral.

Neste capítulo devem ser incluídos os efeitos da prolongada exposição aos monitores vídeo dos computadores (31).

O ruído e as vibrações têm particular interesse para a actividade dos serviços de estomatologia e otorrinolaringologia ou para serviços de apoio como a esterilização, oficinas, lavandarias, alimentação e centrais térmicas e de bombagem (32).

A transmissão do ruído em geral, é um problema da orgânica e da estrutura arquitectónica do hospital, pelo que se deve aconselhar como medida de

prevenção o isolamento e diferenciação espacial do corpo do hospital de certos serviços como sejam as oficinas, armazéns, cozinha, lavandarias, central de incineração, laboratórios, etc.

A iluminação é um factor físico a levar em linha de conta devido aos efeitos nocivos de um excesso de claridade, com perturbações de visão e cansaço<sup>(33)</sup>. O calor e a humidade são dois factores físicos básicos na concepção do ambiente hospitalar e por isso são só aqui citados.

Porque muitos dos riscos apontados se ligam directamente à utilização de instalações e equipamentos, impõe-se que os mesmos sejam correctamente conduzidos e que se procedem a testes que garantam a sua não perigosidade.

### 5.3.2 Aspectos ergonómicos e de tensão (stress) no trabalho

Os problemas ergonómicos do pessoal de saúde envolvem a utilização de equipamento médico, dos dispositivos de monitorização, da própria concepção arquitectónica do hospital e da funcionalidade do mobiliário aí utilizado. É de destacar que uma das causas do stress são os ambientes fechados, sem arejamento natural, sem luz natural, esteticamente desagradáveis, etc.

Um dos aspectos muito negligenciado relaciona-se com tarefas que envolvem grandes esforços físicos, como levantar doentes pelo pessoal de enfermagem, as posturas incómodas e frequentes, os prolongados períodos de pé que afectam o pessoal dos blocos operatórios e do pessoal auxiliar<sup>(34)</sup>.

Outro aspecto também negligenciado respeita as operações de manutenção conduzidas por técnicos e operários. A disposição das instalações técnicas nem sempre obedece a correctos espaços de acesso e de manuseamento, como é por exemplo o caso das canalizações. Impõe-se por isso o estudo cuidado dos diferentes espaços que abrigarão as actividades diferenciadas, médicas ou não.

### 5.3.3 Os acidentes e a sinistralidade

Constitui o capítulo onde uma efectiva prevenção de riscos pode ser obtida pela disciplina e pela educação do pessoal hospitalar.

- 1 — O pessoal dos serviços de esterilização, além de outros riscos, sofre desnecessários ferimentos nas mãos devido ao material envolvido para limpeza, onde vão misturados

lâminas de bisturis e outros objectos cortantes desprotegidos;

- 2 — Uma situação semelhante ocorre com o pessoal auxiliar e o pessoal nos postos de incineração ao manusear os sacos e os contentores de resíduos sólidos para onde indevidamente são lançados vidros, agulhas de seringas e outros objectos metálicos; Estas duas situações estão directamente ligadas a uma correcta disciplina da triagem na origem dos lixos sólidos. Um dos principais efeitos na prevenção destes acidentes é a diminuição do risco da hepatite B.
- 3 — Riscos significativos do pessoal de enfermagem e do pessoal auxiliar, são as quedas e as lesões das costas, devido a soalhos escorregadios, à deficiente técnica do levantamento de doentes ou no arranjo das camas;
- 4 — O pessoal dos serviços técnicos de engenharia está envolvido em frequentes lesões devido ao manuseamento de equipamento de materiais pesados utilizados nos vários serviços do hospital; envolvidos nos acidentes e na sinistralidade encontra-se o pessoal dos laboratórios, oficinas, cozinhas e lavandarias;
- 5 — Acidentes causados pela indisciplina dos doentes.
- 6 — Riscos devido a explosões e incêndios. Instalações eléctricas por curto-circuitos; produtos inflamáveis (gases combustíveis, álcool, éter, gasoil, benzina, gasolina, etc.), manuseamento de produtos podendo formar misturas explosivas na presença de chama ou de chispas provocadas por aparelhos eléctricos; armazenamento de produtos combustíveis em grandes quantidades (papéis, algodões, panos, gases, etc.);
- 7 — A maioria dos acidentes são causados quer pela falta de segurança na atitude das pessoas, quer pela falta de segurança das condições locais ou pela combinação das duas. Alguns riscos tipicamente perigosos:
  - a) Operar equipamento sem autorização;
  - b) Condução/exploração defeituosa das instalações ou equipamentos (por exemplo, provocar um movimento inesperado que não se sabe controlar);
  - c) Operar a uma velocidade insegura;
  - d) Falha de dar um sinal de aviso ou de perigo;
  - e) Desligar mecanismos de segurança;

- f) Utilização de equipamento avariado;
- g) Utilização de equipamento com falta de segurança;
- h) Adoção de posturas defeituosas;
- i) Utilizar ou pôr em movimento equipamento perigoso;
- j) Distracção, atitude irresponsável, etc.;
- k) Falha de utilização de equipamento de protecção, uso de vestuário impróprio, adornos desnecessários incluindo jóias, etc.;

Mais importante que uma real falta de segurança em si, existem as razões que estão por detrás e que podem ser agrupadas em três categorias:

- a) Falta de conhecimento ou treino;
- b) Atitudes motivações conflituosas;
- c) Insuficiências físicas e mentais.

#### 5.3.4 O problema da triagem dos resíduos sólidos e líquidos

A remoção propriamente dita dos resíduos hospitalares, sólidos ou líquidos, é tratada em capítulo à parte. Aqui interessa considerar os resíduos pelos riscos que possam causar com o seu manuseamento. Quer como factores químicos (5.2.1) quer como factores físicos, nos acidentes e na sinistralidade (5.3.3) aqueles aspectos foram já focados.

Torna-se evidente que para uma eficaz prevenção de riscos, com os resíduos hospitalares, no seu contacto com o pessoal hospitalar, sejam respeitadas três regras que serão analisadas no capítulo dos resíduos hospitalares: a rigorosa triagem na origem, a existência de recipientes apropriados e o treino do pessoal no manuseamento dos resíduos.

#### 5.4 Perigosidade múltipla ambiental dos diferentes serviços dos estabelecimentos de saúde

Grosso-modo podemos considerar, para melhor sistematização, três zonas hospitalares de unidades produtivas ou produções específicas e diferenciadas:

- I Zona — *Serviços Clínicos* (Enfermarias, Salas de operações, Salas de tratamento, Urgências);
- II Zona — *Serviços Técnico-Médicos* (Imagiologia, Patologia Clínica, Laboratório de Hematologia, Anatomia Patológica,

Hemoterapia, Medicina Física e Reabilitação);

- III Zona — *Serviços Técnico-Funcionais* (Administração, Cozinhas, Lavandarias, Esterilização, Central Térmica, Incineração, Oficinas):

De um ponto de vista de perigosidade propriamente dita, para cada um dos serviços hospitalares podem sumarizar-se os principais riscos:

#### 5.4.1 Serviços clínicos

##### a) Serviços de tratamento

Riscos de contaminação (doentes e pessoal); infecções cruzadas; riscos de manuseamento e aplicação de medicamentos; stress psicossocial; manuseamento de equipamentos e aparelhos diversos; manuseamento de resíduos sólidos e líquidos; riscos de empoeiramento (gessos); uso de plásticos acrílicos em próteses, ruídos, posturas ergonómicas no Serviço de Traumatologia e Ortopedia; riscos de vibrações e ruídos; contaminação; contacto com compostos tóxicos (amalgamas com mercúrio); postura ergonómica no Serviço de Estomatologia; riscos eléctricos em serviços com aparelhagem específica nos Serviços de Cardiologia, Pneumologia, Otorrino, Oftalmologia.

##### b) Salas de operações

Gases anestésicos; riscos de contaminação (doentes) ou sinistralidade com material cirúrgico (hepatite B); acções mecânicas (marquesas, focos de iluminação); riscos com a aparelhagem eléctrica, stress psicossocial.

#### 5.4.2 Serviços técnico-médicos

##### a) Laboratórios

Riscos de contaminação (nas autópsias); uso de compostos tóxicos inaláveis, gases tóxicos (formaldeído e solventes orgânicos); uso de plásticos (inclusão), corantes histológicas, riscos com o equipamento eléctrico, etc.

b) *Medicina Física e Reabilitação*

Riscos de contaminação e infecções cruzadas; riscos mecânicos; riscos eléctricos e de campos electromagnéticos diatermia).

c) *Serviço de Imagiologia*

Riscos com radiações ionizantes no diagnóstico (Raios X e Medicina Nuclear) ou no tratamento (aceleradores lineares), bombas de cobalto); Riscos com as radiações não ionizantes (ressonância magnética e monitores); acções mecânicas; riscos com a aparelhagem eléctrica.

d) *Cirurgia experimental e biotério*

Riscos de contaminação/infecção (levar em linha de conta as zoonoses); exposição a solventes orgânicos.

5.4.3 *Serviços técnico-funcionais*

- *Cozinhas*
- *Lavandaria*
- *Esterilização*
- *Central térmica*
- *Incineração*
- *Oficinas*
- *Outros*

Nestes serviços há considerar a possibilidade da ocorrência de todos ou de alguns dos seguintes tipos de riscos:

- a) *Mecânicos* — Ruído e vibrações; choques mecânicos (impactos corporais); calor, frio (destruição de tecidos queimadura);
- b) *Eléctricos* — Riscos de electrocução; campos electromagnéticos;
- c) *Químicos* — Riscos tóxico-inalatórios; contactos tóxicos com a pele (irritantes); acção tóxica de desinfectantes (óxido de etileno);
- d) *Biológicos* — Infecções de contacto (hepatite B); infecções de bactérias resistentes; inalação de bioaerosóis e poeiras; infecção/contaminação por manuseamento de materiais cortantes ou não (infectados);

O procedimento de recolha exige os mesmos princípios e as mesmas técnicas que são descritas para os resíduos sólidos. Nesta perspectiva a triagem na origem é importante para evitar que materiais ou peças metálicas (tesouras, pinças, etc.) constituam um risco de sinistralidade para o pessoal que tem de manusear a roupa no seu transporte e, posteriormente, na lavandaria.

A utilização de recipientes de transporte fechados, bem identificados e a diferenciação de circuitos sujos e limpos é importante desde a utilização (uma unidade de internamento por exemplo) até ao processamento (lavandaria) e aqui com uma incidência de preocupação de projecto essencial por razões múltiplas (lembramos o empoeiramento causando com separação da roupa na lavandaria).

## 6. Resíduos (\*)

Apresentada, no estudo n.º 3, a enumeração de riscos dos hospitais e outros estabelecimentos prestadores de cuidados de saúde, e feita a previsão dos seus efeitos na saúde humana e no ambiente, procurar-se-á agora sugerir soluções que possibilitem a sua minimização.

Nesse sentido serão tratados neste capítulo os problemas relativos aos resíduos sólidos, líquidos e gasosos, com especial ênfase nos primeiros, por serem aqueles que maiores preocupações suscitam no quotidiano dos serviços hospitalares.

Concretamente, tratar-se-á de informar e sensibilizar todos os intervenientes na «vida de uma unidade hospitalar», fornecendo-lhes as linhas gerais de uma correcta gestão e eliminação dos resíduos dessas unidades.

Não deixa de se salientar que, para uma integral gestão, haverá que contar com os responsáveis pelas autarquias já que a sua participação em tal gestão é absolutamente indispensável.

### 6.1 Resíduos sólidos

Antes de uma análise mais pormenorizada deste assunto, haverá que salientar a necessidade de cada estabelecimento dispôr de um programa de gestão dos seus resíduos sólidos.

Das considerações explanadas no estudo anterior torna-se oportuno reafirmar que uma correcta gestão assenta nos seguintes princípios:

(\*) Elementos elaborados a partir das publicações com as referências (35), (36) e (37). Ver, ainda, a referência (38).

- uma higiene exemplar;
- um certo pragmatismo, tendo em vista facilitar as operações de recolha, triagem e eliminação final;
- ponderação e estudos de custos, tendo em vista, não só investimentos não apropriados, como custos de funcionamento excessivos.

Como base nestes três princípios a metodologia a adoptar, capaz de melhor satisfazer as condições locais, deverá também apoiar-se nas seguintes regras:

- a recolha de uma solução deverá resultar de um estudo feito por todos os intervenientes (internos e externos) nas actividades hospitalares;
- estabelecimento de circuitos de eliminação correntes;
- recurso aos meios de recolha e tratamento existentes na autarquia;

- formação e informação, a todos os níveis, do pessoal da unidade hospitalar.

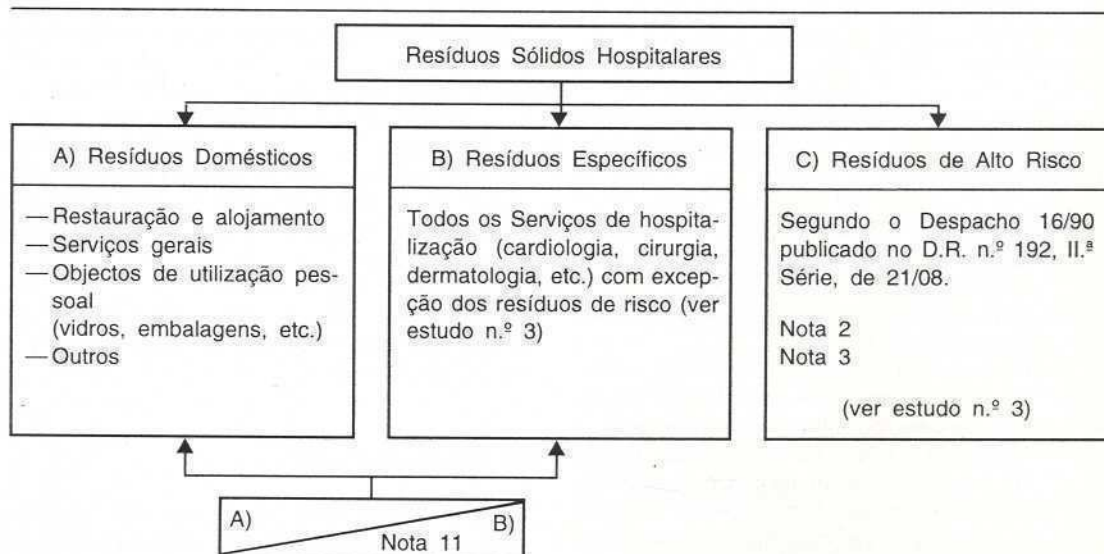
Esta síntese, dir-se-á que, devidamente ponderadas todas as considerações anteriormente feitas, as que a seguir se apresentam com a finalidade de sugerir soluções, terão, obviamente, um carácter meramente indicativo. Tratando-se, embora, de uma abordagem de tão complexo problema, elas não deixarão de constituir metodologia a ser aplicada, tidos em conta os diferentes.

### 6.1.1 Tipologia dos resíduos sólidos hospitalares

Com base nas fontes de produção, poderão considerar-se em síntese, as seguintes categorias:

- a) Resíduos perigosos (de risco);
- b) Resíduos específicos hospitalares;
- c) Resíduos domésticos.

QUADRO 1  
TIPOLOGIA DE RESÍDUOS SÓLIDOS



- Notas:
- 1 — A associação dos resíduos A) e B), depende da organização da unidade hospitalar.
  - 2 — Por razões psicológicas, certos resíduos incluídos em B) (específicos), deverão ser considerados como C) (de risco): objectos e pensos com sangue e seringas, agulhas, etc.
  - 3 — Deverão ser excluídos resíduos autoclavados.

O quadro n.º 1 poderá contribuir para uma melhor clarificação da tipologia preconizada.

### 6.1.2 *Quantificação de resíduos hospitalares*

Estabelecida a tipologia dos resíduos hospitalares torna-se indispensável estimar as quantidades produzidas em cada um dos tipos considerados.

Qualquer avaliação de produção quantitativa dos resíduos, seja com o objectivo de melhorar a situação da unidade já existente, seja com o de elaborar projecto de nova unidade, está directamente relacionado com:

- natureza dos serviços instalados, ou a instalar;
- grandeza da unidade hospitalar;
- outros parâmetros, como, por exemplo, grau de utilização de objectos de uso único, etc.

Para o caso de novas unidades, haverá que adoptar *valores médios* de unidades já existentes e semelhantes (em grandeza e natureza de serviços) à que se pretende instalar.

A adopção de valores médios deverá ser extremamente criteriosa, já que as quantidades de resíduos produzidos por uma unidade poderão ser diferentes dos produzidos por outra, quer em termos absolutos quer em termos de natureza de serviços.

E convém apresentarem os *valores médios* em litros/dia/cama, sendo também comum a adopção do valor 0,1 (kg/litro) para a densidade média de resíduos não compactados.

Julga-se não ser aconselhável apresentar aqui valores que pudessem constituir base para projecto, já que a heterogeneidade das situações justificaria, por certo, reservas e dúvidas quanto à sua credibilidade.

É, pois, recomendado que se façam estudos e avaliações locais seguindo procedimentos metódicos e rigorosos.

Duma maneira geral, a quantificação da produção de resíduos deverá, na prática, observar os seguintes princípios e fases:

#### *I Fase*

- ser feita ao nível dos sectores produtores;
- esquematizar a instalação de recipientes de recolha (sacos, etc.) nos diversos sectores produtores;
- pesagem dos diferentes tipos de resíduos produzidos, tidas em consideração taxas e

frequência de ocupação das especialidades hospitalares existentes, horas de funcionamento de outros serviços produtores de resíduos, etc.

Nota: estas determinações deverão ser feitas em dia considerado representativo.

#### *II Fase: Quantificação final*

- Ser feita nos locais de armazenamento dos três diferentes tipos de resíduos;
- contagem de todos os recipientes de *resíduos específicos (tipo B)* determinação dos seus pesos ou volumes médios, segundo programa semanal ou mensal, previamente estabelecido, e anotação do tempo gasto pelo pessoal, nesta operação;
- contagem de recipientes ou contentores de resíduos destinados a serviços exteriores (Tipo A). Determinação dos seus pesos, ou volumes médios;
- contagem de recipientes de resíduos destinados à incineração (tipo C) e determinação dos seus pesos ou volumes médios.

Nota: as determinações relativas a esta 2.ª Fase deverão ser feitas semanal ou mensalmente, segundo programação previamente estabelecida.

### 6.1.3 *Circuitos de eliminação (triagem, recolha, armazenamento e destino final) dos resíduos sólidos hospitalares*

As recomendações, ou hipóteses de eliminação que a seguir se descrevem têm, como já referido, um carácter essencialmente indicativo.

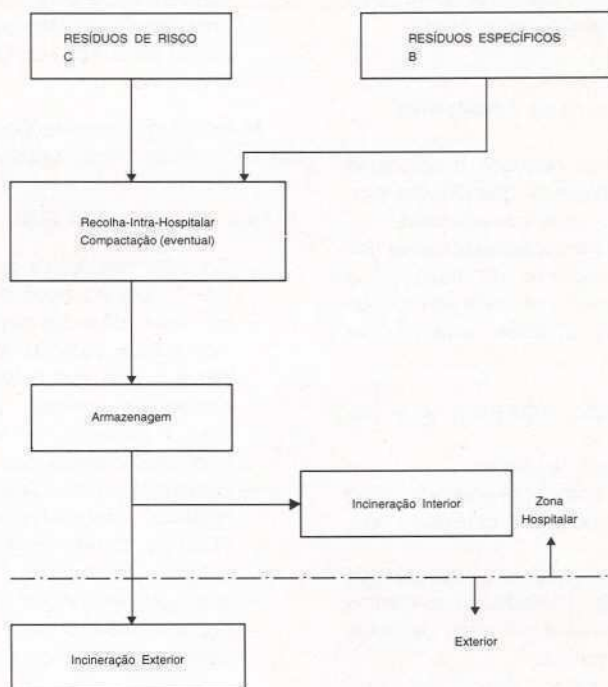
Qualquer outra solução poderá ser sempre adoptada desde que acordada pelos intervenientes da unidade hospitalar e desde que satisfaça às já expressas condições de higiene, condições estas que devem constituir preocupação permanente.

A solução ou soluções adoptadas para a triagem e recolha dos resíduos específicos, a nível de serviço, condicionará a solução a adoptar para eliminação final, a nível de unidade hospitalar.

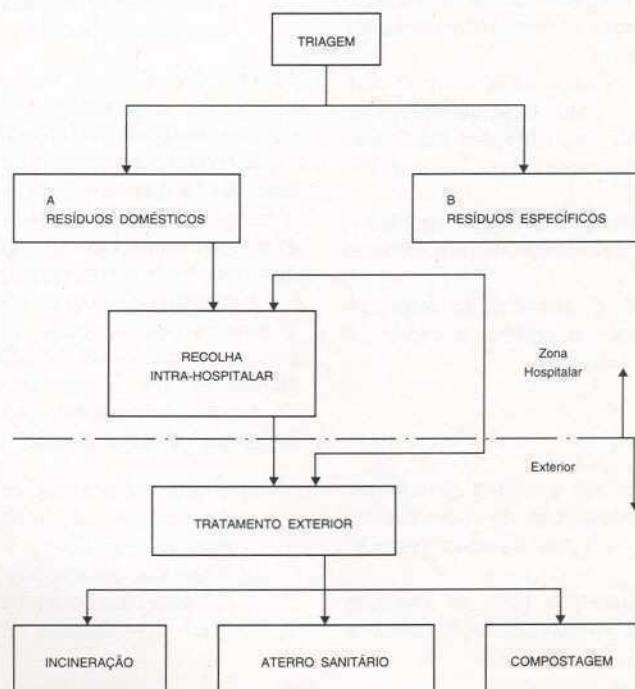
Assim e em resumo, poderão prever-se os dois seguintes circuitos gerais:

- a) o que respeito aos resíduos domésticos (tipo A), com associação dos resíduos específicos (tipo B) — Quadro n.º 2;
- b) o que diz respeito aos resíduos de risco (tipo C), com associação dos resíduos específicos (Tipo 3) — Quadro n.º 3.

QUADRO 2  
CIRCUITO DE ELIMINAÇÃO: RESÍDUOS DOMÉSTICOS + RESÍDUOS ESPECÍFICOS



QUADRO 3  
CIRCUITO DE ELIMINAÇÃO: RESÍDUOS DE RISCO + RESÍDUOS ESPECÍFICOS



De acordo com esta perspectiva referem-se alguns aspectos inerentes a cada um deles.

A — *Resíduos domésticos associados a resíduos específicos*

- a) Os *resíduos específicos* não são confundíveis com os *de risco*. Assim sendo, eles poderão ser assimiláveis, em termos de *circuito de eliminação*, aos do tipo doméstico.
- b) A recolha intra-hospitalar de resíduos específicos deve ser, a nível de cada serviço, extremamente rigorosa e rodeada de cuidados especiais tendo em vista evitar a mistura com resíduos do tipo de risco. Serão recolhidos em sacos de plástico, ou de papel reforçado, de dimensões apropriadas à produção e à frequência. É aconselhável a atribuição de cores diferentes para os recipientes dos dois tipos de resíduos.
- c) O percurso intra-hospitalar dos resíduos específicos poderá ser o mesmo do dos resíduos domésticos, exigindo, porém, maiores precauções no seu transporte, que deverá ser feito por meios de locomoção tipo «chariots».
- d) Os resíduos tipo doméstico, com diferentes origens, têm processamento de acordo com os serviços de limpeza urbana da respectiva localidade. A sua recolha intra-hospitalar deverá ser compatibilizada com tais serviços. De um modo geral, deverão ser utilizados recipientes normalizados, herméticos, ou sacos não recuperáveis com boas características de estanqueidade e de resistência, contentores de grande capacidade, etc. Para evitar a instalação de muitos contentores e, conseqüentemente, diminuir as áreas ou locais de armazenamento é conveniente adaptar-se a frequência de recolha final à produção de resíduos.
- e) O destino final ou tratamento dos resíduos domésticos hospitalares deverá subordinar-se aos esquemas instalados exteriormente.
- f) A associação dos resíduos, domésticos e específicos, originará acréscimos dos volumes a transportar, o que obrigará ao estabelecimento de condições especiais com os serviços exteriores.

B — *Resíduos de risco associados a resíduos específicos*

Esta associação permitirá, desde logo, uma maior simplificação na fase de triagem, dado haver um só percurso intra-hospitalar.

Deverá, no entanto, resultar uma aumento significativo do volume de resíduos, o que exigirá o conveniente dimensionamento ou ajuste dos recipientes a utilizar.

Trata-se, de qualquer modo, de *resíduos de risco* e o respectivo circuito de eliminação deve ser estabelecido e executado com todo o rigor.

O destino final destes resíduos será a incineração.

Provenientes de vários sectores (vide estudo n.º 3), estes resíduos deverão ser «ab initio», cuidadosamente recolhidos e isolados para posterior embalagem.

Os recipientes de recolha ou embalagem deverão ser facilmente identificáveis por todo o pessoal da unidade hospitalar e as suas características de resistência terão de estar de acordo com as condições de transporte.

Por outro lado, o tipo de material dos recipientes e o formato destes deverão subordinar-se ao tipo de incinerador instalado ou a instalar.

Antes do transporte final para o incinerador todos os recipientes deverão ser acumulados em lugar próprio, protegido de ventos, chuva, calor e animais.

A tal lugar só terá acesso o pessoal destacado e privativo do respectivo sector.

Constituindo este tipo de resíduos uma das mais importantes fontes de agravo à saúde e ao ambiente, torna-se indispensável, para além do rigor já atrás referido para a programação e execução do respectivo circuito de eliminação, que todo o pessoal hospitalar, sem qualquer excepção, tenha perfeito conhecimento dos requisitos técnicos inerentes a esta operação.

A incineração constitui, actualmente, o único método utilizado para tratamento dos *resíduos de risco* hospitalar.

São possíveis duas soluções:

- incineração exterior;
- incineração no interior da zona hospitalar.

a) *Incineração exterior*

Tratamento de fase externa à vida hospitalar, não se julga pertinente pormenorizar tecnicamente esta alternativa. Será, contudo, de referir que:

- é a solução a preferir;
- do ponto de vista técnico permitirá uma eliminação de resíduos de melhor qualidade;
- permitirá, se convenientemente dimensionada, a utilização integrada — em termos de destino final — não só para várias unidades hospitalares como ainda para resíduos urbanos de localidades próximas;
- permitirá um melhor aproveitamento de calor, quer para reutilização própria, quer para outros tipos de utilização.

Nota: Na utilização conjunta, na incineração de resíduos hospitalares de risco e de resíduos urbanos, deverá a exploração ser programada de maneira a que o lançamento, no forno de queimados dois tipos de resíduos, se faça separadamente.

#### b) Incineração na zona hospitalar

Solução a ser adoptada, após confirmação da impossibilidade de utilizar outros sistemas.

A adopção de incineradores individuais apresenta os seguintes inconvenientes:

- maiores custos de exploração: a multiplicação de unidades de incineração de pequena capacidade originará inconvenientes que só serão minimizados através de maiores investimentos financeiros;
- condições de funcionamento gravosas para o ambiente.

Assim, a concepção e exploração destes incineradores deve, genericamente, satisfazer as seguintes exigências:

- possuir um sistema de pós-combustão com temperatura superior a 750° C;
- possuir sistemas de regulação da combustão;
- possuir sistema de carga com crivo;
- ter, preferencialmente, forno vertical;
- possuir sistema de pré-aquecimento da câmara de combustão;
- ser constituído por materiais refractários de boa qualidade;
- possuir sistema de depuração de gases.

Os resíduos hospitalares apresentam teores de humidade elevados e poderes caloríficos variáveis. Por tal motivo, torna-se necessário contabilizar as características do incinerador com sistemas de

compactação que eventualmente tenham sido utilizados ao longo de uma qualquer fase de circuito de eliminação desses resíduos.

Relativamente à exploração destes incineradores é ainda de exigir pessoal competente e com formação específica para este tipo de trabalho.

Igualmente se considerará indispensável a afixação de instruções claras e precisas que permitam o conhecimento das normais condições de funcionamento e manutenção.

Na câmara de combustão deverá ser possível o controlo permanente das concentrações de monóxido de carbono e de oxigénio, e da temperatura e velocidade dos gases de combustão.

#### 6.1.4 Estações de armazenamento final

No percurso intra-hospitalar de qualquer dos tipos de resíduos considerados deverão ser previstos locais, quer para eventuais compactações, quer para posteriores transferências para o destino final.

É recomendável que tais locais sejam de fácil acesso a todo o pessoal destacado ou afecto ao respectivo serviço e a sua localização deverá ter em conta a solução ou soluções adoptadas para os destinos finais dos diversos tipos de resíduos.

A área desses locais deverá possuir pavimentos com características apropriadas ao tipo de trabalhos que ali irão desenvolver-se: resistência conveniente, facilmente laváveis bom escoamento de águas residuais, níveis ou desníveis que facilitem diversos tipos de manobras, etc.

As regras de utilização e manutenção da higiene do local, bem como de segurança deverão estar permanentemente afixadas.

A existência ou não de armazenamento final dependerá de duas circunstâncias:

- 1.ª — A sua previsão dentro do programa de gestão do empreendimento;
- 2.ª — Em caso de emergência.

Por outro lado deverá ser vedado o acesso a estes locais a pessoas estranhas ao respectivo serviço.

#### 6.2 Resíduos líquidos

Feita a caracterização dos efluentes líquidos de uma unidade hospitalar no Estudo n.º 3, importa agora referir, de um modo genérico, as alternativas mais comuns de gestão desses efluentes.

O primeiro aspecto a considerar será o do estabelecimento de uma rede de águas residuais pluviais completamente independente das restantes.

Neste estudo não se fará qualquer análise às características deste tipo de rede por não ter relevância particular relativamente aos efluentes hospitalares.

Em qualquer unidade hospitalar devem ser previstas as seguintes redes internas de drenagem:

- Redes de águas residuais do tipo doméstico (cozinhas, instalações sanitárias e de banhos, de pessoal e doentes (excluídas as que servem as unidades infecto-contagiosas);
- Redes de águas residuais de unidades infecto-contagiosas;
- Redes de águas residuais de laboratórios.

Para a caracterização de cada uma destas redes haverá que, previamente, ter noção dos efluentes drenados por cada uma delas, tanto nos aspectos quantitativo como qualitativo. Para tal haverá que estabelecer programa de colheitas de amostras e subsequentes análises.

#### 6.2.1 *Redes de águas residuais do tipo doméstico*

Os efluentes provenientes das cozinhas devem ser previamente submetidos a tratamento preliminar constituído por *gradagem* e *desengorduramento*, que poderá ser efectuado no interior do edifício, logo a jusante da cozinha, ou no recinto exterior da unidade hospitalar.

Após este tratamento preliminar deverá fazer-se a sua mistura com os efluentes provenientes das instalações sanitárias e de banhos.

A totalidade destes efluentes será conduzida à rede pública para tratamento na E.T.A.R. municipal, ou para uma E.T.A.R. privativa da unidade hospitalar.

#### 6.2.2 *Redes de águas residuais de unidades infecto-contagiosas*

Os efluentes destas unidades são conduzidos para tanques de recepção, devidamente dimensionados, onde serão sujeitos a tratamento que permita eliminar microrganismos patogénicos que poderiam originar riscos graves para a saúde pública se fossem directamente drenados para a rede pública.

Após tal tratamento poderão ser conduzidos à rede pública ou à E.T.A.R. própria, tal como o referido em 6.2.1.q

#### 6.2.3 *Redes de águas residuais de laboratórios*

Neste tipo de águas residuais incluem-se os efluentes provenientes dos diversos laboratórios.

Torna-se necessário que eles sejam sujeitos a tratamentos que, respeitem o que se encontra estabelecido no Dec.-Lei 74/90, de 7 de Março, Quadro XXV.

O tratamento referido pode ser efectuado junto do local onde é produzido, ou no recinto exterior da unidade hospitalar.

Após o tratamento, estes efluentes poderão ser conduzidos à rede pública ou à E.T.A.R. privativa.

#### 6.2.4 *Conclusões*

No âmbito do presente Estudo n.º 4, poderá concluir-se que em regra, todas as águas residuais provenientes de uma unidade hospitalar se devem reunir antes da sua condução a uma E.T.A.R. Se a maior parte não carece de tratamentos prévios, outras obrigatoriamente de serem sujeitas a específicos tratamentos tendo em vista o cumprimento do Dec.-Lei 74/90.

Tais tratamentos deverão ser criteriosamente localizados em função das características próprias de cada unidade hospitalar.

#### 6.2.5 *Estações de tratamento de águas residuais*

Comprovada a necessidade de estabelecimento de uma E.T.A.R. privativa as soluções mais eficazes, do ponto de vista de qualidade do efluente tratado, são as seguintes:

- Sistema convencional de lamas activadas se a população — equivalente for superior a 3000.

Notas: 1) Habitante — equivalente é expressão, isto é, parâmetro adoptado para caracterizar a unidade de carga poluente e que corresponde a:

- C.B.O. (ou D.B.O.) carência bioquímica de oxigénio..... 54 gr O<sub>2</sub>/dia
- S.S. sólidos em suspensão..... 90 gr/dia.

- 2) Admite-se que uma cama hospitalar corresponde a 3 a 4 habitantes — equivalentes.

- Sistema de lamas activadas de baixa carga (arejamento prolongado), se a população — equivalente for inferior a 3000.

- Sistema de leitos percoladores de alta carga, se o local de implantação da E.T.A.R. apresentar desnível da ordem de 4 a 5 metros, entre a entrada das águas residuais e a saída de efluentes.

### 6.3 Resíduos gasosos

As unidades de tipo hospitalar produzem diversos tipos de gases provenientes de fontes de produção disseminadas nos seus diversos sectores, como, por exemplo, centrais térmicas, cozinhas, laboratórios, etc.

Os efluentes gasosos com maior importância em termos de impacto ambiental tem a sua origem nos incineradores dessas unidades.

Foram já referidos os inconvenientes da adopção de incineradores no interior da zona hospitalar.

Algumas referências foram feitas por outro lado, relacionadas com as características a que tais incineradores devem obedecer para, não só minorar os seus custos de manutenção e exploração, como ainda para conseguir diminuir os efeitos graves para o ambiente.

E este último aspecto é conseguido fundamentalmente pelo correcto dimensionamento do incinerador e pelas correctas condições de funcionamento e manutenção.

Para além, pois, do já referido, interessa salientar:

- Os gases produzidos pela incineração de resíduos hospitalares devem ser depurados e posteriormente evacuados;
- Para uma eficaz depuração, a temperatura de combustão não deverá ser inferior a 750° C;
- As partículas sólidas em suspensão deverão ser separadas através de despoeiradores constituídos por:
  - Câmara de sedimentação com, ou sem pulverização de água;
  - Ciclone simples, ou multitubular.
- Os separadores hidráulicos utilizam uma pulverização de água que permite a captação de partículas e de gases solúveis na água (SO<sub>2</sub>, SO<sub>3</sub>, HC<sub>1</sub>, etc.).
- Os despoeiradores a seco exigem que, previamente, se proceda a ligeiro abaixamento de temperatura dos gases, antes da sua entrada nesses despoeiradores, o que é conseguido por intermédio da difusão com ar, ou por mistura de ar-gás de combustão.

- A evacuação de gases é conseguida por intermédio de um ventilador que permite a passagem dos gases ou provoca uma maior tiragem pela chaminé.

Não deixará de fazer-se notar que as operações de depuração e evacuação dos gases são tão mais delicadas quanto menores forem as capacidades dos incineradores.

Torna-se, por consequência, indispensável que todos os parâmetros condicionantes do bom funcionamento deste tipo de equipamento sejam rigidamente exigidos ao fornecedor.

## 7. Aspectos psicossociais

A tensão de trabalho hospitalar, o stress, é de todos os aspectos psicossociais o mais importante quando se analisam as causas que predispõem para os riscos de acidente. Em termos científicos, o stress hospitalar é um assunto complexo de abordar, dado que as causas não são facilmente identificáveis, sendo difícil limitar o seu potencial de perigosidade.

Tradicionalmente os médicos apresentam uma baixa mortalidade geral, mas paradoxalmente com uma elevada taxa de suicídios, em particular entre os patologistas<sup>(39, 40)</sup>. Em estudos realizados há uns anos a profissão médica foi associada a um elevado risco de morte prematura, sobretudo cardiovascular, tuberculose pulmonar, acidentes, alcoolismo, droga e suicídio<sup>(41)</sup>. Trabalhos mais recentes não confirmam aqueles estudos<sup>(42)</sup>. Se os médicos sofrem em excesso de doenças mentais, os principais factores etiológicos não estão bem identificados. Estudos retrospectivos de médicos e de pessoal de laboratório sugerem um aumento da taxa de doenças mentais e psiquiátricas<sup>(43)</sup>, da doença de Hodgkin<sup>(44)</sup> e da existência de malformações congénitas nos seus filhos<sup>(45)</sup>. Já anteriormente foi referido nos factores químicos do ambiente hospitalar (5.2.1) o aumento da taxa de abortos espontâneos e de malformações congénitas nos filhos do pessoal trabalhando nas salas de operações e expostos, portanto, a gases anestésicos, além de alterações funcionais renais, hepáticas ou do sistema nervoso. Uma incidência de tromboembolismo idiopático venoso foi verificada em enfermeiras<sup>(46)</sup>. Como um dos problemas mais importantes entre o pessoal de saúde têm sido referidas as dermatites alérgicas de contacto e as dermatites tóxicas<sup>(47)</sup>.

Tal como foi referido em relação à acção iatrogénica dos medicamentos em relação aos

doentes, os aspectos psicossociais, também em relação aos doentes, não são aqui considerados. De referir, somente, que conceitos teóricos e práticos da psicobiologia, são relevantes para a compressão de alguns dos mais sérios e frequentes problemas de saúde observados na consulta externa hospitalar. A perspectiva psicobiológica procura ser o complemento do conhecimento bioquímico das doenças orgânicas. De acordo com muitos investigadores, as alterações de saúde com uma forte componente psicobiológica, constituem cerca de 30 a 60 por cento das queixas apresentadas aos médicos nas consultas externas<sup>(48)</sup>, situação que vai eventualmente reflectir-se no relacionamento médico-doente no ambiente hospitalar.

Os factores causais do stress são muitos, pelo que para facilidade de exposição podem ser agrupados em duas categorias:

### 7.1 Factores de Ordem Específica (Actividade)

É conhecida a predisposição neurótica dos médicos que se preocupam com os doentes, devido à ansiedade provocada pelo insucesso terapêutico, as dificuldades perante os doentes graves terminais, particularmente entre o pessoal da área oncológica, quer médicos, quer enfermeiros, que devem ter assistência psiquiátrica obrigatória. Entre outros factores há ainda a considerar:

- a) A experiência de problemas familiares;
- b) A inexperiência profissional perante tarefas de muita responsabilidade;
- c) A falta de apoio pessoal mais qualificado, constitui um aspecto importante para o pessoal mais jovem, médicos ou enfermeiros, para quem a falta de diálogo conduz a situações de frustração, inadaptação e até agressividade;
- d) A tensão psicológica nos hospitais pode atingir aspectos preocupantes, pois é sabido a elevada taxa de problemas psiquiátricos e as taxas de suicídio referidas atrás;
- e) Aspectos relacionados com o desajustamento dos turnos de trabalho, em relação ao ritmo circadiano;
- f) Uma das consequências do «stress» psicológico entre o pessoal hospitalar é o abuso de drogas psicotrópicas, narcóticos, estimulantes e agentes ansiolíticos, devido à facilidade de acesso que os médicos e os enfermeiros têm a essas drogas;

- g) Outra consequência é o elevado consumo de bebidas alcoólicas, café e tabaco, aspectos que têm de ser levados em consideração.

Como grande parte do stress hospitalar resulta da saturação do trabalho, a tensão psicológica deve ser aliviada, facilitando a existência de locais confortáveis de convívio, não se ignorando os que querem fumar. Os bares e restaurantes não devem ser meras cantinas. As bibliotecas, como lugares de consulta permanente, não devem ser esquecidas. Para combater a rotina desmotivante deve-se promover uma política de convívio cultural e de reuniões científicas periódicas de actualização e cuja realização deve ser amplamente divulgada e participada.

### 7.2 Factores de Ordem Institucional (Organização)

Entre os muitos factores que podem levar ao cansaço psíquico e físico, o stress, responsável pela saturação que leva à indiferença e à indisciplina perante as normas de segurança e de prevenção de riscos, podem citar-se:

- a) Má estruturação dos serviços;
- b) Falta de sensibilidade e de informação por parte da administração;
- c) Insuficiência de quadros;
- d) Insuficiência de qualificações;
- e) Longos turnos de trabalho;
- f) Inexperiência devido a treino insuficiente;
- g) Falta de cooperação e de espírito de equipa;
- h) Falta de um serviço de relações humanas.

Um conjunto de normas pode ajudar a alguns dos factores vistos atrás:

- a) Diálogo regular com a administração;
- b) Aceitação por parte da administração de sugestões com vista a melhorar as condições de trabalho nos vários serviços;
- c) Cuidar do bom relacionamento do pessoal médico, com o pessoal de enfermagem e com os administradores;
- d) Facilitar o trabalho feminino com problemas de família;
- e) Motivar o pessoal hospitalar a recorrer ao serviço de saúde e de medicina ocupacional;
- f) Criação dum serviço de aconselhamento psiquiátrico para consultas regulares.

### 7.3 O problema da comunicação intra-hospitalar e a percepção de risco

De acordo com os modernos conceitos de percepção de risco<sup>(49)</sup> seria útil analisar alguns dos múltiplos factores subjacentes que estão na base dos riscos existentes no ambiente hospitalar, encorajando a consciencialização perante os riscos e a obtenção de respostas que facilitem a gestão hospitalar. Um programa de consciencialização perante o risco hospitalar poderia incluir as seguintes questões:

- a) Quais são as determinantes do risco observado?  
Quais os conceitos que levam a identificar o risco?  
Estão esses conceitos relacionados com atitudes individuais ou com uma desadaptação a novas normas tecnológicas?
- b) Até que ponto é objectiva a percepção?  
Porque estão as pessoas mal informadas ou porque não conseguem fazer melhor?
- c) Que medidas são necessárias para melhorar a percepção de risco?  
Que informação se torna necessária e como deve ser transmitida?
- d) Qual é o papel da análise técnica na percepção de risco e como melhorá-lo?
- e) Em que medida pode o pessoal ter consciencialização da percepção de risco e da percepção de benefícios?
- f) O que torna aceitável uma análise de risco?  
Qual o papel da responsabilidade individual no processo?

Estas questões estão entre as muitas que poderão ser formuladas. Um dos problemas da moderna psicologia da informação está na maneira como ela deve ser transmitida<sup>(50)</sup>. De maneira sumária podemos considerar quatro tipos de situações:

- a) *Problemas na mensagem* — por exemplo, limitações relacionadas com a dificuldade na compreensão de aspectos técnicos;
- b) *Problemas de origem* — por exemplo, limitada da autoridade e recursos para estudar problemas; falta de dados que identifiquem as preocupações específicas postas pela comu-

nidade hospitalar; falta de confiança e credibilidade; deficiência em particular as limitações do processo de análise dos riscos;

- c) *Problemas na comunicação* — podem incluir, por exemplo, relatórios que ponham ênfase em situações irregulares; participação prematura de ocorrências; impressões e exageros de simplificação na interpretação da informação técnica;
- d) *Problemas na recepção* — pode haver por exemplo imprecisão na percepção dos níveis de risco; excesso de confiança na capacidade individual de evitar os riscos; atitudes e opiniões resistentes a mudanças; expectativas exageradas em relação à efectividade das regras de segurança.

## 8. Recomendações gerais com vista a minimizar os riscos no ambiente dos estabelecimentos de saúde

### 8.1 Considerações Prévias

Em última instância, a defesa do ambiente e da saúde passa pela exigência de que os projectos atinjam um nível de desenvolvimento que contemple, para além do respeito e satisfação das implicações legais, a consideração de outras recomendações ditadas pelo melhor conhecimento dos riscos existentes e possibilidades da sua anulação e/ou minimização.

Envolvendo os estabelecimentos de saúde uma multiplicidade de produções (\*), umas directamente ligadas à prática de cuidados médicos e outras inerentes às exigências do seu funcionamento, e daí, as problemáticas do seu impacto no ambiente e na saúde, seria estulto admitir a elaboração de recomendações cobrindo de forma definitiva as áreas em causa.

Nesta perspectiva, as recomendações que se apresentam, revestem-se de um carácter geral e pretendem-se simplesmente propiciadora para estudos origem de recomendações, específicas ou não, eventualmente complementares de normas e regulamentos legais em vigor, que melhor se adaptem a soluções concretas e bem definidas.

Não poderíamos proceder de outra forma, pois que as recomendações de minimização de riscos na saúde e no ambiente que a construção e exploração de estabelecimentos da saúde podem determinar, exigem à partida, conhecidos os riscos, a identificação da sua origem.

(\*) «Produções» ou «Unidades Produtivas»  
Conceito introduzido G. Lopes, Octávio no artigo «Planeamento to Organizacional e Responsabilidade nos Hospitais», in «Gestão Hospitalar», Ano III, n.º 11/12/1985.

Essa origem reside antes de mais nas especificações de planeamento em saúde determinantes do lançamento de novos estabelecimentos de saúde.

Com efeito, definidas as necessidades em saúde, serão explicitados os serviços clínicos, médico cirúrgicos e outros a criar, e quantificadas as produções exigidas a estas unidades produtivas, com vista a cumprirem as especificações de planeamento propostas.

Metodologicamente, o(s) caminho(s) a seguir na elaboração de recomendações serão portanto «ab initio», um profundo e detalhado conhecimento de cada uma das produções, clínicas e não clínicas, e outras unidades produtivas do novo estabelecimento de saúde.

Como facilmente se compreenderá, para cada produção diferenciada haverá exigências de concepção, de projecto e outras implicações de ordem específica geral que se enquadram no estabelecimento das melhores condições de saúde, de trabalho e de conforto, condições estas subjacentes a formulações e/ou critérios de qualidade total.

As referências <sup>(51)</sup> a <sup>(73)</sup> contêm elementos do maior interesse, no âmbito dos assuntos tratados no presente capítulo, recomendando-se a sua consulta.

## 8.2 Concepção/Projecto

### a) Natureza dos objectivos

Propiciar um estudo altamente pormenorizado das produções, clínicas ou não, que o estabelecimento de saúde envolve.

### b) Controle

Licenciamento prévio dos novos estabelecimentos de saúde e/ou aprovação de estudos de impacte ambiental.

### c) Recomendações

- Definição das produções necessárias por estudos de planeamento em saúde.
- Definição dos circuitos de produção integrados por unidade produtiva.
- Definição quantitativa dos meios materiais e meios humanos por cada unidade produtiva.
- Definição dos meios organizacionais por cada unidade produtiva e da sua estruturação para integração.

- Desenvolvimento arquitectural por produção; definição de produções homogéneas, sua especificidade organizacional e de gestão; a possível departamentalização das produções clínicas e não clínicas; definição de eventuais, convenientes e possíveis integrações espaciais de unidades produtivas; desenvolvimento de volumes de construção; o «campus» do estabelecimento de saúde.
- Definição das especificações construtivas, com especial incidência nas destinadas a instalação de unidades produtivas diferenciadas, susceptíveis de frequentes alterações, ampliações e remodelações, como é o caso do serviço de imagiologia, laboratórios, etc.
- Estudos da localização, incidências de impacte ambiental.
- Observação da legislação e regulamentação em vigor e de recomendações apropriadas.
- Definição e caracterização do programa do novo estabelecimento de saúde.

## 8.3 Arquitectura/Concepção Espacial

### a) Natureza dos objectivos

O melhor aproveitamento e distribuição de espaços (volumes e superfícies) e definição dos mesmos numa perspectiva de humanização para os utentes, funcionários e visitas dos estabelecimentos de saúde.

### b) Controle

Análise do projecto pelo grupo de programação do estabelecimento de saúde.

### c) Recomendações

- Legislação e recomendações legais em vigor.
- O desenvolvimento estético do estabelecimento de saúde terá como objectivo fundamental, para além de correctas soluções técnicas, a sua dimensão humana.
- Distribuição dos volumes arquitectónicos numa perspectiva de dimensão humana no «campus» do estabelecimento de saúde, sem esquecer os princípios básicos concepção/projecto do estabelecimento.

- Estudos de impacto ambiental nas partes que compõem o estabelecimento de saúde e deste com o meio exterior para melhor desenvolver soluções arquitetónicas.
- Minimização de gastos energéticos com aproveitamento das melhores soluções arquitectónicas: ventilação natural e bom arejamento dos espaços, sem correntes de ar; aproveitamento da iluminação natural; aproveitamento de recursos naturais (água, aquecimento, etc.).
- Utilização de materiais obedecendo a especificações adequadas.

#### 8.4 Higiene/Limpeza

##### a) Natureza dos objectivos

Protecção de pessoas e do ambiente por condições de não higiene criadas nos estabelecimentos de saúde.

##### b) Controle

Condições não favoráveis à higienização dos estabelecimentos de saúde por concepção e projecto do estabelecimento de saúde, na prévia apreciação do projecto pelo grupo de programação. Programa de manutenção das instalações no domínio da higiene.

##### c) Recomendações

- Legislação e recomendações legais. Separação especial das produções (clínicas e não clínicas) limpas, das sujas.
- Por produção, separação de actividades limpas das sujas, sem soluções de continuidade dos processos produtivos, mas com a mais correcta e possível distribuição de espaços e de circuitos de limpos e de sujos.
- Por produção, reduzir ao mínimo os circuitos de movimentação de pessoas. Entre as diferentes produções serão estabelecidos os circuitos mais convenientes por estudos específicos de caudais a movimentar. Devem evitar-se as movimentações de pessoas entre as produções por razões múltiplas (higiene, riscos de infecções, produtividade, etc.).

#### 8.5 Aquecimento/Refrigeração

##### a) Natureza dos objectivos

Condições de saúde e de conforto por meio de calor, frio, zonas de sombra e de sol.

##### b) Controle

Análise de estudo de balanço térmico quando do licenciamento. Observação e estudo das instalações após entrada em funcionamento confirmando a sua adequação ou eventual correcção.

##### c) Recomendações

- Legislação e regulamentos em vigor. Definição das exigências por local de produção, clínica ou não clínica.
- Aproveitamento dos recursos naturais, de técnicas de conservação de energia por forma a reduzir os gastos energéticos.
- Cálculos detalhados e precisos de balanço térmico.
- Estudo e definição de equipamentos e materiais.
- Definição de áreas com recomendações específicas para projecto e construção do estabelecimento de saúde face ao balanço térmico, como sejam os aproveitamentos de energia integrados, os materiais de isolamento, e outros.

#### 8.6 Ventilação

##### a) Natureza dos objectivos

Condições de saúde e de conforto por meio do correcto arejamento dos locais.

##### b) Controle

Análise de especificação de projecto sobre ventilação quando do licenciamento. Observação e estudo das instalações após entrada em funcionamento, confirmando a sua adequação ou eventual correcção.

##### c) Recomendações

- Legislação e regulamentos em vigor.
- Definição das exigências locais de ventilação por produção clínica ou não clínica.

- Recurso preferencial à ventilação natural sendo utilizada a ventilação mecânica sempre que a situação de princípio não permita a ventilação adequada.
- Estudos de possíveis interferências da ventilação entre edificações e nos espaços com produções diferenciadas nelas próprias.
- Evitar correntes de ar nos diferentes espaços.
- Cálculos detalhados e precisos sempre que houver lugar a ventilação mecânica.
- Definição de áreas com recomendações específicas para projecto e construção do estabelecimento de saúde face a zonas a ventilar: separação de produções, separação de sectores, exigências especiais de construção para fixação de condutas, etc..

## 8.7 Iluminação

### a) Natureza dos objectivos

Condições de saúde, de trabalho e de conforto por meio de correcta iluminação, natural, artificial ou mista.

### b) Controle

Análise de especificações de projecto sobre qualidade do ar quando do licenciamento. Observação e estudo das instalações após entrada em funcionamento confirmando a sua adequação ou eventual correcção.

### c) Recomendações

- Legislação e regulamentos em vigor.
- Definição das exigências de iluminação locais por produção, clínica ou não clínica, considerando as suas diferentes actividades e necessidades específicas.
- Recurso preferencial à iluminação natural cujo aproveitamento humaniza os espaços e as instalações.
- Cálculos detalhados e precisos de iluminação artificial ou mista.
- Possibilidade de corte automático de iluminação artificial, em períodos determinados do dia.
- Diferenciação das instalações de iluminação artificial por produção e, nestas, de acordo com necessidades.

## 8.8 Produtos Combustíveis

### a) Natureza dos objectivos

Condições de não perigosidade devidas à existência de produtos combustíveis de grande massa térmica concentrada, por armazenamento ou outras condições de acondicionamento ou emprego.

### b) Controle

Análise de especificações de projecto relativas ao armazenamento de produtos combustíveis (gasóleo, nafta, gasolina, gases combustíveis, etc.) e de produtos e/ou materiais combustíveis de consumo clínico e não clínico (sistemas, pensos, papéis impressos, tecidos, algodões, produtos farmacêuticos, etc.), pelo grupo de programação do novo estabelecimento de saúde.

Observação e estudo das condições de armazenamento do novo estabelecimento de saúde confirmando a sua adequação e condições de segurança.

### c) Recomendações

- Legislação e regulamentos em vigor aplicáveis.
- Por produção, estudo dos diferentes produtos combustíveis a utilizar. Quantificação dos diferentes produtos combustíveis.
- Estudos de armazenamento exigíveis por produção, centralizando no serviço e/ou descentralização em locais convenientes.
- Diferenciação das construções com implicações especiais de risco de incêndio: independentemente da diferenciação, por princípio, de produções não homogêneas.
- Estudo de sistemas de segurança contra incêndio: protecção local com as adequações devidas; protecção geral (sistema de detecção, 2 alarme, depósitos de água, redes de incêndio, tomadas de utilização, etc.).

## 8.9 Ruído/Silêncio

### a) Natureza dos objectivos

Condições de saúde, de trabalho e de conforto por ausência de ruído ou por atenuação do ruído para níveis convenientes.

b) Controle

Análise de especificações de projecto, quando do licenciamento.

Observação e estudo das instalações após entrada em funcionamento, confirmando a sua adequação ou a necessidade eventual de correcção.

c) Recomendações

- Legislação e regulamentos em vigor, aplicáveis.
- Por produção, clínica ou não clínica, estudo e definição de exigências de silêncio e/ou de insonorização.
- Separação e/ou individualização espacial de unidades produtivas, origem de ruído e sua atenuação.
- Separação e/ou individualização espacial de unidades produtivas exigindo silêncio e/ou insonorização das suas instalações.
- Por unidade produtiva, separação de actividades produtivas origens de ruído e sua insonorização sem criar soluções de continuidade nos processos produtivos.

## 8.10 Segurança

a) Natureza dos objectivos

Propiciar as melhores condições de segurança para as instalações e equipamentos, e também para as pessoas utentes ou não do estabelecimento de saúde.

b) Controle

Apreciação do projecto na vertente segurança, considerando esta a nível das unidades produtivas e da instituição, nas suas múltiplas facetas, como por exemplo: luta contra incêndio, antipânico, perigos eléctricos, mecânicos e outros, quando do licenciamento.

Apreciação formal pelo grupo de programação do estabelecimento de saúde.

c) Recomendações

- Legislação e regulamentos em vigor, aplicáveis.
- Estudos de concentrações de meios humanos e materiais para que, evitando-os, melhorem as condições ambientais e sobretudo à propagação da infecção; tais estudos deverão conduzir à simplificação de exigências de segurança por razões de custos e para evitar volumes compactos, fechados, sem luz do dia e sem ar natural.
- Estudo quantitativo de movimentação de pessoas no estabelecimento de saúde, por forma a evitar elevadas densidades populacionais, dada a gravidade de situações possíveis em caso de pânico e sobretudo quando se trata de deficientes.

## 8.11 Engenharia de produção/Organização

a) Natureza dos objectivos

Possibilitar a melhor adequação das instalações do estabelecimento de saúde à estruturação das produções que comporta, sem introdução de soluções de continuidade nos seus circuitos específicos de produção e, consequentemente, uma gestão mais correcta do serviço.

b) Controle

Apreciação do projecto na distribuição espacial das actividades produtivas, por produção clínica ou não clínica, pelo grupo de programação do estabelecimento de saúde.

c) Recomendações

- Legislação e regulamentos em vigor (chama-se a atenção para o facto de que a concepção de organização e de gestão deve depender essencialmente da produção diferenciada).
- Elaboração de organogramas de circuitos produtivos por produção, de fluxogramas quantitativos de produção, de articulação funcional de funcionários, de circuitos administrativos, etc. com vista a uma correcta definição de espaços e modos simplificados de funcionamento.

(\*) «Terotecnologia» (do inglês «Terotechnology»)

Conceito introduzido por J. KNIPE no artigo «Management of Hospital Maintenance and Operations Services», in «Hospital Engineering», n.º 32/1979.

- Elaboração dos esquemas básicos da gestão económico-financeira por produção, com vista ao melhor aproveitamento dos meios disponíveis e necessidades previstos a satisfazer, interdependências funcionais das unidades produtivas e suas implicações na determinação de custos.

## 8.12 Gestão de Engenharia/Terotecnologia (\*)

### a) Natureza dos objectivos

Propiciar uma correcta gestão de investimentos e adequada definição de prioridades, de instalações, de equipamentos e de energia, na perspectiva da terotecnologia: a combinação de elementos de gestão, financeiros, de engenharia e de outras práticas, aplicando à prossecução do custo económico do ciclo de vida dos meios materiais da instituição.

### b) Controle

Análise de especificações de administração propostas para o estabelecimento de saúde; análise de especificações organizacionais dos serviços técnicos de engenharia e dos meios que lhe são afectos, pelo grupo de programação do estabelecimento de saúde. Após entrada em funcionamento, estudo das condições de fiabilidade que a organização existente dos serviços de engenharia propicia, e sua eventual correcção.

### c) Recomendações

- Legislação e regulamentos em vigor (chama-se a atenção de que não se conhece legislação que contemple as instalações e equipamentos de saúde no âmbito da engenharia da saúde, e/ou engenharia hospitalar e biomédica).
- Estudos aprofundados, elaborados ao nível da Organização Científica do Trabalho, visando o correcto dimensionamento dos meios técnicos e humanos que os serviços técnicos de instalações e equipamentos do estabelecimento de saúde devem comportar.
- Estudos dos meios a dispor internamente e de meios a contratar no exterior.

Estes estudos devem tomar em consideração o mercado existente no âmbito da localização do estabelecimento de saúde.

## 8.13 Administração

### a) Natureza dos objectivos

Propiciar que o estabelecimento de saúde possa adequar no tempo, sempre que necessário, o seu nível de gestão institucional ao nível de gestão das direcções das unidades produtivas e destas ao nível técnico de execução.

Consequentemente, obter elevada capacidade de resposta dos serviços, simplificação de funcionamento e profunda responsabilização por unidade produtiva.

### b) Controle

Análise de esquemas orgânico-estruturais de gestão na perspectiva da diferenciação orgânico funcional das produções e/ou grupos de produções, clínicas e não clínicas, quando do licenciamento. Apreciação formal pelo grupo de programação do estabelecimento de saúde.

### c) Recomendações

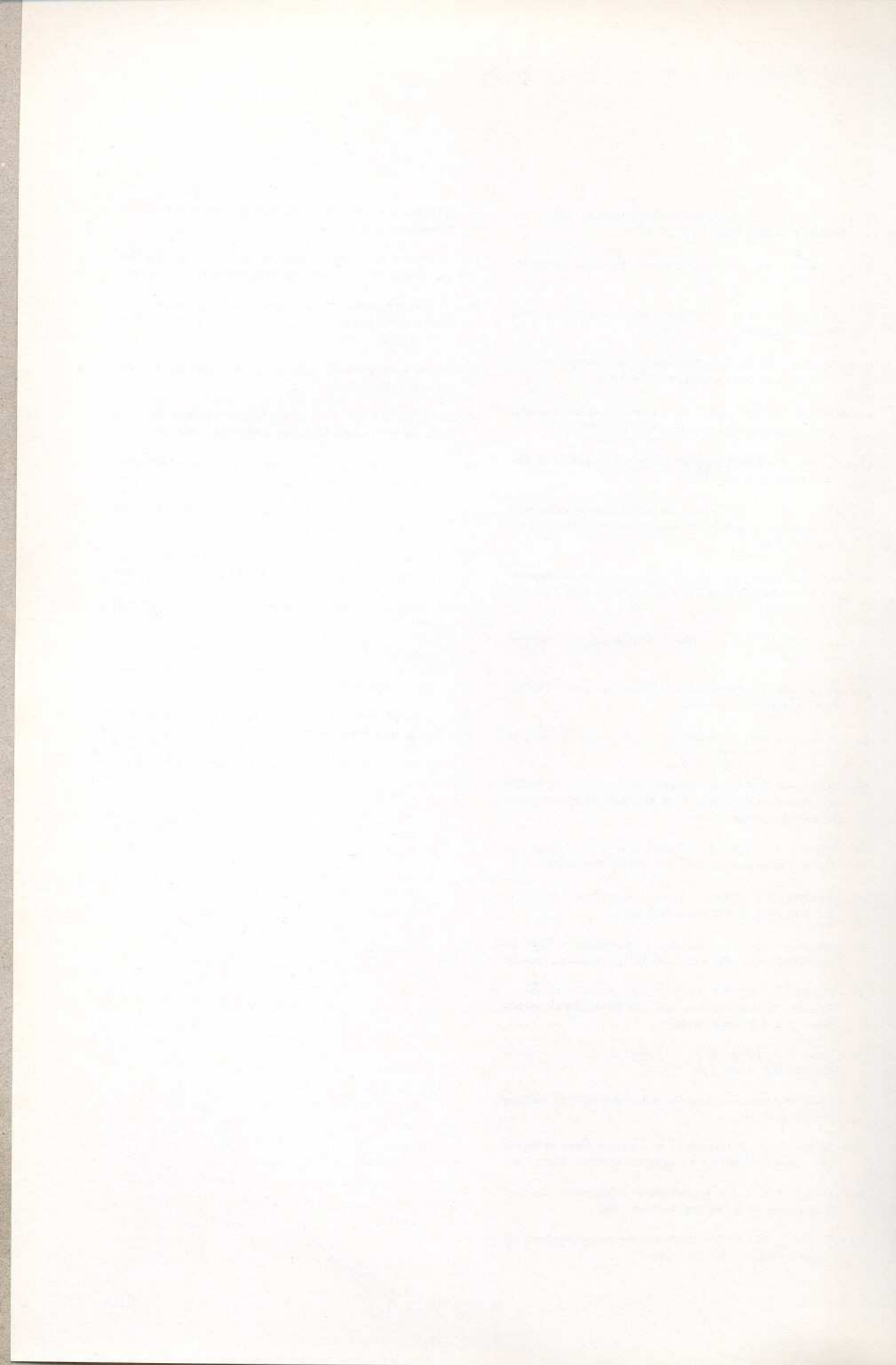
- Legislação e regulamentações em vigor.
- Estudos de engenharia industrial, de organização científica do trabalho e de gestão empresarial, para a formulação dos organigramas de unidades produtivas e sua articulação; criação de estruturas organizacionais para uma correcta integração institucional.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — Indoor Air Quality and Ventilation, Conference held in Lisbon, April 1990. Proceedings ed. by F. W. Lunau and G. L. Reynolds, Selpert Ltd, 1990, London.
- 2 — NATO/CCMS Pilot Study on Indoor Air Quality, 4th Plenary Meeting, Epidemiology and Medical Management of Building-Related Complaints and Illness, Oslo, Norway, August 19-21, 1991.
- 3 — IAI — Indoor Air International Postfach 2, CH-4467, Rothenfluh, Switzerland.
- 4 — WHO — 1983, Occupational Hazards in Hospitals, **EURO Reports and Studies**, 80.

- 5 — DIRECÇÃO-GERAL DOS HOSPITAIS — Circular Informativa n.º 6/79, de 9 de fevereiro de 1979.
- 6 — IUNN, J. A. — Hospital Hazards. *Practitioner* 210: 490, 1973.
- 7 — ACGIT — Occupational Hazards to Health Care Workers. Publ. no 0170, IBNO-936712-6.
- 8 — NIOSH, Dept. of Health and Human Services, 1988 — Guidelines for Protecting the Safety and Health Care Workers. Part 1 DHHS (NIOSH), U.S.A.
- 9 — Ibidem. Part 2 DHHS (NIOSH), U.S.A.
- 10 — WHO, 1982 — Indoor Air Pollutants. Exposure and Health Effects Assessment. Euro-Reports and Studies n.º 78: Working Group Report, Copenhagen, WHO Regional Office.
- 11 — ANDERSSON, K. et al. 1989 — Questionnaire as an instrument when evaluating indoor climat. In: Proceedings from Healthy Buildings '88. Vol. 1, p. 139. Stockholm: Swedish Council for Building Research.
- 12 — DEPARTMENT OF HEALTH — The Control of Substances Hazardous to Health. Guidance for the Initial Assessment in Hospitals. D. G. Glass et al. The Institute of Occupational Health, University of Birmingham, Edgbaston, Birmingham. London HMSO, 1989.
- 13 — U.S. DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION AND WELFARE — Criteria for a recommended standard — Occupational exposure to waste anaesthetic gases and vapors. Washington, DC, 1977.
- 14 — EDLING, C. — Anaesthetic gases as an occupational hazard — A review. *Scandinavian J. of Work. Environ. and Health*, 6: 85, 1980.
- 15 — NIOSH — Special occupational hazard review with control recommendations for the use of ethylene oxide as a sterilant in medical facilities. Washington, DC (1977 Public No 77.200).
- 16 — HENDRIK, D. J.; LANE, D. J. — Occupational Formalin Asthma. *Brit. J. of Industrial Medicine*, 34: 11, 1977.
- 17 — KÄLLEN, B. — Hexachlorophene teratogenicity in humans disputed. *J. of the Am. Medical Association*, 240: 1565, 1978.
- 18 — USEPA, U. S. Public Health Service and National Env. Health Assoc. Introduction to Indoor Air Quality: A Reference manual. Public. No EPA/400/3-91/003, 1991.
- 19 — BRUNE, D.; BELTERSBREKE, H. — Types, Concentration and particle size distribution of dust in dental laboratories. In: «Int. Symposium of the control of air pollution in the working environment», Stockholm, 1977.
- 20 — FALCK, K., et al. — Mutagenicity in urine of nurses handling cytostatic drugs. *Lancet*, 1: 1250, 1979.
- 21 — AUTIAN, J. — Structure toxicity relationships of acrylic monomers. *Environ. Health Perspective*, 11: 141, 1975.
- 22 — KAJLAND, A., et al. — Occupational medical aspects of the dental profession. *Work-environment-health*, 11: 100, 1974.
- 23 — NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1981 — Indoor Pollutants. Washington, DC: National Academy of Science.
- 24 — WHO, 1990 — Biological Contaminants in Indoor Air. EURO Reports and Studies 113, 29 August - 2 September 1988. Rantavaara, WHO.
- 25 — USDHHS, 1989 — Reducing the Health Consequences of Smoking, 25 years of Progress. A Report of the Surgeon General. Washington, DC: U.S. Government Printing Office.
- 26 — IARC, 1986 — Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Tobacco Smoking, Vol. 38, Lyon: France: WHO, IARC.
- 27 — ERIKSEN, M. P., et al. 1988 — Health hazards of passive smoking. *Am. Rev. Public Health*, 9: 47.
- 28 — Nonionizing radiation protection. Copenhagen, WHO regional Office for Europe, 1982. *WHO Reg. Publ. European Series*, No. 10.
- 29 — Basic aspects of the safety philosophy of electrical equipment in medical practice. Geneva. *International Electrotechnical Commission*, 1976. (IEC, Publ. 513).
- 30 — Manual on radiation protection in hospitals and general practice  
Vol. 1 — Basic Protection Equipment (1974)  
Vol. 2 — Unsealed Sources (1975)  
Vol. 3 — X ray Diagnosis (1975)  
Vol. 4 — Radiation Protection in dentistry (1977)  
Geneva, World Health Organization.
- 31 — INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE — Work With Display Units. Stockholm, May 12-15, 1986.
- 32 — Dentistry — working space of dentists — definition and principles. Geneva. International Organization for Standardization, 1977 (Int. Stand. ISO 3246 — 1977).
- 33 — BECK, W. C.; HEIMBURGER, R. F. — Illumination hazard in the operating room. *Arch. of Surgery*, 107: 560, 1973.
- 34 — RONOT, P. et al. — Introduction à l'ergonomie de l'équipe soignante. *2 Arch. des Maladies Professionnelles*, 32: 749, 1971.
- 35 — Hygiène Publique: Guide sur l'élimination des déchets hospitaliers Ministère de la Solidarité, de la Santé et de la Protection. *Bulletin Officiel n.º 88-29 bis-1988*.
- 36 — Techniques Hospitalières: la revue de l'Association des Hautes Etudes Hospitalières — Paris — N.º 554, Novembre, 1991.
- 37 — Guide technique pour la gestion et l'élimination des déchets hospitaliers; CNEH, Centre National de l'Équipement Hospitalier, *Cahier n.º 21*, Mai 1982.
- 38 — Urban Solid Waste Management, edited by Prof. M. B. Pesco, O. B. E. Published on behalf of the O.M.S. Copenhagen by IRIS, 1991.
- 39 — HARRINGTON, J. M. — The Health Industry in McDonald, J. C., ed. Recent Advances in Occupational Health. London, Churchill Livingstone, 1982.
- 40 — PILLING, H. H. — Accident or suicide. *Br. Med. J.*, 2: 516, 1977.
- 41 — WRIGHT-ST. CLAIR, R. E. — Causes of death in colonial doctors. *N. Engl. J. Med.*, 88: 49, 1978.

- 42 — ASP, S. et al. — Mortality among Finnish doctors, 1953 — 72. **Scand. J. of Soc. Med.** 7 (2): 55, 1979.
- 43 — MURRAY, R. M. — Psychiatric illness in doctors. **Lancet**, 1: 1211, 1974.
- 44 — VIANNA, N. J. et al. — Hodgkin's disease mortality among physicians. **Lancet**, 2: 131, 1974.
- 45 — YAGGER, J. W. — Congenital malformations and environmental influence. **J. Occup. Med.**, 15: 724, 1973.
- 46 — RAMSAY, L.; MACLEOD, M. A. — Incidence of idiopathic thromboembolism in nurses. **Br. Med. J.**, 4, 446, 1973.
- 47 — KOREN, H. — Environmental hazards in hospitals. **J. of Environ. Health**, 37: 122, 1974.
- 48 — BAKAL, D. A. — Psychology and Medicine. Psychobiological dimensions of health and sickness. Tavistock Publications, London, 1979.
- 49 — SLOVIC, PAUL — Risk Perception in Carcinogenic Risk Assessment. Curtis C. Travis ed., Plenum Press: New York and London, 1988.
- 50 — COVELLO, V. T. et al. — Risk Communication in Carcinogenic Risk.
- 51 — M. DELFOSSE — Organisation la Production. Centre d'Etudes de d'Organisation, Versailles.
- 52 — M. SOUMAGNAC — Gestion Industrielle. Institut de Controle de Gestion, Paris, 1962.
- 53 — MAGRO, A. PEREIRA — Organização e Gestão Comercial das Empresas Industriais. **Inst. Nacional de Investigação Industrial**, Lisboa.
- 54 — FREIXO, J. PIMENTEL — Organização e Simplificação do Trabalho Administrativo. **Inst. Nac. de Inv. Industrial**, Lisboa.
- 55 — VICENTE, C. F. MOURA — Gestão e Organização de Produção. **Inst. Nac. Invest. Industrial**, Lisboa.
- 56 — BRUYNE, PAUL DE — Esquisse d'une Théorie de l'Administration des Entreprises. Ed. Dunod/Liv. Universitaire. Louvain.
- 57 — EICHHORN, SIEGFRIED — Inst. Hosp. Alçemão/Dusseldorf. Esquema da Direcção Hospitalar. **Dir. Geral dos Hospitais/Serv. Org. e Métodos**, Lisboa.
- 58 — HAMPTON, DAVID R. — Administração Contemporânea. **McGraw Hill**, Brasil, 1980.
- 59 — CHIAVENATO, I. — Teoria Geral da Administração. **McGraw Hill**, Brasil, 1979.
- 60 — REIS, JÚLIO — A Criação de Áreas Intermédias de Gestão nos Hospitais. **Gestão Hospitalar**, 2, Abril/Maio/Junho, 1983.
- 61 — POISSON, M. — Aud. Départements et Départementalisation. **Techniques Hospitalières**, 443/444, 1982.
- 62 — G. LOPES, OCTÁVIO — Centros de Responsabilidade ou Unidades Produtivas? ATEHP, 1989.
- 63 — ROCHA, NOGUEIRA DA — O Hospital (Estrutura, Dinâmica, Desenvolvimento). Lisboa, 1985.
- 64 — G. LOPES, OCTÁVIO — Planeamento Organizacional e Responsabilidade nos Hospitais. **Gestão Hospitalar**, 11/12, 1985.
- 65 — C. DAILEY, ROBERT — Productivity Monitoring Systems in the Hospital. A Work Group Focus Hosp. Health Sev. Adm. n.º 1. Spring, 1988.
- 66 — S. PETERS, THOMAS — Na Senda da Excelência. Publicações D. Quixote, 1987.
- 67 — JARZEMBSKI, W. B. — Global View of Engineering in the Hospital. **IEEE, Eng. Med. and Biol. Mag.**, June 1985.
- 68 — J. KNIPE — Management of Hospital Maintenance and Operations Services Hospital Engineering, Dec. 1979.
- 69 — W. HUBRICH, F. BESKE — Planning for Hospitals. **Official Yearbook — Int. Hosp. Fed.** 1987.
- 70 — K. SCHUTYSER — The Role of Technology in the Development and Structure of the Hospital. **I.F.H.**, 24 (3), Dec. 1988.
- 71 — J. WEEKS — A Universal Model. **Official Yearbook/I.H.F.** 1986.
- 72 — ISHIKAWA, KAORU — «TQC — Total Quality Control». Estratégia e Administração da Qualidade. IMC, Sistemas Educativos, Lda., Brasil, 1985.
- 73 — G. LOPES, OCTÁVIO — Contribuição para uma Nova Concepção de Definição e de Organização dos Espaços da Instituição Hospitalar. I Congresso de Instalações e Equip. de Saúde de Portugal e dos P.A.L.O.P. — Lisboa, Dec. 1989.



## Anexo V

### Contribuição para a análise do documento de trabalho «Plano Nacional de Política Ambiente — Versão 1», de Dezembro 1990

#### 1. Introdução

Tendo o Senhor Ministro da Saúde solicitado ao NEA/MS uma análise do documento de trabalho em epígrafe, sob a perspectiva da contribuição que o nosso Ministério poderia oferecer para o bom cumprimento dos objectivos inscritos na 1.ª versão do Plano Nacional de Política do Ambiente (PNPA), objecto do citado documento, elaboraram-se algumas considerações que se julga poderem informar a análise pedida.

#### 2. Âmbito da análise e sua justificação

O documento de trabalho, elaborado pelo Grupo de trabalho do Ministério do Ambiente e dos Recursos Naturais (MARN) especialmente criado para o efeito, constitui um extenso desenvolvimento, em sete capítulos, daquilo que, no entender dos seus autores, «deverá... ser entendido como o catalizador da participação e envolvimento dos vários intervenientes no sistema ambiental nacional». Capítulo 1.a, pág. 5\*).

O sistema ambiental nacional, diagnosticado no Capítulo 2 do documento, é definido como o conjunto de dez elementos:

1. Atmosfera (Págs. 28 a 35);
2. Recursos Hídricos (Págs. 36 a 41);
3. Águas marinhas e costeiras (Págs. 42 a 45);
4. Solo (Págs. 46 a 49);
5. Conservação da Natureza (Págs. 50 a 56);
6. Ruído (Págs. 57 a 58);
7. Resíduos (Págs. 59 a 63);
8. Riscos Naturais e Antrópicos (Págs. 64 a 71);
9. Educação Ambiental e Participação dos Cidadãos (Págs. 64 a 71);
10. Defesa do Consumidor (Págs. 75 a 77).

Os elementos referidos de 1 a 5 dizem respeito a «recursos», enquanto que os citados de 6 a 8 se reportam a «perturbações»; visando os dos números 9 e 10 os agentes económicos e sociais (vide linhas 1 a 4 da pág. 15).

Tendo em vista as competências dos diversos órgãos do Ministério da Saúde, a todos os níveis (central, regional e local) e em todos os quadrantes técnico-científicos (pressão de cuidados primários e diferenciados, ensino, investigação, construção de hospitais e outras instalações e equipamentos), oferece toda a pertinência o estudo da sua partici-

\* Todas as citações de capítulos e paginação se referem ao documento do MARN.

pação e envolvimento no sistema ambiental nacional, tal como é desejado pelo PNPA.

O âmbito da presente análise tem como finalidade a satisfação deste desiderato, partindo das grandes linhas de política e de estratégia, global e sectorial, e concluindo pelas acções que, da parte do nosso Ministério, mais necessárias se tornam para complementar adequadamente todas as outras que são descritas no PNPA, auxiliando assim o atingir dos objectivos propostos.

### 3. Enquadramento nacional e internacional

A presente análise enquadra-se, a nível nacional, na Lei de Bases da Saúde e nos diversos diplomas legais que servem de fundamento às actividades dos serviços do Ministério da Saúde com relevo para a Saúde Ambiental (prevenção e luta contra as doenças e incómodos causados pelos factores de risco com origem no ambiente biofísico e psicossocial), a avaliação e controle do Impacte Ambiental (gestão de resíduos, líquidos, sólidos e gasosos, provenientes de instalações e equipamentos de saúde) e a Educação para a Saúde (acções de sensibilização, informação e formação destinadas à promoção da saúde).

No âmbito internacional, as referências de mais relevo centram-se em dois documentos provenientes da Organização Mundial de Saúde (Bureau Regional da Europa), ambos subscritos pelo Governo de Portugal:

- Estratégia regional europeia para atingir a Saúde para Todos no ano 2000 (38 metas, das quais 8 se localizam no domínio da Saúde Ambiental) \*
- Carta Europeia de Ambiente e Saúde, assinada, em Dezembro de 1989, em Frankfurt (Alemanha) \*\*

Estes dois documentos contêm todos os mais importantes aspectos contemplados em Saúde Ambiental e podem contribuir, de forma decisiva, para enriquecer a análise das relações entre a saúde e o ambiente e a contribuição que o Ministério da Saúde pode dar à consecução dos Objectivos do PNPA.

\* «Metas da Saúde para Todos», edição do Ministério da Saúde, DEPS-1985.

\*\* «Carta Europeia de Ambiente e Saúde», edição do Ministério da Saúde, DEPS e ENSP, 1990.

### 4. Inserção lógica das actividades do Ministério da Saúde no PNPA

O documento em análise não oferece qualquer ambiguidade no que toca à inserção das actividades dos diversos ministérios no PNPA. Com efeito, logo no seu primeiro capítulo, ao definir as «linhas directrizes para o PNPA» (Cap. 1c. págs. 11 a 19), se diz que o plano «irá estruturar-se em torno da seguinte abordagem:

1. A *estratégia global* é aquela que vem dar voz às grandes linhas de política nacional no domínio do ambiente...
2. A *estratégia sectorial* irá estruturar-se a partir de objectivos e princípios constituintes da estratégia global, dar-lhe expressão concreta no que respeita a:
  - medidas de política a levar a cabo por cada um dos departamentos (ministérios);
  - resultados esperados (metas) nos sistemas ambiental e económico;
  - resultados esperados quanto à actuação das autarquias locais, agentes económicos e agentes sociais» (pág. 14).

Deixando a estratégia global para outros tipos de análise, importa concentrar-mo-nos na estratégia sectorial, que é objecto de todo o Capítulo 4 do PNPA.

A filosofia desta estratégia à apresentada na introdução ao capítulo, distinguindo, em primeiro lugar, os objectivos ambientais dos objectivos estruturais, e, logo a seguir, os três sistemas onde se tem que actuar, o sistema institucional, o sistema ambiental e o sistema económico. «Aos objectivos ambientais do Plano», prossegue o documento do MARN (pág. 100), «corresponde uma imagem da evolução quanto aos componentes do sistema ambiental e, por consequência, no sistema económico que é seu utilizador».

O PNPA introduz, então, as ideias mais importantes, quanto à contribuição de outros departamentos (leia-se *ministérios*), do seguinte modo:

«Assim, os agentes políticos, ao exercerem as suas funções de *gestão*, segundo os seus domínios de competência, e os agentes económicos e sociais, segundo os seus domínios de actuação, se apresentam, por sua vez, pontos de inter-relação, de intensidade variável com os diversos componentes do sistema ambiental e do sistema económico.

No caso específico do MARN, os pontos de relação *directa* são os que respeitam sobretudo aos componentes do sistema ambiental, visto ser a entidade competente para aí definir «standards», objectivos de qualidade e de gestão, e actuar directamente sobre os problemas.

*No caso de outros departamentos* (o sublinhado é nosso), os pontos de cruzamento com os componentes do sistema ambiental são *indirectos*, porque a sua actuação incide fundamentalmente sobre as actividades e apenas por consequência dos seus efeitos sobre o ambiente».

O PNPA indica finalmente o modo de proceder por parte dos vários departamentos da Administração (pág. 101):

- 1.<sup>a</sup> etapa — Definição de estratégias de actuação próprias, para atingir os objectivos estratégicos do PNPA.
- 2.<sup>a</sup> etapa — Preparação de planos e programas sectoriais, para cumprir as metas constantes das estratégias de actuação.
- 3.<sup>a</sup> etapa — Concretização das acções indispensáveis à satisfação dos planos e programas elaborados na 2.<sup>a</sup> etapa.

O cumprimento destes critérios de actuação visará proporcionar o surgimento dum plano de Saúde Ambiental no seio do Ministério da Saúde, em relação ao qual serão indicadas as principais características nos números seguintes.

## 5. Grandes linhas de orientação de um plano de Saúde Ambiental inserido no PNPA

### 5.1 Estratégias de actuação

As estratégias de actuação próprias do Ministério da Saúde terão que se basear nos objectivos estratégicos ambientais constantes do Capítulo 2. c (pág. 97), a saber:

- 1.<sup>o</sup> — melhorar o ambiente urbano;
- 2.<sup>o</sup> — racionalizar o planeamento e gestão de recursos hídricos;
- 3.<sup>o</sup> — gerir racionalmente os recursos naturais;
- 4.<sup>o</sup> — manter ou reduzir, se possível, o actual volume de produção de resíduos;
- 5.<sup>o</sup> — minimizar os riscos e efeitos de acidentes ambientais.

Por outro lado, convém não esquecer o outro tipo de objectivos estratégicos, os estruturais, que se enunciam no Capítulo 2. d (pág. 98):

- 1.<sup>o</sup> — integração da política do ambiente nas políticas de desenvolvimento económico e sectorial, por forma a resultar numa «mudança das políticas sectoriais, *no sentido de passarem a incluir preocupações e objectivos ambientais*»;
- 2.<sup>o</sup> — desenvolvimento da participação dos grupos sociais e económicos e da população;
- 3.<sup>o</sup> — melhoria do sistema de ordenamento do território, em coordenação com a protecção do ambiente;
- 4.<sup>o</sup> — distribuição de competências e atribuições para a execução da política do ambiente ao nível mais adequado;
- 5.<sup>o</sup> — fortalecimento da cooperação internacional;
- 6.<sup>o</sup> — desenvolvimento de um diálogo constante entre as instituições produtoras de informação e de investigação ambiental;
- 7.<sup>o</sup> — reforço do peso político do Ministério do Ambiente.

Para cumprir, dentro do prazo estipulado, ou seja até 1995, os objectivos estratégicos acima, as estratégias de actuação próprias do Ministério da Saúde serão consubstanciadas em metas, que se poderão enunciar:

#### Meta n.º 1

Elaborar e desenvolver um programa de epidemiologia e toxicologia ambientais a nível nacional.

#### Meta n.º 2

Cobrir o país com cartografia apropriada dos factores de risco para a saúde humana com origem no ambiente.

#### Meta n.º 3

Desenvolvimento informático da rede nacional de vigilância sanitária dos sistemas de abastecimento de água, águas residuais e águas utilizadas para fins recreativos.

#### Meta n.º 4

Reduzir a produção de resíduos hospitalares e gerir com eficiência os sistemas de remoção e tratamento de tais resíduos.

*Meta n.º 5*

Melhorar as condições ambientais no habitat individual e colectivo, com prioridade para as características higiénicas da habitação e para a higiene e salubridade das áreas circundantes.

*Meta n.º 6*

Estudar as implicações da localização de hospitais e de outros estabelecimentos prestadores de cuidados de saúde no equilíbrio ambiental, desenvolver linhas de estratégia futura.

*Meta n.º 7*

Melhorar o ambiente urbano e rural por meio do estudo e implementação de programas de vigilância sanitária de: sistemas de resíduos sólidos urbanos, estabelecimentos comerciais e industriais classificados, parque habitacional, atmosfera e ruído em áreas urbanas e industriais.

*Meta n.º 8*

Institucionalizar uma cooperação permanente, em termos de troca de informação, entre os organismos do Ministério da Saúde e o Ministério do Ambiente e dos Recursos Naturais.

**5.2. Plano e programas sectoriais**

Para satisfazer as metas atrás enunciadas, poderão elaborar e desenvolver programas, um para cada meta, a inserir no Plano de Saúde Ambiental, com a seguinte constituição genérica:

- Objectivos parciais
- Recursos humanos disponíveis
- Recursos financeiros disponíveis
- Actividades a desenvolver até 1995
- Custo das actividades
- Avaliação do sucesso das actividades

**5.3. Concretização de acções**

As acções contempladas nos programas terão que ser concretizadas dentro dos prazos estabelecidos e possuir, à partida, cobertura institucional e financeira.

Dado o carácter polivalente e multidisciplinar de todos estes programas são chamados a colaborar, nestas acções, os diversos órgãos do Ministério da

Saúde, havendo interesse em atribuir a coordenação a um só organismo, por uma questão de metodologia operacional.

No respeitante aos aspectos financeiros, a cobertura destes programas poderia ser feita através de verbas próprias do PNPA, eventualmente complementadas pelas do próprio Ministério da Saúde ou de outros organismos.

O papel dos organismos de formação, investigação e desenvolvimento (I&D), como o INSA e a ENSP terá que ser devidamente inserido nos programas a desenvolver.

Ambos estes tipos de cobertura serão equacionados e bem definidos nos próprios programas, sob pena de não vir a ser possível assegurar uma eficiente contribuição do nosso Ministério para o PNPA.

Valerá, talvez, a pena deixar ficar já uma ideia orientadora sobre estes aspectos, para o que se elaborou o Quadro I.

**QUADRO I  
COBERTURA INSTITUCIONAL E FINANCEIRA  
DOS PROGRAMAS PO PLANO DE SAÚDE  
AMBIENTAL**

Metas do Plano (Programas)	Organismo do Min. da Saúde		Estimativa orçamental 1991-1995 (em 10 <sup>3</sup> contos)
	Coordenadores	Colaboradores	
N.º 1	INSA	DGCSP, ENSP	2000
N.º 2	DGCSP	ENSP	1500
N.º 3	DGCSP	INSA	800
N.º 4	DGH	DGCSP, ENSP	900
N.º 5	DGCSP	ENSP, INSA	300
N.º 6	DGIES	ENSP, DGH e DGCSP	600
N.º 7	DGCSP	INSA	300
N.º 8	DEPS	Todos os outros	400

Deste Quadro se pode concluir que o montante a prever para a realização dos oito programas é de 6800 milhares de contos.

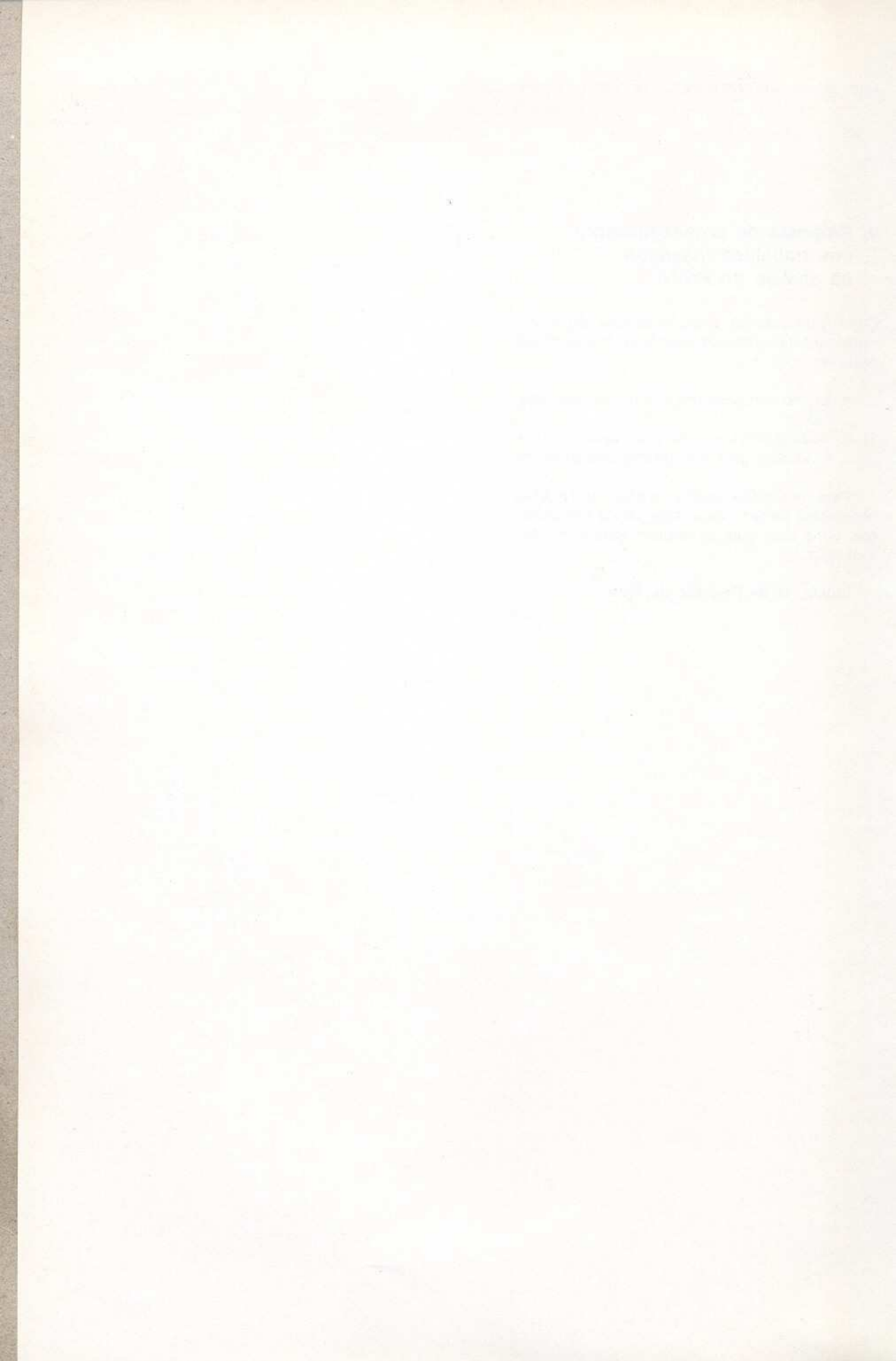
## **6. Proposta de prosseguimento dos trabalhos inseridos na análise do PNPA**

Como conclusão da presente análise, propõe-se superiormente o prosseguimento dos trabalhos nas seguintes duas vias:

1. Estudo detalhado dos oito programas sectoriais
2. Avaliação das possibilidades institucionais e financeiras para cumprimento dos objectivos

Para realização destas tarefas, o NEA/MS necessitaria de um mês e meio para a sua ultimateção. Seria elaborado um relatório específico sobre a matéria.

Lisboa, 11 de Fevereiro de 1991



## Anexo VI

### **(Proposta de alteração do Decreto Regulamentar n.º 38/90 de 27 de Novembro)**

Apresenta-se em anexo a proposta de Decreto Regulamentar que visa alterar a redacção do n.º 4 do anexo do Decreto Regulamentar supra citado, aditando-lhe um n.º 4.8, por forma a tipificar os estabelecimentos hospitalares e outros estabelecimentos de prestação de cuidados de saúde a abranger pelo mesmo documento.

Esta proposta está de acordo com a tipificação apresentada no Estudo n.º 1 do NEA/MS, que acompanhou o Relatório n.º 3, de 30 de Janeiro de 1991 (informação n.º 12/91, da D.G.I.E.S.).

Lisboa, 16 de Julho de 1991



MINISTÉRIO DA SAÚDE

DIRECÇÃO-GERAL DAS INSTALAÇÕES E EQUIPAMENTOS DE SAÚDE

**Decreto Regulamentar n.º \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_**

O Decreto-Regulamentar n.º 38/90, de 27 de Novembro, aplica-se à avaliação de impacte ambiental (AIA) dos projectos referidos no anexo I do Decreto-Lei n.º 186/90, de 6 de Junho, e dos projectos agrícolas, industriais, habitacionais e turísticos ou de infra-estruturas inseridos no anexo III do mesmo diploma, quando, verificada a sua ocorrência, real ou potencial, em território português, esta exceda os limites ou dimensões descritos no anexo daquele Decreto Regulamentar.

Tendo em conta os efeitos importantes que a instalação de hospitais e outros estabelecimentos de cuidados de saúde pode ter sobre o equilíbrio dos ecossistemas, foi, pelo Decreto-Lei n.º \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_, considerada a inclusão destas unidades na alínea g) do n.º 10 do anexo III do Decreto-Lei n.º 186/90.

Deste modo, deverá também o Decreto Regulamentar n.º 38/90 ser extensivo àquelas unidades, estabelecendo, no respectivo anexo, a tipificação dos empreendimentos cujos projectos deverão incluir estudos de AIA.

Assim:

Nos termos da alínea a) do n.º 1 do artigo 201.º da Constituição, o Governo decreta o seguinte:



MINISTÉRIO DA SAÚDE

DIRECÇÃO-GERAL DAS INSTALAÇÕES E EQUIPAMENTOS DE SAÚDE

Decreto Regulamentar n.º \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

O Decreto-Regulamentar n.º 38/90, de 27 de Novembro, aplica-se à avaliação de impacte ambiental (AIA) dos projectos referidos no anexo I do Decreto-Lei n.º 186/90, de 6 de Junho, e dos projectos agrícolas, industriais, habitacionais e turísticos ou de infra-estruturas inseridos no anexo III do mesmo diploma, quando, verificada a sua ocorrência, real ou potencial, em território português, esta exceda os limites ou dimensões descritos no anexo daquele Decreto Regulamentar.

Tendo em conta os efeitos importantes que a instalação de hospitais e outros estabelecimentos de cuidados de saúde pode ter sobre o equilíbrio dos ecossistemas, foi, pelo Decreto-Lei n.º \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_, considerada a inclusão destas unidades na alínea g) do n.º 10 do anexo III do Decreto-Lei n.º 186/90.

Deste modo, deverá também o Decreto Regulamentar n.º 38/90 ser extensivo àquelas unidades, estabelecendo, no respectivo anexo, a tipificação dos empreendimentos cujos projectos deverão incluir estudos de AIA.

Assim:

Nos termos da alínea a) do n.º 1 do artigo 201.º da Constituição, o Governo decreta o seguinte:

1.º — O n.º 4 do Anexo ao Decreto Regulamentar n.º 38/90, de 27 de Novembro, passa a ter a seguinte redacção:

- 4 — \_\_\_\_\_
- 4.1 — \_\_\_\_\_
- 4.2 — \_\_\_\_\_
- 4.3 — \_\_\_\_\_
- 4.4 — \_\_\_\_\_
- 4.5 — \_\_\_\_\_
- 4.6 — \_\_\_\_\_
- 4.7 — \_\_\_\_\_

4.8 — Hospitais e casas de saúde com lotação superior a 100 camas, estabelecimentos termais com capacidade de atendimento diário superior a 200 utentes, centros de saúde servindo uma população superior a 25 000 habitantes, instituições de investigação em saúde e laboratórios de âmbito nacional.

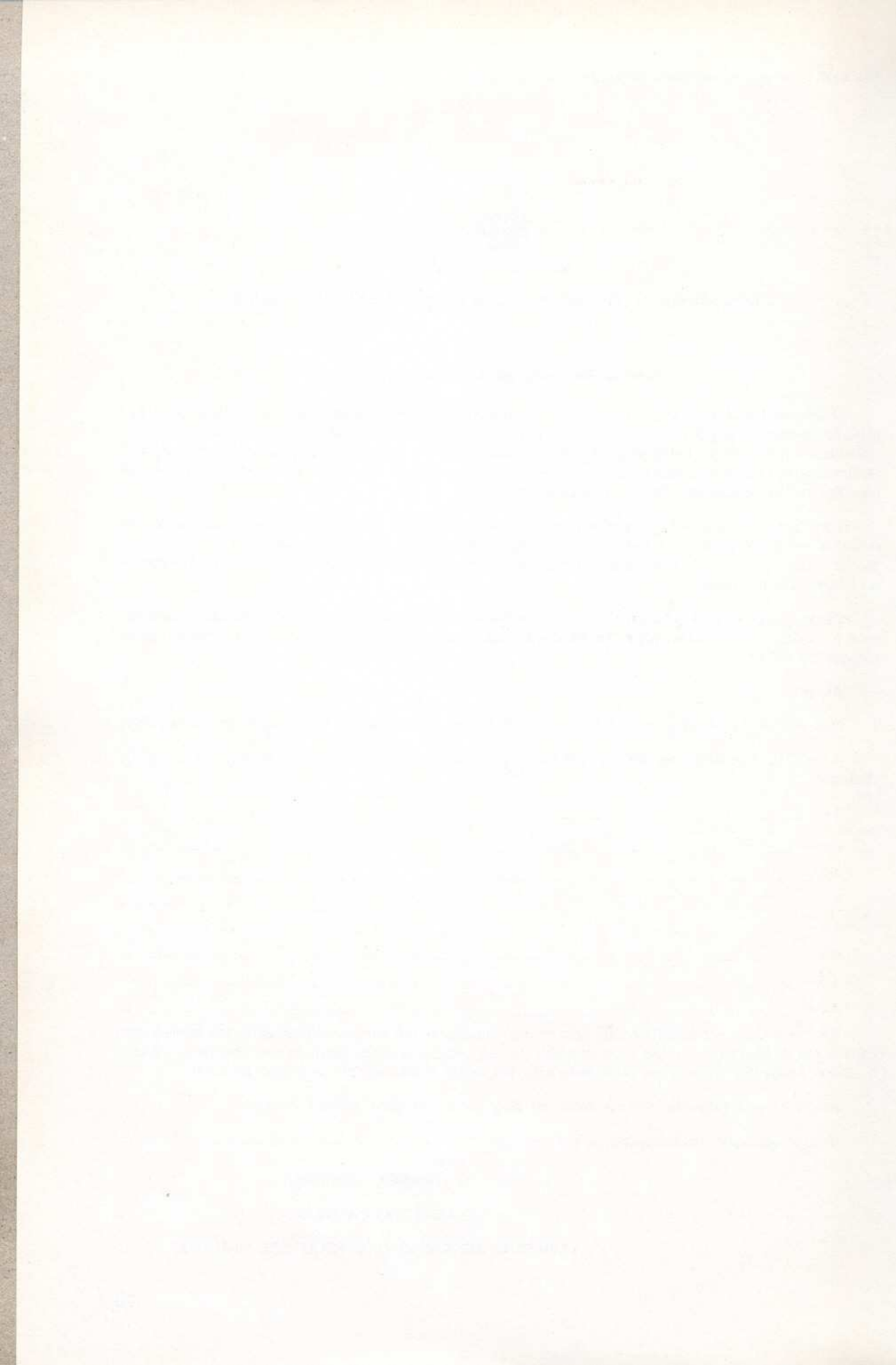
Artigo 2.º — O presente diploma entra em vigor trinta dias após a sua publicação.

Visto e aprovado em Conselho de Ministros de \_\_\_\_\_

O PRIMEIRO MINISTRO

O MINISTRO DA SAÚDE

O MINISTRO DO AMBIENTE E RECURSOS NATURAIS



# Diagnóstico pré-natal de enzimopatias lisossomais: dificuldades e progressos \*

Hagenfeldt, Manuela  
Silva, Conceição  
Ferreira, Filomena

## RESUMO

A possibilidade de diagnóstico pré-natal (DPN) de enzimopatias aumentar consideravelmente nestes últimos anos. A confirmação bioquímica do caso index, identificando a família em risco, é imperativa. Saliente-se as dificuldades e progressos no DPN, visando uma melhor estratégia de diagnóstico.

## SUMMARY

Prenatal diagnosis of metabolic disorders had a considerable improvement in the last years. Biochemical confirmation of an index case is essential to identify a family at risk. We emphasize the difficulties and advances of DPN in order to reach a better diagnosis.

## Enzimopatias lisossomais e sua prevenção

As enzimopatias lisossomais são doenças de sobrecarga devidas a deficiências em sistemas enzimáticos presentes nos lisossomas, implicados no catabolismo de moléculas complexas, (esfingolípidos, glicoproteínas), que quando não degradadas se acumulam em diferentes órgãos vitais, com consequências muito graves <sup>(1)</sup>.

A transmissão genética destas patologias é na sua maioria autosómica recessiva, à excepção da doença de Hunter e Fabry com transmissão recessiva ligada ao cromossoma X.

São doenças raras (1/40 000 a 1/100 000 nascimentos), no entanto o risco de recorrência para os descendentes de um casal com uma criança afectada, é, para as patologias autosómicas recessivas, de 25 %.

O quadro clínico e a evolução destas afecções varia segundo a natureza e localização (sistema nervoso central, fígado, miocárdio...) dos produtos acumulados, e a velocidade à qual se formam.

As dismorfias faciais e ósseas são habituais, a sintomatologia mais severa aparece nas doenças em

que o sistema nervoso central está afectado, sendo o atraso psicomotor uma característica comum à maioria destas afecções <sup>(2)</sup>. São caracterizadas por uma enorme heterogeneidade de fenótipos biológicos e clínicos, consequência da multiplicidade de anomalias moleculares que podem originar deficiências nos sistemas enzimáticos, a nível génico, da transcrição, da tradução..., da maturação da proteína, conduzindo por vezes a dificuldades no estabelecimento de um diagnóstico clínico correcto <sup>(3) (4) (5)</sup>.

O elevado número de enzimopatias hereditárias, a extrema raridade da maioria, a diversidade e a complexidade das técnicas necessárias à sua identificação, sem falar do custo, tornam ilusórias todas as tentativas de rastreio sistemático. Assim, só o diagnóstico pré-natal (DPN) permite uma estratégia de prevenção realmente eficaz. Trata-se de uma acção multidisciplinar, aplicável em situações de alto risco para uma patologia ainda sem terapêutica e que exige:

- uma detecção das famílias em risco com base no diagnóstico do caso index;
- um aconselhamento genético que permita aos pais obter as informações necessárias sobre o DPN;
- um laboratório de bioquímica e/ou de biologia molecular eficiente, que tenha estabelecido as suas próprias normas e que seja capaz de executar a análise;

\* Resultados apresentados no Seminário «Metabolopatias. A Clínica e o Laboratório», INSA 10 e 11 de Dezembro de 1991.

Laboratório de Química Clínica — INSA, Lisboa.

- um obstetra que realize a recolha do material biológico numa data bem precisa, o que implica uma ecografia de qualidade, e que se encarregue, eventualmente, de uma interrupção da gravidez.

A maioria das enzimopatias lisossomais beneficiam hoje do diagnóstico prenatal.

## A realização do DPN

### Meios biológicos

- *Células do líquido amniótico em cultura (CLA) e líquido amniótico (LA)*: obtidos por amniocentese à 16.<sup>a</sup>-18.<sup>a</sup> semana de amenorreia, ou no caso de amniocentese precoce, entre a 12.<sup>a</sup> e a 14.<sup>a</sup> semana <sup>(6)</sup>.
- *Vilosidades coriónicas (VC)*: obtidas por biópsia do corion entre a 8.<sup>a</sup> e a 12.<sup>a</sup> semana de amenorreia; a cultura, necessária em certas situações, assegura a possibilidade de se refazer um exame cujo resultado é duvidoso. Trata-se de meio biológico de preferência, dada a precocidade do diagnóstico <sup>(7)</sup>.
- *Sangue e tecidos fetais*: obtidos a partir da 19.<sup>a</sup>-20.<sup>a</sup> semana de amenorreia. O recurso a estes meios biológicos é importante em situações de <sup>(8) (9)</sup>:
  - DPN tardio;
  - enzimopatias sem expressão enzimática do sistema anómalo, nas VC (frescas ou cultivadas) e/ou CLA.

### Métodos de detecção da deficiência enzimática

- *Ensaio directo*: baseia-se no estudo de expressão enzimática do sistema cuja anomalia originou a afecção (num homogenizado tissular apropriado, usando o substrato natural ou artificial indicado, e nas condições reaccionais óptimas). A metodologia do DPN enzimático visa o estudo do produto do gene, permitindo o diagnóstico independentemente do conhecimento da causa molecular da deficiência. O estudo familiar prévio é imperativo no DPN, cuja realização exige o estudo concomitante do caso em risco e do caso index <sup>(10) (11)</sup>.
- *Detecção imunológica*: a especificidade dos anticorpos pode ser usada de dois modos diferentes:

- a actividade enzimática pode ser medida selectivamente após precipitação com anti-soro na presença de outras enzimas com actividade para o mesmo substrato <sup>(13)</sup>;
- a presença ou ausência de uma proteína enzimática, independentemente da sua actividade, pode ser detectada por imunoblotting (western) <sup>(12)</sup>.  
A utilização de técnicas imunológicas depende essencialmente do facto de se possuírem ou não os anticorpos específicos (monoclonais ou não).

- *Utilização de precursores*: a actividade de uma enzima pode ser medida indirectamente através de técnicas que utilizam a incorporação celular de substratos ou seus precursores marcados isotopicamente, permitindo seguir «in situ» o catabolismo dos substratos <sup>(12)</sup>. Trata-se de metodologias úteis no diagnóstico de determinadas patologias e na identificação de pseudodeficiências <sup>(10)</sup>.

- *Acumulação de metabólitos*: os grandes progressos no que se refere à cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa, electroforese mono e bidimensional e cromatografia em camada fina, vieram permitir a identificação e quantificação de metabólitos específicos nos meios biológicos.

No DPN de enzimopatias o estudo simultâneo de metabólitos excretados pelo feto no LA, contribui indubitavelmente para uma certeza diagnóstica; em situações de DPN nas VC cultivadas, ou CLA, o estudo de metabólitos pode, em certas circunstâncias, fornecer um DPN mais precoce <sup>(13) (14)</sup>.

O estudo de metabólitos em LA precoce é ainda muito restrito; no entanto, dada a precocidade do diagnóstico, o seu interesse é relevante <sup>(15)</sup>.

- *Metodologias de biologia molecular*: hoje em dia foram já clonados os genes que codificam mais de 50 % das enzimas implicadas nas afecções lisossomais, assim como os genes correspondentes aos precursores de proteínas activadoras e protectoras de sistemas enzimáticos cujas anomalias são responsáveis pelas afecções <sup>(12)</sup>.

As aplicações destas metodologias no DPN de enzimopatias são ainda raras dado o amplo espectro de tecidos e fluidos biológicos em

que existe expressão enzimática dos sistemas implicados nas afecções, no entanto, tais metodologias podem aumentar a precisão em certas situações de DPN<sup>(16)</sup> e na detecção de heterozigotos, (especialmente no que se refere a patologias ligadas ao cromossoma X)<sup>(17)</sup>.

### Dificuldades e progressos no DPN

#### — Dificuldades relacionadas com o tipo de doença

Exemplos de situações particulares:

- situações patológicas em que só existe expressão enzimática em meios biológicos pouco acessíveis, o que implica a realização de biópsias fetais (glicogenose tipo Ia)<sup>(18)</sup>;
- doenças de transmissão recessiva ligadas ao cromossoma X, dado existirem portadores que apresentam actividades enzimáticas residuais extremamente baixas<sup>(19)</sup>;
- situações em que o diagnóstico não é baseado na análise do defeito básico (mucopolidose II)<sup>(20)</sup>, (mucosulfatidose)<sup>(21)</sup>, o que pode implicar um aumento do risco de erro;
- situações atípicas de doentes que apresentam actividades residuais elevadas<sup>(22)</sup>, heterozigotos com actividades residuais muito baixas<sup>(23)</sup>, variantes clínico-biológicas com quasi deficiência em adultos saudáveis<sup>(24)</sup>.

#### — Dificuldades relacionadas com o meio biológico

Além das dificuldades inerentes à respectiva colheita:

- vilosidades coriônicas<sup>(26)</sup>:
  - amostra pequena;
  - contaminação materna;
  - gémeos.
- LA precoce<sup>(15)</sup>:
  - obesidade materna;
  - existência de fibroma uterino.

Existem dificuldades relativas a:

- expressão enzimática em VC<sup>(10) (25)</sup>:
  - discordância entre exame directo de VC e VC em cultura;

- presença de isoenzimas específicas de VC;
- actividades fracas nas VC não cultivadas;
- deficiência não expressa nas VC

#### — teor em metabólitos no LA precoce<sup>(28)</sup>:

- baixa concentração de metabólitos;
- quantidade de LA significativamente menor.

#### — Os progressos

De salientar:

- os meios de cultura melhoraram consideravelmente, permitindo hoje uma cultura de CLA colhido precocemente (12-14.<sup>a</sup> semana)<sup>(15)</sup>;
- a melhoria das técnicas ecográficas e obstétricas permite hoje uma colheita em melhores condições<sup>(9) (11) (15)</sup> de:
  - vilosidades coriônicas;
  - LA precoce;
  - tecidos fetais (pele, fígado...);
  - sangue fetal;
- os métodos bioquímicos evoluíram e são hoje em dia mais fiáveis<sup>(12)</sup>;
- um grande número de novas doenças metabólicas podem ser detectadas bioquimicamente permitindo assim novos DPN (30 em 1974; cerca de 200 em 1991)<sup>(10) (29)</sup>;
- graças às metodologias da biologia molecular novas possibilidades de diagnóstico surgiram e continuarão a surgir<sup>(12)</sup>.

Apesar dos progressos da imunologia, e mais recentemente, da biologia molecular, que sem dúvida veio esclarecer muitos aspectos relativos à natureza da mutação ou mutações afectando os sistemas enzimáticos implicados nas afecções, o diagnóstico pré-natal de enzimatias lisossomais baseia-se essencialmente no estudo enzimático do produto do gene.

Os progressos obtidos no âmbito do DPN de enzimatias são sem dúvida relevantes. Hoje, além da notória diversificação das doenças cujo estudo bioquímico é já possível, o acesso a outros meios biológicos fetais e a crescente evolução das metodologias de estudo, permitiram uma melhoria das condições de diagnóstico, no que se refere à sua fiabilidade e precocidade. As dificuldades enumeradas, são o reflexo de um maior conhecimento dos problemas.

Hoje mais do que nunca, um trabalho coordenado entre as diferentes equipas implicadas no DPN é imprescindível.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — HERS, H. et al. — Lysosomal Storage Diseases. *Lancet*, 1986, 2, 898-899.
- 2 — J. M. SAUDUBRAY — Clinical Approach to Inherited Metabolic Diseases in the neonatal period. *J. Inher. Metab. Dis.*, 1989, 12, sup. 1, 25-41.
- 3 — POENARU, L. — Mécanismes génétiques des enzymopathies lysosomales. *La Nouvelle Gazette de la Transfusion*, Dec. 1989, pg. 18.
- 4 — J. M. TAGER, et al. — Metabolic consequences of genetic defects in lysosomes, *Biochemical Society Transactions*, vol. 12, 902 a 905, 1984.
- 5 — J. SPRANGER — Mini Review: Inborn Errors of Complex carbohydrate Metab. *American Journal of Medical Genetics*, 1987, 28, 489-499.
- 6 — VALENTI, C., et al. — Mid-trimester diagnostic amniocentesis In: Reed CB eds. Diseases of the fetus and newborn. London: **Chapman and Hall**, 1989, 641-60.
- 7 — KLEIJER, W. Y. — First trimester diagnosis of genetic metabolic disorders. In Pescia G., eds. Chorionic villus sampling. Basel: **Karges**, 1986, 80-9.
- 8 — BEADLEY, R. J. — Fetal tissue sampling. In: Reed CB eds. Diseases of the fetus and newborn. London: **Chapman and Hall**, 1989, 661-71.
- 9 — NICOLAIDES, R. H. — Fetal blood sampling. In: Rodeck CH, ed. Fetal diagnosis of genetic defects. London: **Baillière Tindall**, 1987, 623-48.
- 10 — POENARU, L. — First trimester prenatal diagnosis of metabolic disease: a survey in countries from the European Community. *Prenat. Diagn.*, 1987, 7, 333-41.
- 11 — G. T. N. BESLEY — First trimester Diagnosis of Inherited Metabolic Diseases: Experience in the U. K. *J. Inher. Metab. Dis.*, 1991, 14, 128-33.
- 12 — B. WINCHESTER. Prenatal diagnosis of enzyme defects. *Archives of Diseases in Childhood*, 1990, 65, 59-67.
- 13 — D. A. APPLGARTH, et. al. — Laboratory Detection of Metabolic Disease. *Pediatric Clinics of North America*, 1989, vol. 36, nb 1, Feb.
- 14 — W. J. KLEIJER et al. — Prenatal Diagnosis of Mucopolysaccharidosis. *Human Genetics*, 1984, 66, 278-88, 19.
- 15 — CHADEFaux, B. — Eleventh Week amniocentesis for prenatal diagnosis of metabolic diseases. *Lancet*, 1989, 1, 849.
- 16 — E. LOUIE, et al. — Leukocyte sonicates as a source for both enzyme assay and DNA amplification for mutational analysis for certain lysosomal disorders. *Clin. Chim. Acta*, 1991, 199, 7-16.
- 17 — B. L. TRIGGS-RAINE et al. — Screening for Carriers of Tay-Sachs disease among Ashkenazi Jews. A comparison of DNA — Based and enzyme — based tests. *N. Engl. J. Med.*, 1990, 323, 6-12.
- 18 — GOLBUS, M. et al. — The prenatal diagnosis of glucose-6-phosphatase activity by fetal liver biopsy. *Prenat. Diagn.*, 1988, 8, 401-404.
- 19 — KLEIJER, W. — Prenatal diagnosis of Fabry's disease by direct analysis of chorionic villi. *Prenat. Diag.*, 1987, 7, 283-287.
- 20 — POENARU, L. — A variant of mucopolipidosis. *Eur. J. Pediatr.*, 1988, 147, 321-327.
- 21 — SOONG, B. W. — Multiple sulfatase deficiency. *Neurology*, 1988, 38, 1273-1275
- 22 — MYEROWITZ, R., HOGIKYAN, N. D. — A deletion involving Alu sequences in the  $\beta$ -hexosaminidase  $\alpha$ -chain gene of French Canadians with Tay-Sachs disease. *J. Biol. Chem.*, 1987, 252, 15396-15399.
- 23 — ARPAIA, E., DUMBRILL-ROSS, A., MALER, T., NEOT, K., TROPAK, M. et al. — Identification of an altered splice site in Ashkenazi Tay-Sachs disease. *Nature*, 1988, 333, 85-86.
- 24 — OHNO, K. & SUZUKI, K. — A splicing defect due to an exon-intron junctional mutation results in abnormal  $\beta$ -hexosaminidase  $\alpha$ -chain mRNAs in Ashkenazi Jewish patients with Tay-Sachs disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 153, 463-469.
- 25 — GILES, L. et al. — Aryl sulfatase isoenzymes of chorionic villi: implication for prenatal diagnosis. *Prenat. Diag.*, 1987, 7, 245-257.
- 26 — VON FIGURA, K., HASILIK, A., POHLMANN, R., BRAULK, T., LEMANSKY, P. & STEIN, M. — Mutations affecting transport and stability of lysosomal enzymes. *Enzyme*, 1987, 38, 144-153.
- 27 — D'AZZO, A., HOOGEVEN, A. T., REUSER, A. J. J., ROBINSON, D. & GALJAARD, H. — Molecular defect in combined  $\beta$ -galactosidase deficiency in man. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1982, 79, 4535-4539.
- 28 — MILLER, W. A. — Success, safety and accuracy of early amniocentesis. *Am. J. Human Genet.*, 1989, 41, 835.
- 29 — MAIRE, I., MATHIEU, M. — Possible prenatal diagnosis of type III glycogenosis. *J. Inherited Metab. Dis.*, 1986, 9, 89-91.

# Diagnóstico laboratorial da doença cardíaca de possível etiologia viral

M.<sup>a</sup> Irene P. Nunes \*

M.<sup>a</sup> Virgínia T. de Figueiredo \*

M.<sup>a</sup> Teresa Paixão \*\*

M.<sup>a</sup> Clara Carneiro \*\*

Adriana Gamboa \*\*\*

H. Rebelo de Andrade \*\*\*\*

## RESUMO

De 1983 a 1990, foram investigados 1408 casos clínicos suspeitos de doença cardíaca, tendo-se verificado que em 233 doentes (16,5 %) houve indício de infecção recente.

O diagnóstico clínico mais frequente foi o de pericardite (63,0 %) seguido pelo de miocardite (24,1 %), cardiomiopatia (9,0 %) e pelo de miopericardite (3,9 %).

Foi nítido o predomínio de doentes de sexo masculino (63,9 %), comparativamente ao número de doentes do sexo feminino (36,1 %).

Do total das 265 infecções detectadas nos 233 doentes investigados 80,8 % são atribuíveis a enterovírus (particularmente coxsackie B), 9,5 % a vírus herpes, 3,4 % a vírus da gripe, 1,1 % a vírus parainfluenza e em percentagem idêntica a adenovírus. No que respeita a infecções pelos agentes não virais *Coxiella burnetii* e *Chlamydia*, as percentagens foram de 2,6 % e 1,5 %, respectivamente.

O número elevado de infecções por vírus coxsackie B sugere que este grupo de vírus seja considerado uma importante causa de doença cardíaca.

**Palavras-chave:** Doença cardíaca, Infecções virais.

## SUMMARY

From 1983 to 1990, a total of 1408 patients with suspected cardiac disease was studied. In 233 of these patients (16,5 %) there was evidence of a recent infection.

Males were more affected (63,9 %) than females (36,1 %).

Concerning clinical diagnosis the most frequent was pericarditis (63,0 %) followed by myocarditis (24,1 %), cardiomyopathy (9,0 %) and miopericarditis (3,9 %).

From the 265 viral infections detected in 233 cases, 80,8 % were suggestive of enterovirus (particularly coxsackie B), 9,5 % of herpes virus, 3,4 % of influenza virus, 1,1 % of parainfluenza virus and 1,1 % of adenovirus.

Concerning non viral agents (*Coxiella burnetii* and *Chlamydia*) the percentage of diagnosed infections was 2,6 % and 1,5 %, respectively. The high number of coxsackie B infections suggests that this group of virus could be an important cause of cardiac disease.

## Introdução

Numerosos vírus ao infectarem os indivíduos, seja qual for a sua idade, podem lesionar o coração

e desencadear sintomatologia clínica compatível com doença cardíaca nomeadamente miocardite (2, 3, 9-12, 17-19).

Da longa lista de vírus de reconhecido cardiotropismo (Quadros I e II), destacam-se os vírus coxsackie (cox.), especialmente do grupo B, cuja potencial implicação na doença cardíaca tem vindo a despertar grande interesse científico. Clínicos e virologistas tentam, pois, evidenciar através das provas que vão reunindo (2-7, 13, 17-19) o

\* Investigadora Auxiliar do INSA.

\*\* Técnica Superior de Saúde de 1.ª Classe do INSA.

\*\*\* Assistente da Carreira Téc. Sup. Saúde do INSA.

\*\*\*\* Estagiária de Investigação do INSA.

**QUADRO I**  
**ALGUNS DOS VÍRUS CAUSADORES**  
**DE MIOCARDITE NO HOMEM**

Enterovírus	Cossackie B1-5 Cossackie A (vários) Polio
Arbovírus	Chikungunya Dengue
Rubéola	
Outros	Vírus da encefalomiocardite Influenza Sarampo Vírus Marburg

FONTE: Waterson, 1978 <sup>(18)</sup>

reconhecimento de que a doença cardíaca viral tem grandes probabilidades de estar associada a vírus coxsackie B.

Na opinião de MELNICK, 5% de todas as infecções sintomáticas por vírus coxsackie dão origem a doença cardíaca com envolvimento do endocárdio, miocárdio, pericárdio ou de todos três <sup>(15)</sup>.

**QUADRO II**  
**ENTEROVÍRUS ISOLADOS DO CORAÇÃO**  
**(GRIST, 1977)**

Coxsackie	Coração	Líquido pericárdico
A 4	2	—
A16	1	—
A 23 (echo 9)	1	—
B2	3	1
B3	2*	2
B4	6	1
B5	2*	—
B (tipo ?)	—	1
TOTAL	17	5

(\*) Uma biópsia cardíaca em cada caso

FONTE: Referido por Waterson, 1978 <sup>(18)</sup>

Além destes vírus, muitos outros tais como cox. A4, A14, A16, echo 6, echo 9, echo 22, echo 30, gripe e adenovírus se tem associado a casos de miocardite e pericardite aguda <sup>(15)</sup>.

Embora a demonstração recente de sequências de ácido ribonucleico (ARN) do vírus coxsackie B em biópsias de miocárdio obtidas não só de doentes com miocardite mas também com cardiopatia dilatada venha em reforço de uma tal associação <sup>(15)</sup>, é importante incentivar toda a investigação que contribua, definitivamente, para o melhor conhecimento da patogénese dos vírus em geral, e muito particularmente dos enterovírus, na etiologia da doença cardíaca aguda e da crónica.

Dado o grande interesse deste assunto, propusemo-nos analisar os resultados laboratoriais dos casos de doença cardíaca que investigámos durante oito anos.

**Material e métodos**

De 1983 a 1990, estudaram-se no nosso laboratório 1408 casos de doença cardíaca que agrupámos de acordo com a informação clínica recebida.

Os doentes, cujas idades estavam compreendidas entre 4 meses e os 93 anos, distribuíram-se por três grupos etários: 0-14; 15 ou mais anos e de idade ignorada, tendo sido provenientes de hospitais locais ou de outras zonas do País e ainda da clínica privada.

Além das amostras de sangue que recebemos, tivemos a preocupação de solicitarmos sempre amostras de fezes na tentativa de se conseguir isolar o responsável agente etiológico.

Quanto ao diagnóstico serológico, procedemos, de forma sistemática, à titulação de anticorpos específicos para os vírus coxsackie B 1-6 (anticorpos neutralizantes); gripe, parainfluenza, adenovírus, herpes e outros agentes não virais — coxiella burnetii e chlamydia — (anticorpos fixadores de complemento).

As técnicas usadas, quer para a titulação de anticorpos neutralizantes quer para os de fixação de complemento, foram já, anteriormente, descritas <sup>(8, 16)</sup>.

Como critério de caso «positivo», adoptámos o seguinte:

- Isolamento de vírus;
- Aumento significativo do título de anticorpos ( $\geq 4 \times$ ) detectado numa segunda amos-

tra de sangue obtida 2-3 semanas após a primeira, tendo sido estas titulações processadas em simultâneo.

- Títulos de anticorpos  $\geq 80$  (anticorpos fixadores de complemento); títulos de anticorpos  $\geq 256$  (anticorpos neutralizantes) detectados em uma ou mais amostras de sangue para um ou mais que um agente infectante.

## Resultados

Do total de 1408 casos de doença cardíaca de possível etiologia viral investigados, verificámos que, segundo o critério de «positividade» referido em **Material e Métodos**, 233 (16,5 %) foram «positivos», tendo-se detectado 265 infecções.

A distribuição por grupo etário, sexo e diagnóstico clínico dos doentes considerados «positivos» está representado no Quadro III, no qual se pode verificar que o número mais elevado

de doentes ocorreu no grupo etário de 15 ou mais anos: 195 doentes (67,2 % de sexo masculino e 32,8 % de sexo feminino) seguido pelo grupo etário de 0-14 anos com 31 doentes (42,0 % de sexo masculino e 58,0 % de sexo feminino) e pelo grupo etário cuja idade desconhecemos com 7 doentes (71,5 % de sexo masculino e 28,5 % de sexo feminino). Com excepção do grupo etário de 0-14 anos (58,0 % de doentes do sexo feminino), foi nítida nos dois restantes grupos o predomínio de doentes de sexo masculino relativamente aos do sexo feminino. No total dos doentes, esse predomínio foi de 63,9 % para os de sexo masculino e de 36,1 % para os de sexo feminino.

Quanto aos diagnósticos clínicos mais frequentes, aparece em primeiro lugar o de pericardite (63,0 %) seguido pelos de miocardite (24,1 %), de cardiomiopatia (9,0 %) e de miopericardite (3,9 %) tendo predominado em todos eles o número de doentes de sexo masculino e de forma mais evidente no grupo dos doentes com

### QUADRO III

#### DISTRIBUIÇÃO POR GRUPO ETÁRIO, SEXO E DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE 233 DOENTES COM EVIDÊNCIA DE INFECÇÃO CARDÍACA

Diagnóstico clínico	Grupo etário (anos)						Total	
	0-14		$\geq 15$		Idade ignorada		H — M	H e M
	H — M	H — M	H — M	H — M				
Pericardite	5 — 7 ( 41,7) (58,3)	90 — 41 (68,8) (31,2)	3 — 1 ( 75,0) ( 25,0)	98 — 49 (67,2) (32,8)	147 ( 63,0)			
Miocardite	4 — 8 ( 33,3) (66,7)	24 — 18 (57,2) (42,8)	2 — 0 (100,0) ( 0,0)	30 — 26 (53,6) (46,4)	56 ( 24,1)			
Miopericardite	1 — 0 (100,0) ( 0,0)	6 — 1 (85,8) (14,2)	0 — 1 ( 0,0) (100,0)	7 — 2 (77,8) (22,2)	9 ( 3,9)			
Cardiomiopatia	3 — 3 ( 50,0) (50,0)	11 — 4 (73,4) (26,6)	0 — 0 ( 0,0) ( 0,0)	14 — 7 (66,7) (33,3)	21 ( 9,0)			
<b>TOTAL</b>	13 — 18 ( 42,0) (58,0)	131 — 64 (67,2) (32,8)	5 — 2 ( 71,5) ( 28,5)	149 — 84 (63,9) (36,1)	233 (100,0)			

( ) — %

diagnóstico de miopericardite: 77,8 % de sexo masculino e 22,2 % de sexo feminino.

A distribuição por grupo etário e por grupo de vírus das 265 infecções diagnosticadas nos 233 doentes estudados está representada no Quadro IV. A análise deste quadro mostra que da totalidade

das infecções detectadas, as mais frequentes foram, e de forma muito acentuada, as originadas por enterovírus (80,8 %).

Quanto à frequência das infecções atribuíveis aos restantes vírus, verificou-se que ela variou de 9,5 % (vírus herpes) a 1,1 % (vírus parainfluenza

e adenovírus), passando por uma percentagem intermédia de 3,4 % (vírus da gripe).

Relativamente à distribuição do número de infecções por grupo etário, pode-se ainda constatar que a percentagem mais elevada diz respeito às infecções por enterovírus: 82,3 % no grupo de 15 ou mais anos, 75,0 % no grupo etário de idade ignorada e de 73,0 % no grupo de doentes de 0-14 anos.

Quanto aos restantes grupos de vírus verificou-se ter sido o vírus herpes o que ocasionou maior número de infecções: 25,0 % no grupo de idade ignorada e 9,1 % no de 15 ou mais anos. Para os vírus da gripe, parainfluenza e adenovírus o número de infecções detectadas atinge o seu valor mais elevado — e idêntico para qualquer

um deles (5,4 %) — no grupo etário dos doentes mais jovens.

No que se refere às infecções por outros agentes não virais verificámos que 2,6 % e 1,5 % foram por coxiella e por chlamydia, respectivamente.

De notar que, por grupo etário, as infecções por coxiella (3,2 %) ocorreram todas em doentes com 15 ou mais anos e que a percentagem mais elevada (2,7 %) das infecções atribuíveis a chlamydia se registou no grupo de doentes de 0-14 anos.

Para uma melhor apreciação do conteúdo do Quadro IV que acabamos de analisar, apresentamos na Fig. 1 a representação gráfica deste referido Quadro.

QUADRO IV  
TOTAL DE INFECÇÕES (n=265) DIAGNOSTICADAS EM 233 DOENTES  
DISTRIBUÍDAS POR GRUPO ETÁRIO E POR GRUPO DE VÍRUS

Grupo de vírus	Grupo etário (anos)						Total	
	0-14		≥ 15		idade ignor.		N:º	%
	N:º	%	N:º	%	N:º	%		
Enterovírus	27	73,0	181	82,3	6	75,0	214	80,8
Herpes	3	8,1	20	9,1	2	25,0	25	9,5
Gripe	2	5,4	7	3,2	0	0,0	9	3,4
Parainfluenza	2	5,4	1	0,4	0	0,0	3	1,1
Adenovírus	2	5,4	1	0,4	0	0,0	3	1,1
Outros agentes								
Coxiella	0	0,0	7	3,2	0	0,0	7	2,6
Chlamydia	1	2,7	3	1,4	0	0,0	4	1,5
TOTAL	37	14,0	220	83,0	8	3,0	265	100,0

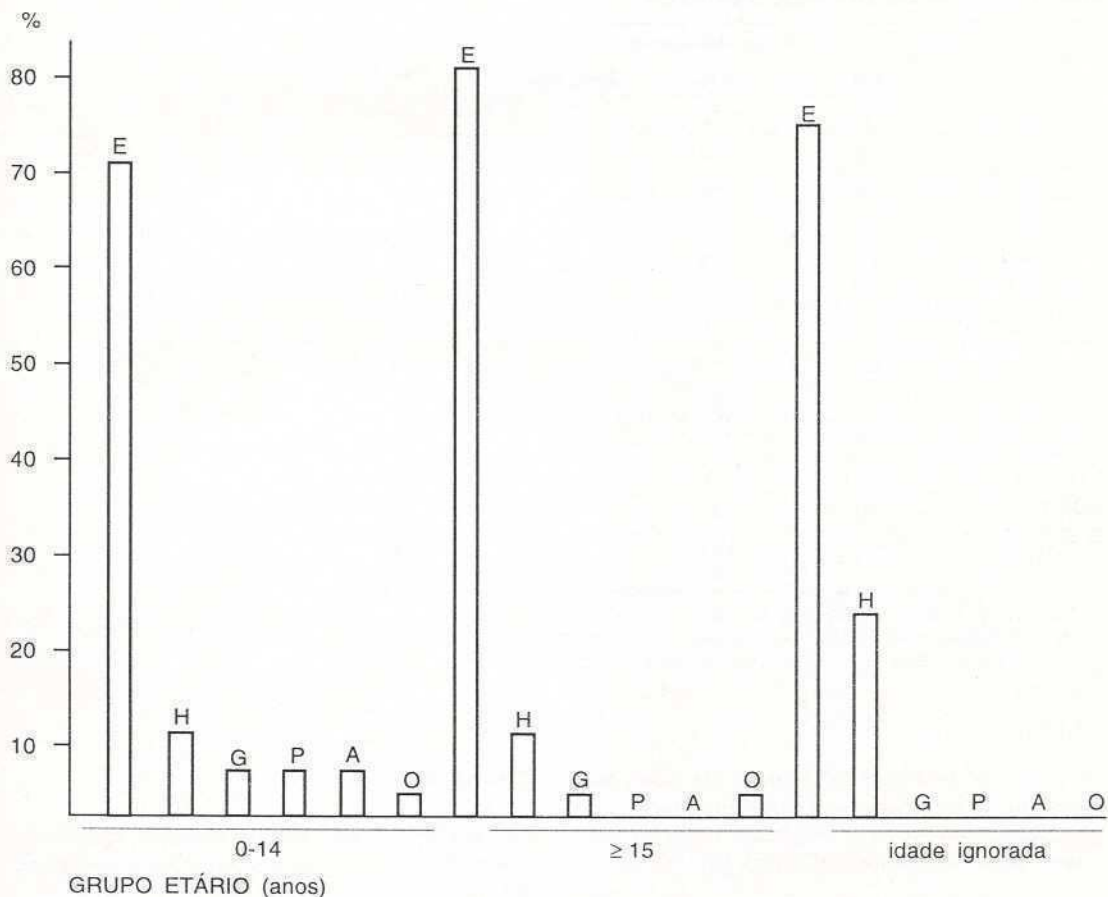
Tendo em apreço a elevada percentagem de infecções por enterovírus (80,8 %) comparativamente a todas as restantes, mostra-se no Quadro V a distribuição, por grupo etário, da frequência das infecções atribuíveis a vários serotipos deste grupo de vírus.

Assim, pode-se constatar que, de todos os serotipos identificados, o vírus coxsackie B4 é o mais frequente (101 casos) seguido dos serotipos B2 (57 casos), B3 (27 casos), B1 (12 casos) e B5 (5 casos).

De referir que no grupo etário de 15 ou mais anos no qual se registaram 181 das 214 infecções por enterovírus, a frequência dos diferentes serotipos mantém a ordem que acabamos de mencionar.

Para o grupo de 0-14 anos o serotipo B4 aparece também como o mais frequente seguido pelo serotipo B3 e pelos serotipos B1 e B2 com o mesmo número de infecções. Neste mesmo grupo de doentes não se diagnosticou nenhum caso de infecção pelo serotipo B5 assim como no

FIGURA 1  
DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS INFECÇÕES DIAGNOSTICADAS SEGUNDO O GRUPO DE VÍRUS E GRUPO ETÁRIO DOS DOENTES



E — Enterovirus; H — Vírus Herpes; G — Vírus da Gripe; P — Vírus Parainfluenza; A — Adenovirus; O — Outros agentes não virais.

grupo de idade desconhecida onde dos cinco serotipos identificados quatro foram B4 e um B2.

Relativamente ao total de infecções originadas por vírus echo (diagnosticadas por isolamento), constatámos que dos quatro serotipos identificados (echo 6, 7, 11 e 14) foi o serotipo 11 o dominante na medida em que se isolou de três dos seis doentes a excretarem vírus echo (grupo etário de 15 ou mais anos).

Igualando o número de infecções por vírus echo aparecem-nos as originadas por enterovirus serologicamente não identificáveis (6 casos) — provavelmente a mesma estirpe — isolados de doen-

tes de todos os grupos etários embora predominando no grupo dos mais jovens (3 casos).

Quanto ao número de infecções diagnosticadas ao longo dos vários meses do ano, não registámos nenhuma variação sazonal relativamente às originadas por enterovirus: 105 infecções (49,1%) nos meses de Verão-Outono e 109 infecções (50,9%) nos meses de Inverno-Primavera.

Considerando o número de infecções atribuíveis aos restantes grupos de vírus, designadamente herpes, gripe, parainfluenza, adenovirus e outros agentes não virais, verificámos ter havido

QUADRO V  
DISTRIBUIÇÃO POR GRUPO ETÁRIO DA FREQUÊNCIA  
DE INFECÇÕES POR ENTEROVÍRUS (SEROTIPO) DETECTADAS (\*)  
EM 233 CASOS DE DOENÇA CARDÍACA

Grupo de vírus	Grupo etário (anos)			Total
	0-14	≥ 15	idade ignor.	
C. B1	2	10	—	12
C. B2	2	54	1	57
C. B3	6 (1)	21	—	27 (1)
C. B4	12 (1)	85	4	101 (1)
C. B5	—	5	—	5
E6	(1)	—	—	(1)
E7	—	(1)	—	(1)
E11	—	(3)	—	(3)
E14	(1)	—	—	(1)
ENI	(3)	(2)	(1)	(6)
TOTAL	27 (7)	181 (6)	6 (1)	214 (14)

(\*) Serologia «positiva» e/ou isolamento de vírus  
( ) N.º de infecções detectadas só por isolamento  
C. — Coxsackie; E — Echo; ENI — Enterovírus não identificado

um aumento de 29,6 % no número de infecções ocorridas nos meses de Inverno-Primavera: 33 infecções (64,8 %) e 18 infecções (35,2 %) nos meses de Verão-Outono (Quadro VI).

QUADRO VI  
VARIÇÃO SAZONAL DAS INFECÇÕES  
DETECTADAS NOS 233 DOENTES  
COM DIAGNOSTICO DE DOENÇA CARDÍACA

Infecções por:	Grupo de vírus				Total
	V-O		I-P		
	N.º	%	N.º	%	
Enterovírus	105	49,1	109	50,9	214
Outros (*)	18	35,2	33	64,8	51

V — Verão; O — Outono; I — Inverno; P — Primavera  
(\*) Vírus herpes, Vírus da gripe, Vírus parainfluenza, adenovírus, e outros agentes não virais: Coxiella burnetii e Chlamydia.

## Discussão

Os resultados que temos vindo a apresentar foram obtidos na base do vulgarmente designado diagnóstico convencional, isto é, por isolamento do agente responsável e/ou por serologia sugestiva de infecção recente.

Este meio de diagnóstico — único a que a maioria dos laboratórios de virologia clínica tem tido acesso — apresenta dificuldades, especialmente no caso de vírus coxsackie B. O isolamento destes vírus falha muitas vezes pelas seguintes razões: ter a infecção ocorrido bastante tempo antes do aparecimento dos primeiros sintomas de doença e ter, nessa altura, desaparecido o vírus da orofaringe (onde se mantém apenas durante alguns dias) ou cessado já a sua excreção pelas fezes.

A não existirem estes impedimentos o isolamento viral seria o método mais simples e mais rápido a que poderíamos recorrer<sup>(10)</sup>, permitindo que os resultados laboratoriais esclarecessem um maior número de situações clínicas.

Quanto ao diagnóstico serológico, o princípio em que assenta é geral e aplicável a qualquer vírus, isto é, ser necessário demonstrar diferença significativa no título de anticorpos detectados em duas amostras de sangue. Acontece porém, não raras vezes, que a primeira colheita de sangue se faz tardiamente e os títulos de anticorpos, que no caso dos enterovírus sobem rapidamente, são idênticos ou apresentam subida não significativa.

Nestas circunstâncias, tem-se adoptado um critério interpretativo baseado no nível de anticorpos, partindo do princípio de que quanto mais elevado, maior a probabilidade de se estar perante uma infecção recente <sup>(1)</sup>.

Evidentemente que o referido critério não pode ser muito seguro. Só a coexistência do isolamento viral com a subida de anticorpos específicos nos poderá ajudar a estabelecer diagnósticos mais realistas.

Os títulos de anticorpos que estabelecemos como valores referenciais para «positividade» basearam-se na experiência de outros <sup>(1-3)</sup> e na nossa própria, adquirida em estudos prévios realizados em 1980, na população portuguesa do continente <sup>(16)</sup>.

Feitas estas ressalvas, podemos concluir dos resultados obtidos que os enterovírus, nomeadamente vírus coxsackie B, representaram o grupo de vírus com maior implicação nos casos de doença cardíaca investigados por nós e igualmente referenciados como tal em várias publicações <sup>(2, 3, 10, 12, 17, 18)</sup>.

No que respeita ao serotipo mais frequente, já tivemos ocasião de referir ter sido o vírus coxsackie B4 o que deu origem ao número mais elevado de infecções detectadas nestes doentes (101 casos), (Quadro V), resultado a concordar com a frequência de anticorpos neutralizantes para este serotipo detectada na amostra da população abrangida pelo estudo de 1980, isto é, numa frequência de 40,4% — a mais elevada de todas estimada naquele ano: 5,3% (cox. B1); 20,2% (cox. B2); 24,8% (cox. B3); 13,5% (cox. B5) e 0,5% (cox. B6) <sup>(16)</sup>.

O número de infecções pelo serotipo B2 (57 casos), (Quadro V) está também concordante com a seropositividade de 20,2% detectada na população estudada em 1980.

Quanto ao vírus coxsackie B3, e ao número de infecções por ele originadas, talvez pudéssemos esperar, de acordo com os conhecimentos adquiridos previamente <sup>(16)</sup>, que as infecções por vírus coxsackie B3 fossem mais frequentes que as atribuídas ao serotipo B2 o que só aconteceu no

grupo etário de 0-14 anos em cujos doentes se detectaram seis infecções por vírus coxsackie B3 e apenas duas por coxsackie B2.

Não podemos deixar de realçar o facto de termos encontrado uma percentagem de 9,5% para as infecções originadas por vírus herpes, valor que se destaca das percentagens referentes aos vírus da gripe, parainfluenza, adenovírus e outros agentes não virais considerados (Quadro V).

Embora não constando em nenhum Quadro, queremos salientar que em quatro doentes com infecção por vírus herpes, houve também indício de infecção por vírus coxsackie B, associação que se manifestou ainda em mais dois doentes com diagnóstico laboratorial de gripe e em outros dois com infecção por vírus parainfluenza e por adenovírus.

Se bem que o cardiotropismo do vírus herpes não tenha sido mencionado tantas vezes quantas a do vírus coxsackie B, alguns autores não deixaram de referir as suas afinidades cardíacas <sup>(9, 12)</sup>.

Quanto ao predomínio de doentes do sexo masculino que detectámos no grupo de doentes estudados, tem sido também referido em estudos semelhantes <sup>(3, 13)</sup>. No entanto, a variação sazonal assinalada por alguns investigadores associando as épocas de maior incidência de enterovírus com casos de doença cardíaca <sup>(3, 13)</sup> não se tornou evidente nos nossos doentes.

O aumento de 29,6% verificado no número de casos ocorridos nos meses de Inverno-Primavera, considerando as 51 infecções originadas por outros agentes que não enterovírus (Quadro VI), traduzem, certamente, o efeito da maior incidência de infecções virais nos meses de Inverno originadas por vírus de nitido tropismo para as vias respiratórias.

Alguns investigadores chamam mesmo a atenção para os casos de morte súbita que, ocasionalmente, ocorrem durante epidemias de gripe atribuídas, em princípio, a pneumonia e que de facto podem ocorrer fundamentalmente por falha do miocárdio e não como consequência da doença pulmonar <sup>(14)</sup>.

No que diz respeito aos agentes não virais já mencionados e sua possível implicação nos casos de doença cardíaca presentes, verificámos que o número mais elevado de casos está relacionado com *Coxiella burnetii*, envolvendo unicamente doentes de 15 ou mais anos.

Na realidade, este agente não deixa de ser referido como importante invasor, pouco vulgar, capaz de causar endocardite infecciosa, para além da sua capacidade de poder desencadear,

no mesmo doente, miocardite, pericardite e pleurisia<sup>(14)</sup>.

Cientes das limitações do nosso meio de diagnóstico, aguardamos com expectativa que as novas tecnologias da área da biologia molecular se tornem extensivas a qualquer diagnóstico virológico, seja qual for o vírus em causa, de modo a que os laboratórios passem a dispor de métodos e técnicas rápidas, sensíveis e específicas. Só assim o laboratório de virologia poderá dar ao clínico o apoio por ele esperado do qual, algumas vezes, depende o diagnóstico diferencial e, obviamente, a terapêutica a instituir ao doente.

### Agradecimentos

As Sras. D. Arminda Perez Pardal, Gilda Mareco Costa, Simone Chrystello, M.<sup>a</sup> Lourdes Oliveira e M.<sup>a</sup> José Oliveira expressamos os nossos agradecimentos pela colaboração técnica prestada.

Os nossos agradecimentos são também extensivos à Sr.<sup>a</sup> D. Virgínia Eliás pela dactilografia do trabalho.

### BIBLIOGRAFIA

- 1 — BELL, E. J.; McCARTNEY, R. A. — Serological diagnosis of coxsackie B virus infections. 1972-83. *Comunic. Dis. Scott. Weekly Rep.*, 24, 1984, 10-13.
- 2 — BELL, E. J.; GRIST, N. R. — Further studies of enterovirus infections in cardiac disease and pleurodynia. *Scand. J. Dis.*, 2, 1970, 1-6.
- 3 — BELL, E. J.; GRIST, N. R. — Enterovirus and heart disease. *Cardiology Digest*, 7, 1972, 11-14.
- 4 — BORDALO-SA, A. L.; ANTUNES, F.; NUNES, M. I.; PAIXÃO, M. T.; RIBEIRO, C. — Infecção por vírus coxsackie B em doentes jovens com enfarte agudo do miocárdio. XI Congresso Hispano-Luso de Cardiologia. Sevilha, 1990.
- 5 — BORDALO-SA, A. L.; ANTUNES, F.; PAIXÃO, M. T.; NUNES, M. I.; RIBEIRO, C. — A problemática do vírus coxsackie B em cardiologia. Congresso Luso-Espanhol de Cardiologia/3.<sup>o</sup> Congresso Ibero-Americano de Cardiologia/4.<sup>o</sup> Simpósio Luso-Brasileiro de Cardiologia. Lisboa, 1986.
- 6 — BORDALO-SA, A. L.; SANTOS, A. L.; ANTUNES, F.; PAIXÃO, M. I.; NUNES, M. I.; RIBEIRO, C. — Necrose miocárdica aguda provocada por infecção pelos vírus coxsackie B4. *Rev. Port. Cardiol.*, 6 (2), 1987, 197-202.
- 7 — EL-HAGRASSY, M. M. O.; BANATVALA, J. E.; COLTART, D. J. — Coxsackie-B-virus-specific Ig M responses in patients with cardiac and other diseases. *Lancet*, 1, 1980, 1160-62.
- 8 — FIGUEIREDO, M. V.; CATRY, M. A.; CARNEIRO, M. C. — Incidência dos vírus da gripe, parainfluenza, respiratório sincial, adenovírus e micoplasma pneumoniae em Lisboa durante o Inverno, nos anos de 1978-79, 1979-80 e 1980-81. *Arq. Inst. Nac. Saúde*, 6, 1981, 329-39.
- 9 — FUJIMOTO, T. T.; KATOH, C.; HAYAKAWA, H.; YOKOTA, M.; KIMURA, E. — Two cases of rubella infection with cardiac involvement. *Jpn. Heart J.*, 20 (2), 1979, 227-35.
- 10 — GRIST, N. R.; BELL, E. J. — A six-year study of coxsackie virus B infections in heart disease. *J. Hyg (Camb.)*, 73, 1974, 165-72.
- 11 — KAWAI, C.; MATSUMORI, A.; FUJIWARA, H. — Myocarditis and dilated cardiomyopathy. *Ann. Rev. Med.*, 38, 1987, 221-39.
- 12 — LANSDWOWN, A. B. G. — Viral infections and diseases of the heart. In: *Prog. Med. Virol.*, vol. 24 (BASEL KARGER 1978), 70-113.
- 13 — LAU, R. C. H. — Coxsackie B virus infections in New Zealand patients with cardiac and noncardiac diseases. *J. Med. Virol.*, 11, 1983, 131-37.
- 14 — LEWES, D. — Viral myocarditis. *The Practitioner*, 216, 1976, 281-87.
- 15 — MELNICK, J. L. — Poliovirus, Coxsackie Viruses, Echoviruses and New Enteroviruses. In: *Virology 2* ed edited by Fields and Kriple et al. **Raven Press** (New York) 1990, 596-605.
- 16 — NUNES, M. I.; PAIXÃO, M. T. — Prevalência de anticorpos anti-coxsackie B na população portuguesa. 4.<sup>as</sup> Jornadas de Doenças Infecciosas. Porto, 1985.
- 17 — VAN REKEN, D.; STRAUSS, A.; HERNANDEZ, A.; FEIGIN, R. — Infectious pericarditis in children. *J. Pediat.*, 85 (2), 1974, 165-69.
- 18 — WATERSON, A. P. — Virological investigations in congestive cardiomyopathy. *Postgrad. Med. J.*, 54, 1978, 505-7.
- 19 — WOODRUFF, J. F. — Viral myocarditis. *Am. Assoc. Pathol.*, 101 (2), 1980, 427-84.

# Diagnóstico etiológico das infecções virais do sistema nervoso central

## Experiência do Serviço de Virologia do INSA (1983-1990)

M.<sup>a</sup> Virgínia T. de Figueiredo \*

M.<sup>a</sup> Irene P. Nunes \*

M.<sup>a</sup> Clara Carneiro \*\*

M.<sup>a</sup> Teresa Paixão \*\*

H. Rebelo de Andrade \*\*\*

Adriana Gamboa \*\*\*\*

### RESUMO

O presente trabalho analisa os dados laboratoriais obtidos no Serviço de Virologia do INSA, em 3372 casos de doenças do Sistema Nervoso Central (SNC) de possível etiologia viral, ocorridos durante 8 anos (1983-90).

Em 25,5 % dos casos estudados foi detectado um ou mais agentes presumivelmente responsáveis pela situação clínica. 88,0 % das infecções detectadas provieram de amostras de crianças (grupo etário 0-14 anos); 62,6 % de indivíduos do sexo masculino.

Em 1079 agentes etiológicos detectados, 53,5 % são enterovírus, 31,7 % myxovírus, 9,6 % pertencem ao grupo herpes e 5,0 % aos adenovírus.

No grupo dos myxovírus, o vírus da parotidite epidémica é o responsável por 47,4 % destas infecções e por 15 % se considerarmos a globalidade dos vírus detectados.

Verificou-se ainda o aspecto sazonal de algumas infecções virais.

### SUMMARY

Surveillance of CNS (Central Nervous System) diseases of suspected viral etiology has been a task performed by our laboratory for a very long time.

In this study, carried out between 1983-1990, laboratory findings were obtained in 25,5 % of the cases studied.

Eighty eight per cent of the positive cases occurred in children. Of all positive cases 62 % occurred in male.

Over half of all viral neurological diseases were associated with enterovirus (53,5 %), while the myxovirus accounted for 31,7 %. Among the myxovirus, mumps virus was by far the most frequently reported (47,4 %).

### Introdução

A vigilância das doenças do sistema nervoso central (SNC) de possível etiologia viral tem sido preocupação do Laboratório de Virologia do INSA há longos anos, na medida em que não só fornece

dados sobre a ocorrência epidémica ou endémica dos vírus neurotrópicos, como ainda poderá detectar a existência de vírus pouco usuais.

Os vírus podem afectar o SNC de diversas maneiras. Embora se conheça bastante sobre a natureza e replicação viral, a correlação entre o neurotropismo viral e os padrões clínicos ou tipos de alterações patológicas é ainda em parte imprevisível.

Vírus que diferem grandemente na morfologia, composição química e replicação, podem causar no SNC alterações clínicas e patológicas idênticas.

\* Investigadora Auxiliar do INSA.

\*\* Técnica Superior de Saúde de 1.ª Classe do INSA.

\*\*\* Estagiária de Investigação do INSA.

\*\*\*\* Assistente da Carreira Téc. Sup. Saúde do INSA.

As meningites assépticas, as encefalites e as meningoencefalites foram as situações clínicas mais frequentemente referidas nos doentes estudados. No entanto, recebemos grande percentagem de produtos, acompanhados de informações clínicas insuficientes, pelo que nem sempre foi possível associar a etiologia encontrada com os vários tipos de padrões clínicos descritos.

Nas infecções do SNC distinguem-se dois grandes grupos: as infecções «agudas» e as infecções «crónicas progressivas». Na doença aguda as alterações neurológicas ocorrem logo após a primeira infecção num período de uma a várias semanas.

Na doença crónica progressiva (em que o agente se comporta como vírus lento) as alterações neurológicas surgem meses ou anos após a invasão viral, como é o caso, por exemplo, do vírus do sarampo nas Panencefalites Esclerosantes Subagudas (PEES).

As infecções do SNC têm ainda uma marcada dependência do sexo e idade. Na literatura vemos habitualmente referido que as crianças e os adolescentes são o grupo etário mais afectado e o sexo masculino mais do que o feminino.

## Material e métodos

Fizemos o estudo retrospectivo de 3372 doentes com infecções do SNC de possível etiologia viral, dos quais foram enviados produtos para análise virológica ao nosso serviço, de 1983 a 1990 (Quadro I).

Os doentes eram provenientes dos Hospitais Centrais (a maioria), de Hospitais Distritais e ainda alguns de clínicas privadas.

QUADRO I  
INFECÇÕES DO SNC  
RESULTADOS LABORATORIAIS

	N.º de doentes estudados	%
Positivos *	861	25,5
Negativos **	2511	74,5
TOTAIS	3372	100

\* Infecções detectadas por isolamento ou serologia

\*\* Em 393 doentes foi feito estudo completo (isolamento e estudo serológico).

Em 2118 o estudo foi incompleto (ausência de amostras para isolamento viral ou de soros para estudos serológicos).

O isolamento dos possíveis agentes etiológicos foi feito em culturas celulares, a partir dos LCR e/ou exudados faríngeos e fezes. O diagnóstico serológico foi feito em pares de soros, sempre que possível, sendo titulados sistematicamente anticorpos específicos: neutralizantes para os vírus coxsackie B1-6 e anticorpos fixadores do complemento para myxovirus (gripe A, gripe B, parainfluenza tipos 1 e 3, parotidite epidémica e vírus do sarampo) para os adenovírus, para herpes simplex e herpes zoster e ainda para os agentes não virais, grupo clamídia e coxiella burnetii.

As técnicas usadas tanto para o isolamento viral, como para os estudos serológicos, titulações de anticorpos neutralizantes e anticorpos fixadores do complemento foram anteriormente descritas <sup>(10), (3)</sup>, e as aconselhadas pela OMS para fins idênticos <sup>(2)</sup>.

Como critério de «positividade presuntiva» adoptamos o isolamento de vírus e/ou seroconversão ou subida significativa do título de anticorpos específicos (subida de pelo menos 4 vezes) em pares de soros, colhidos o primeiro, precocemente, na fase aguda da doença e o segundo duas a três semanas depois. Em soros isolados da fase de convalescença, considerámos títulos significativos  $\geq 1/256$  para os anticorpos neutralizantes e  $\geq 1/80$  para os anticorpos fixadores do complemento <sup>(7)</sup>. Estes títulos estão acima dos valores habitualmente encontrados na população assintomática.

## Resultados

### 1. Frequência viral

Pela análise de Quadro II podemos verificar que os enterovírus foram responsáveis por 53,5 % das infecções detectadas, enquanto os myxovirus por 31,7 % das mesmas; a seguir em ordem de grandeza aparecem o grupo herpes com 9,6 % e os adenovirus com 5,0 %.

No grupo dos myxovirus, a parotidite epidémica foi responsável por 47,4 % das infecções detectadas; considerando-se a globalidade dos vírus este valor é de 15 %.

### 2. Distribuição etária

Pela análise do Quadro III verificamos que 88,0 % dos vírus detectados provêm de crianças, do

**QUADRO II**  
**FREQUÊNCIA RELATIVA DOS VÁRIOS**  
**GRUPOS DE VÍRUS NAS INFECÇÕES DO SNC**  
**ESTUDADAS**

Vírus	N.º	%
Enterovírus	577	53,5
Mixovírus	342	31,7
Gripe (A+B)	44	4,1
Parainfluenza	89	8,2
Parotidite ep.	162	15,0
Sarampo	47	4,4
Grupo herpes	104	9,6
Herpes simplex	89	8,2
Herpes zoster	15	1,4
Adenovírus	54	5,0
Outros agentes (Clamídia/F.Q.)	2	0,2
<b>TOTAIS</b>	<b>1079</b>	<b>100,0</b>

grupo etário dos 0-14 anos. Neste grupo etário, os vírus parainfluenza aparecem numa percentagem de 98,9, os vírus da parotidite epidémica de 95,7,

**QUADRO III**  
**FREQUÊNCIA RELATIVA DAS INFECÇÕES**  
**DO SNC POR GRUPO ETÁRIO**

Vírus associados	Grupos etários			
	0-14		≥ 15	
	N.º	%	N.º	%
Enterovírus	517	89,6	60	10,4
Gripe (A+B)	34	77,3	10	22,7
Parainfluenza	88	98,9	1	1,1
Parotidite ep.	155	95,7	7	4,3
Sarampo	34	72,3	13	27,7
Herpes simplex	60	67,4	29	32,6
Herpes zoster	11	73,3	4	26,7
Adenovírus	50	92,6	4	7,4
Outros agentes (Clamídia/F.Q.)	1	—	1	—
<b>TOTAL</b>	<b>950</b>	<b>88,0</b>	<b>129</b>	<b>12,0</b>

os adenovírus de 92,6, e os enterovírus de 89,6. No grupo etário dos adultos, idade ≥ 15 anos, o vírus herpes simplex foi o vírus que maior incidência apresentou (32,5). Seguiram-se os vírus do sarampo, herpes zoster e gripe com uma percentagem de respectivamente 27,7, 26,7 e 22,7. Os vírus que menor peso revelaram foram os vírus parainfluenza (1,1 %) e parotidite epidémica (4,3 %).

**3. Distribuição relacionada com o sexo**

Pela análise do Quadro IV verificámos que dos 861 casos em que se encontrou uma presumível etiologia viral o sexo masculino foi o mais afectado (62,6 % dos casos).

**QUADRO IV**  
**DISTRIBUIÇÃO POR SEXO DOS CASOS**  
**POSITIVOS**

	N.º de casos positivos	%
Sexo masculino	540	62,6
Sexo feminino	321	37,4
<b>TOTAIS</b>	<b>861</b>	<b>100,0</b>

**4. Distribuição sazonal**

Pela análise do Quadro V, verificamos que, considerados globalmente os vários agentes etiológicos, não se observou variação sazonal significativa. Os valores percentuais de positividade variaram nas quatro estações do ano, de 20,2 no Outono a 29,9 na Primavera.

Em relação aos enterovírus o valor percentual mais elevado verificou-se na Primavera (30,7), não se observando grandes diferenças em relação às outras épocas do ano.

Relativamente aos myxovírus, observou-se no Inverno acentuado predomínio de infecções atribuíveis ao vírus da gripe (58,2 %). As infecções por vírus parainfluenza ocorreram predominantemente na Primavera e no Outono, com os valores de 39,3 % e 37,1 % respectivamente.

As infecções pelos vírus da parotidite epidémica predominaram no Verão com um valor de 39,5 %.

As infecções pelo vírus do sarampo tiveram a percentagem máxima no Inverno com o valor de 38,3.

Ao observarmos o Quadro VI, verificamos que dos 47 casos em que o vírus do sarampo esteve envolvido, 38,3 % foram panencefalites esclerosan-

QUADRO V

VARIAÇÃO SAZONAL DA FREQUÊNCIA RELATIVA DOS VÁRIOS GRUPOS DE VÍRUS NAS DOENÇAS DO SNC

Vírus	Total	Inv.	%	Prim.	%	Verão	%	Out.	%
Enterovírus	577	145	25,1	177	30,7	125	21,7	130	22,5
Mixovírus	342	83	24,3	105	30,7	104	30,4	50	14,6
Gripe	44	30	68,2	5	11,4	2	4,5	7	15,9
Parainfluenza	89	5	5,6	35	39,3	33	37,1	16	18,0
Parotidite ep.	162	30	18,5	51	31,5	64	39,5	17	10,5
Sarampo	47	18	38,3	14	29,8	5	10,6	10	21,3
Adenovírus	54	9	16,7	18	33,3	16	29,6	11	20,4
Grupo herpes	104	21	20,1	22	21,2	35	33,7	26	25,0
Herpes simplex	89	16	18,0	17	19,1	30	33,7	26	29,2
Herpes zoster	15	5	33,3	5	33,3	5	33,3	—	—
Outros agentes (Clamídia/F.Q.)	2	—	—	1	—	—	—	1	—
<b>TOTAIS</b>	<b>1079</b>	<b>258</b>	<b>23,9</b>	<b>323</b>	<b>29,9</b>	<b>280</b>	<b>26,0</b>	<b>218</b>	<b>20,2</b>

tes subagudas (PEES). Este valor representa 1,7 % das (1079) infecções detectadas.

66,7 % das PEES foram observadas em crianças de idade ≤ 9 anos e 88,9 % em indivíduos com idades ≤ 25 anos (Quadro VII).

As infecções pelos vírus herpes simplex foram predominantes no Verão e no Outono com valores de 33,7 % e 25 % respectivamente.

Em relação ao vírus herpes zoster não foi detectada qualquer infecção no Outono e não foram observadas variações de incidência nas outras estações do ano, sendo a percentagem de 33,3.

As infecções por adenovírus foram predominantes na Primavera e no Verão com valores respectivamente de 33,3 % e 29,6 %.

5. Infecções mistas

Pela observação do Quadro VIII, verificamos que em 11,0 % das 1079 infecções detectadas houve mais do que um vírus presumivelmente envolvido.

QUADRO VI

FREQUÊNCIA DAS INFECÇÕES POR V. SARAMPO EM ENCEFALITES E PEES

	N.º total	%
Encefalites	29	61,7
PEES	18	38,3
<b>TOTAIS</b>	<b>47</b>	<b>100</b>

QUADRO VII

INFECÇÕES DO SNC RESULTADOS LABORATORIAIS

	Grupo etário	%
PEES	≤ 9 anos	66,7
	≤ 25 anos	88,9

Em 3,5 % dos casos estiveram presentes dois tipos diferentes de enterovírus e em 3,1 % um enterovírus e um myxovírus.

As outras associações verificadas tiveram uma expressão percentual baixa, como se pode verificar no referido quadro. Outros autores referem também a detecção simultânea de mais de um agente<sup>(5)</sup> presumivelmente envolvidos nas patologias em estudo.

#### QUADRO VIII GRUPOS DE VÍRUS ENVOLVIDOS EM INFECÇÕES MISTAS DO SNC

Vírus associados em infecções mistas	N.º total	%
Enterovírus		
2 Tipos diferentes	38	3,5
3 Tipos diferentes	10	0,9
+ Mixovírus	33	3,1
+ <i>Herpes simplex</i>	9	0,8
+ Adenovírus	5	0,5
Mixovírus		
2 Tipos diferentes	19	1,8
+ Herpes s.	2	0,2
+ Adenovírus	2	0,2
<i>Herpes simplex</i>		
+ Sarampo	2	0,2
+ Adenovírus	1	0,1
<b>TOTAIS</b>	<b>119</b>	<b>11,0</b>

No entanto, quando se observam infecções simultâneas por mais de um vírus ou pelo menos infecções pouco espaçadas por dois ou mais vírus diferentes é muito difícil julgar do papel etiológico de cada um deles.

#### Discussão

As infecções do SNC compreendem um largo espectro de «quadros clínicos». São habitualmente designadas por meningites assépticas, encefalites, meningoencefalites, encefalomielite, etc., de acordo com o síndrome primariamente manifestado.

Como foi referido na introdução, no presente estudo não foi possível associar sempre a etiologia encontrada com o quadro patológico, por

insuficientes dados da história clínica que nos foi enviada com as amostras para análise.

Uma infecção activa do SNC é confirmada laboratorialmente por:

- isolamento do vírus do LCR ou de células cerebrais.
- estudos serológicos em que se verifique seroconversão ou subida significativa do título de anticorpos específicos em pares de soros tendo sido o primeiro colhido na fase aguda da doença e o segundo duas a três semanas depois.

No presente estudo nem sempre foi possível cumprir estes dois requisitos, visto que em alguns casos não nos foram enviadas amostras de LCR para o isolamento viral, nem as duas amostras de soro para pesquisa de anticorpos.

Em serologia foi considerado diagnóstico «presuntivo», sempre que se encontraram títulos de anticorpos, acima dos títulos médios habituais, como foi referido em «Material e Métodos».

Este critério para um diagnóstico «presuntivo» é também adoptado por outros autores<sup>(7)</sup>.

Com os condicionalismos referidos, conseguiu-se um diagnóstico etiológico em 25,5 % dos casos estudados. Este valor é um pouco mais baixo do que o referido em outros trabalhos<sup>(5)</sup>.

Temos esperança que num futuro próximo, conseguindo melhorar a colaboração clínica-laboratório, se consigam melhores resultados.

É habitualmente referido na literatura que as infecções do sistema nervoso central são infecções relativamente comuns, particularmente nas crianças<sup>(2)(3)</sup> e adolescentes<sup>(7)(10)</sup> afectando mais o sexo masculino do que o feminino<sup>(16)(2)(3)</sup>.

Entre nós fizemos idênticas observações.

Como também é referido por outros autores<sup>(14)</sup> os enterovírus foram no presente estudo os vírus neuropatogénicos mais encontrados (53,5 %). A OMS<sup>(2)</sup> refere o envolvimento destes vírus em 48 % dos casos que lhe foram comunicados pelos países europeus e em 64 % pelos países da América do Norte e Pacífico.

Portugal, segundo os valores por nós encontrados, situa-se assim, numa posição intermédia.

Para os países em vias de desenvolvimento, e relativamente aos enterovírus os valores referidos pela OMS são de 97-100 % neste tipo de patologia.

O vírus da parotidite epidémica é reconhecido como sendo uma das causas mais comuns de doença neurológica<sup>(16)(13)</sup>.

Entre nós, foi o responsável por 15 % das infecções virais do SNC detectadas, aparecendo assim, em segundo lugar, na responsabilidade por este tipo de patologia. Em <sup>(2)</sup> é referido, para estes vírus, o valor de 27 % para a região europeia e 15 % para a América do Norte e Pacífico. Estes valores não se afastam muito dos por nós encontrados.

No grupo dos myxovirus há ainda a salientar o envolvimento dos virus parainfluenza, numa percentagem relativamente importante, de 8,2 %. Para as regiões europeia e América do Norte e Pacífico, a OMS refere valores de 1,2 % e 1,3 % significativamente inferiores aos por nós encontrados.

No presente estudo encontramos a seguir em peso relativo, o grupo herpes e os adenovirus respectivamente com valores 9,6 e 5,0 %. Em <sup>(2)</sup> é referido para a Europa os valores percentuais de 8,4 e 5,5 para a América do Norte e Pacífico, valores próximos destes.

Parece-nos ainda de salientar o envolvimento, neste tipo de patologia, dos vírus da gripe em 4,1 % no caso português comparável aos 3,4 % referidos para a região europeia; para a América do Norte e Pacífico os valores que a OMS indica são muito próximos destes.

O vírus do sarampo entre nós aparece-nos em 4,4 % dos agentes etiológicos detectados; a OMS indica o valor de 2,1 % para a Europa.

O vírus do sarampo provoca em «alguns» dos indivíduos atingidos uma infecção do SNC persistente, a PEES, que pode ocorrer entre 1 a 6 ou mais anos, após a infecção primária aguda.

A PEES é considerada uma doença relativamente rara, 1 caso/milhão <sup>(9)</sup>, e ainda está por esclarecer porque só alguns dos indivíduos infectados desenvolvem esta encefalite progressiva que evolui para a morte.

No possível envolvimento dos vírus do sarampo nos 47 casos por nós estudados nestes 8 anos, é de salientar 18 casos de PEES (38,3 %).

### Agradecimentos

Às Sr.as D. M.a de Lourdes Oliveira, M.a José Oliveira, Arminda Pardal, Gilda Mareco Costa e Simone Crystello, os nossos melhores agradecimentos pela colaboração técnica prestada.

### BIBLIOGRAFIA

1 — ALVES, D.; MONTEIRO, L. — Algumas considerações sobre meningites por vírus da Parotidite epidémica (a propósito de dois casos clínicos). *Rev. Infecto-contag.* 4, 1983, 241-244.

- 2 — ASSAD, F.; GISPEN, R.; KLEEMOLA, M.; SYRUCZEK, L.; ESTEVES, K. — Neurological diseases associated with viral and mycoplasma pneumoniae infections. *Bull. WHO*, 58 (12), 1980, 297-311.
- 3 — CHONMAITRE, T. et al. — The clinical relevance of CSF viral culture. *JAMA*, 13, 1982, 247.
- 4 — CHONMAITRE, T. et al. — Role of the virology laboratory in diagnosis and management of patients with Central Nervous System Disease. *Clin. Microb. Reviews*, 2, 1989, 1.
- 5 — DEIBEL, R.; SMITH, V. — Central Nervous System Infection in New York State. *N. Y. State J. Med.*, 73 (15) 1973, 1953-1957.
- 6 — DEIBEL, R.; FLANAGAN, T.; SMITH, V. — Central Nervous System Infections in New York States. *New York State Journal of Medicine*, 75 (13), 1975, 2337-2342.
- 7 — DEIBEL, R.; FLANAGAN, T.; SMITH, V. — Central Nervous System Infections. *New York State Journal of Medicine*, 77 (7), 1977, 1398-1404.
- 8 — FELGENHAUER, K.; ACKERMANN, R.; SCHLIEP, G. — The process dynamics of viral and bacterial disease of the Central Nervous System. *J. of the Neurological Sciences*, 47, 1980, 21-34.
- 9 — FERREIRA, M. W. F. C. — Mecanismos da Panencefalite esclerosante subaguda. *Rev. Port. Doenças Infecciosas*, 5, 1982, 137-140.
- 10 — FIGUEIREDO, M. V. T.; CARNEIRO, M. C. — Etiologia viral das Doenças Respiratórias Agudas em doentes internados em Hospitais da área de Lisboa. *Arq. do INSA*, 12, 1987, 119-127.
- 11 — KOHL, S. — Herpes simplex virus encephalitis during childhood: importance of brain biopsy diagnosis. *The J. of Pediatrics*, 107, 1985, 2.
- 12 — KRUGMAN, S. et al. — Infections Diseases of children. Aseptic meningitis. Ed. c. v. Company, 168, 1981.
- 13 — RATZAN, K. R. — Viral meningitis. *Med. Clin. of North America*, 69, 1985, 2.
- 14 — THIVIERGE, B. et al. — Infections du système nerveuse central à enterovirus: 223 cas vus à un Hôpital pédiatrique. *CMA Journal*, 127, 1982, 1.
- 15 — TOMÉ, T.; PÓVOA, V.; d'O, L.; CARDOSO, H.; ROQUE, A. M. — Meningites linfocitárias (aspectos clínicos e prognósticos — revisão 678 casos). *Rev. Port. Doenças Infecciosas*, 8, 1985, 1 a 4.
- 16 — WANG, D. e outros — Acute viral infection of the central nervous system in children on 8 year review. *Canad. Med. Assoc. G.* 125, 1981, 15.

# Adenosina desaminase (ADA) no diagnóstico da pleuresia tuberculosa e meningite tuberculosa. Método comparado com estudos bacteriológicos \*

Edna Pereira Martins \*\*

Maria Conceição Magalhães \*\*\*

Laura Maria Botelho \*\*\*\*

Maria Fernanda Pereira \*\*\*\*\*

## RESUMO

A actividade da adenosina desaminase (ADA) foi doseada em 60 líquidos pleurais e 20 líquidos cefaloraquídios de doentes suspeitos de tuberculose.

Esta actividade foi comparada com os métodos bacteriológicos.

As culturas de *M. tuberculosis* foram positivas em apenas 11 doentes. Doentes com tuberculose apresentam geralmente actividade da ADA entre 40-160 U/L em líquidos pleurais, sendo esta actividade significativamente mais baixa em líquidos cefaloraquídios.

Os resultados apresentados mostram o interesse deste ensaio, como diagnóstico presuntivo e rápido da tuberculose.

Este estudo irá prosseguir para permitir conclusões mais seguras.

**Palavras-chave:** Adenosina Desaminase. Líquido Pleural. Líquido Cefaloraquídio.

## SUMMARY

Adenosine deaminase (ADA) activity was measured in 60 pleural fluid and 20 cerebrospinal fluid of patients suspected of tuberculosis. This activity was compared to culture methods.

The cultures of *M. tuberculosis* were positive in 11 patients only.

Patients with tuberculosis usually presented ADA activity between 40-160 U/L in pleural fluid while in cerebrospinal fluid it was lower.

Results will be presented to show the interest of this assay as a diagnostic indicator of tuberculosis.

More complete studies of this activity will be performed.

**Keywords:** Adenosine Deaminase. Pleural Fluid. Cerebrospinal Fluid.

\* Trabalho apresentado em: 13th Annual Conference of the European Society for Mycobacteriology — Regensburg 1992 (Poster); I Congresso Internacional sobre Diagnóstico Laboratorial — Coimbra 1992 (Poster); VII Congresso do SPPR — Póvoa do Varzim 1992 (Comunicação livre).

\*\* Técnica Superior de Saúde Assistente do Laboratório de Tuberculose do INSA (Delegação do Porto).

\*\*\* Técnica de Diagnóstico e Terapêutica de 2.ª classe do Laboratório de Tuberculose do INSA (Delegação do Porto).

\*\*\*\* Técnica de Diagnóstico e Terapêutica de 1.ª classe do Laboratório de Tuberculose do INSA (Delegação do Porto).

\*\*\*\*\* Investigadora Auxiliar, responsável do Laboratório de Tuberculose do INSA (Delegação do Porto).

## Introdução

Adenosina desaminase (ADA) é uma enzima que tem uma ampla distribuição por todo o organismo humano, sendo no entanto a sua maior actividade no tecido linfoide, mais propriamente na subpopulação de linfócitos T. Sendo assim, não é de estranhar que a actividade da enzima ADA se encontre aumentada em casos de pleuresia tuberculosa, pois actualmente considera-se o derrame pleural de origem tuberculosa, como uma manifestação de hipersensibilidade retardada. São precisamente os linfócitos T os que proliferam em presença dos antígenos micobacterianos e predominam no líquido pleural.

A determinação da actividade da ADA no líquido pleural como método indicador de doença de possível etiologia tuberculosa, salvo raras excepções, esta amplamente confirmada não só pela nossa experiência como também pelo estudo de diversos autores de diferentes nacionalidades.

A determinação da ADA no líquido cefaloraquidiano (LCR) com especial interesse na aplicação do método ao diagnóstico da meningite tuberculosa, data desde 1972, havendo ainda discordância entre os autores relativamente aos valores que permitem distinguir a meningite tuberculosa da meningite bacteriana.

Baseamo-nos em 60 casos de pleuresia tuberculosa e 20 casos de meningite tuberculosa.

Esta actividade foi comparada com métodos bacteriológicos. Doentes com tuberculose apresentam geralmente actividade da ADA entre 40-160 U/L em líquidos pleurais, sendo esta actividade significativamente mais baixa em líquidos cefaloraquidios.

## Material e métodos

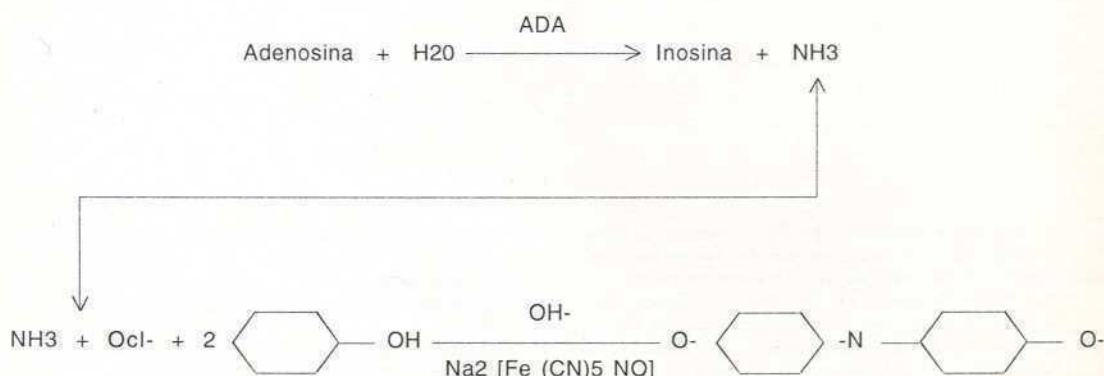
A actividade da adenosina desaminase (ADA) foi doseada em 60 líquidos pleurais e 20 líquidos cefaloraquidios de doentes suspeitos de tuberculose.

As amostras foram colhidas no Departamento de Pneumologia do Hospital Joaquim Urbano, outros Hospitais e ARS (Administração Regional de Saúde) do País.

As amostras foram congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  e ensaiadas a  $37^{\circ}\text{C}$  usando o método de GIUSTI. Neste método a amonia libertada pela adenosina reage com o hipoclorito de sódio e com uma solução alcalina de fenol, formando um azul intenso de indofenol, o qual é doseado fotometricamente (Figura 1).

Esta actividade foi comparada com métodos bacteriológicos usando microscopia, cultura e identificação por métodos convencionais e/ou sondas DNA.

FIGURA 1  
REACÇÃO ADENOSINA DESAMINASE



## Resultados

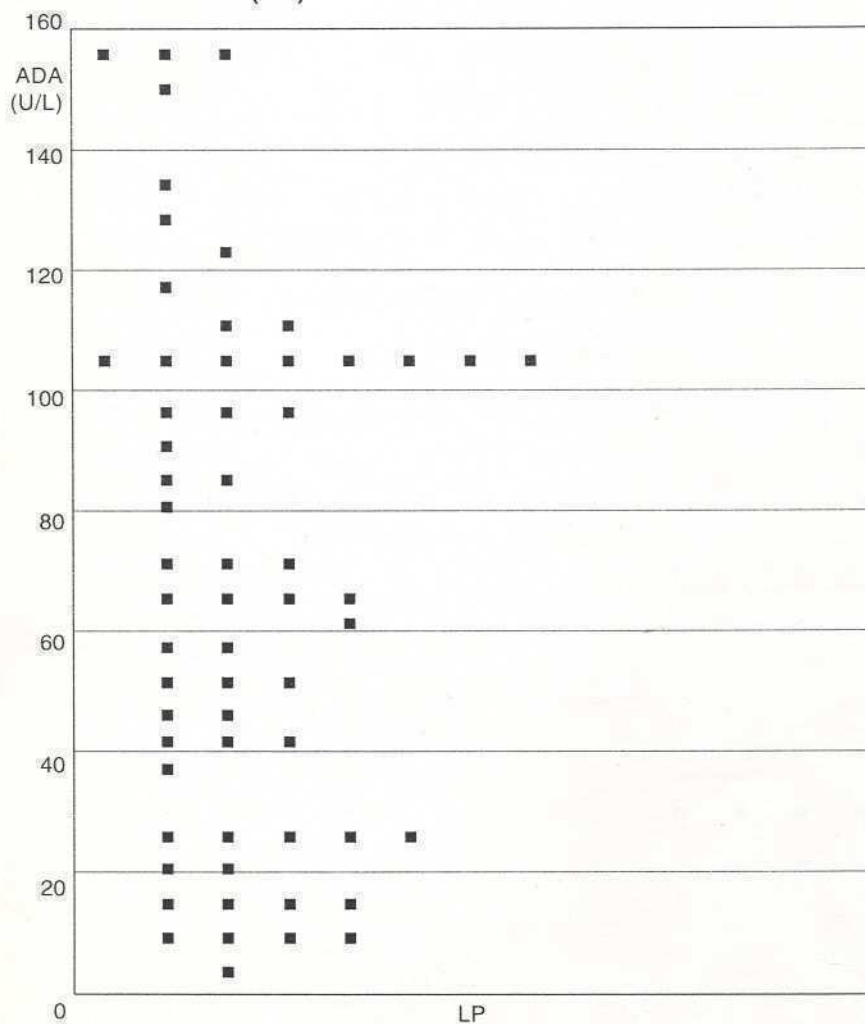
QUADRO I

RESULTADOS COMPARATIVOS EM CASOS SUSPEITOS DE TUBERCULOSE (LÍQUIDO PLEURAL)

Parâmetros	Número	Positivo	Negativo
BACTERIOLÓGICO	60	11	49
ADA (U/L)	60	43	17

GRÁFICO 1

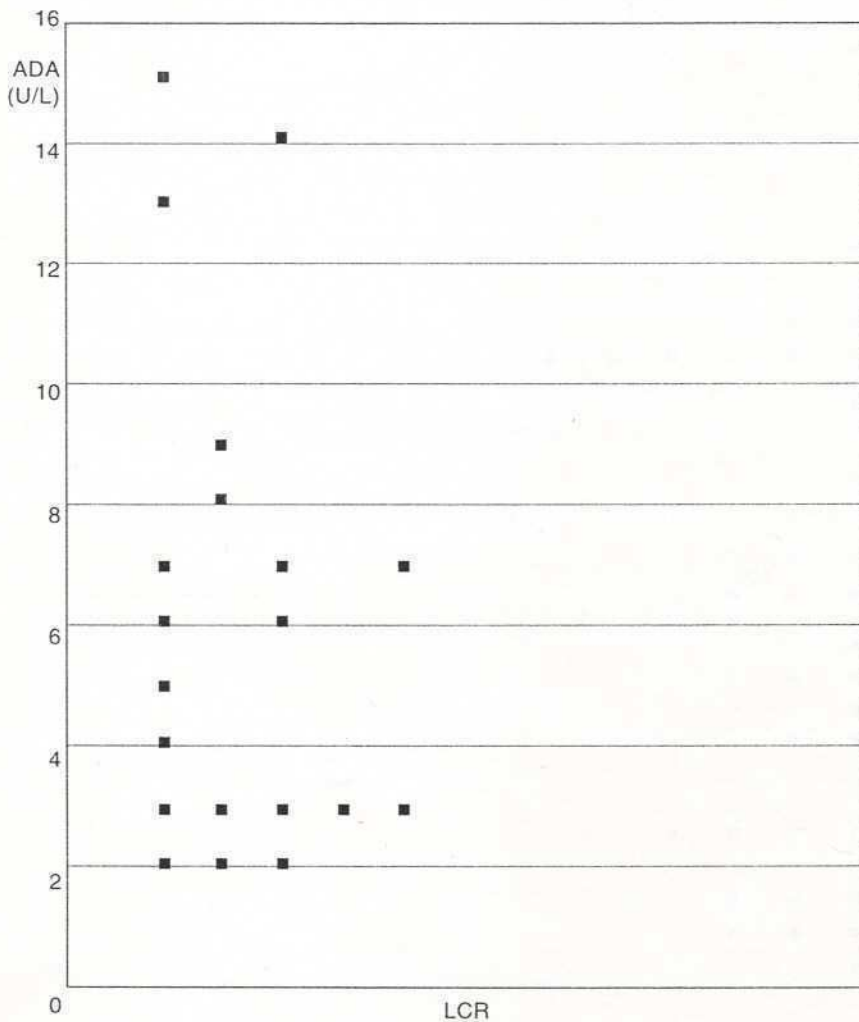
ACTIVIDADE DA ADA (U/L) EM LÍQUIDOS PLEURAIIS



QUADRO II  
RESULTADOS COMPARATIVOS EM CASOS SUSPEITOS DE  
TUBERCULOSE (LÍQUIDO CEFALORAQUÍDIO)

Parâmetros	Número	Positivo	Negativo
BACTERIOLÓGICO	20	0	20
ADA (U/L)	20	10	10

GRÁFICO 1  
ACTIVIDADE DA ADA (U/L) EM LÍQUIDOS CEFALORAQUÍDIOS



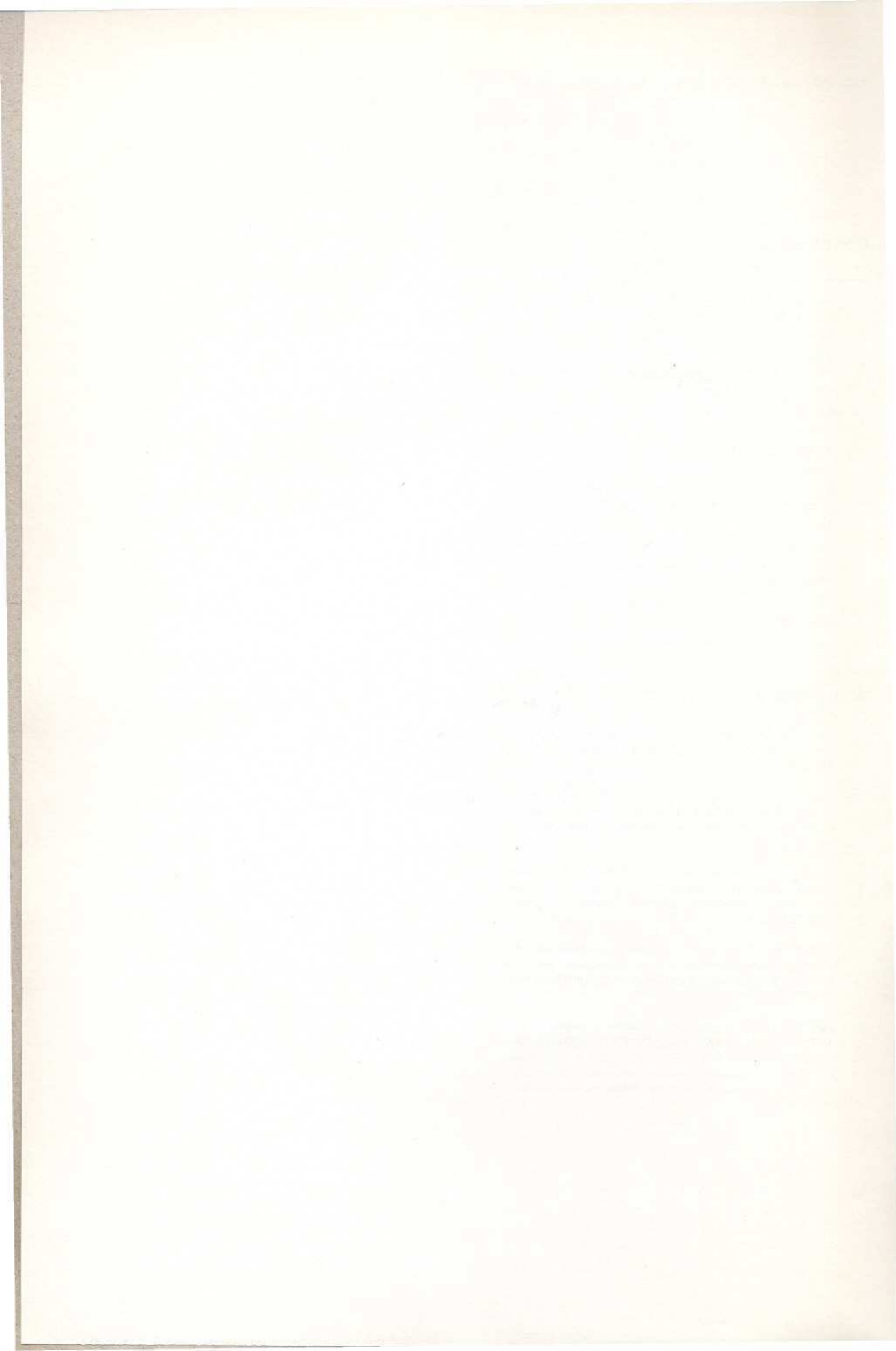
## Conclusões

- 1 — A determinação da actividade da ADA, e simples, rápida e económica, podendo obter-se resultados em 2 horas.
- 2 — Sendo um método de diagnóstico presuntivo atribui-se-lhe uma certa importância especialmente na pleuresia tuberculosa e ainda na meningite tuberculosa.
- 3 — Os exames bacteriológicos são demorados e muitas vezes negativos.
- 4 — A possibilidade de obter resultados falsamente positivos surge quando existem outros tipos de patologias, os quais podem levar à instituição de terapêutica desajustada.

Os falsos negativos representam menor risco e surgem essencialmente quando a colheita é feita muito precocemente, na tuberculose miliar, ou em crianças com menos de um ano.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — SARAIVA DA CUNHA, J. G. — A adenosina desaminase. Um enzima pluridisciplinar. *Acta Médica*, 4, 1991, 315-323.
- 2 — CHAWLA, R. K.; SETH, R. K.; RAJ, B.; SAINI, A. S. — Adenosina deaminase levels in cerebrospinal fluid in tuberculosis and bacterial meningitis. *Tubercle*, 72, 1991, 190-192.
- 3 — SERRA, J.; JANE, X.; SOLE, C.; ROSELL, F. — Adenosina desaminasa como parametro diagnostico del derrame pleural tuberculoso. *Medicina Clinica*, 96 (16) 1991, 636-637.
- 4 — TEO, S. K.; CHIO, L. F. — Adenosine deaminase in pleural fluid-an enzymatic test for tuberculous pleural effusion. *Singapore Medical Journal*, 28 (3) 1987, 220-224.
- 5 — MARTINEZ-VASQUEZ, J. M.; OCANA, I.; RIBERA, E.; CAPDEVILA, J. A.; SEVILLA, DE F. T.; SEGURA, R.; PASCUAL, C.; MARTI, N. — Diagnostico temprano de la tuberculosis pleuropertoneal mediante la determinacion de adenosina desaminasa. *Medicina Clinica*, 83, 1984, 578-580.



## Epidemiologia de *Candida albicans* por electroforese em campo pulsado

J. C. Brandão\*

M. L. Rosado\*\*

M. L. Osório-Almeida\*

### RESUMO

Realizámos um estudo preliminar numa amostra portuguesa de 27 estirpes de *Candida albicans* isoladas de produtos clínicos. Confirmámos assim ser possível promover estudos epidemiológicos em populações, baseados numa técnica electroforética em *Pulsed Field* (PFGE).

Esta técnica baseia-se na determinação de Cariotipos Electroforéticos (CE), definidos pela separação de cromossomas inteiros, dividindo o campo de migração em quatro áreas de pesos moleculares definidos (< 850 kpb, 850-1125 kpb, 1125-1600 kpb, > 1600 kpb). O código do CE representa o n.º de bandas encontradas em cada uma dessas áreas.

Nas 27 estirpes analisadas encontramos 8 CE distintos, dos quais 3 cobrem 21 dessas 27 estirpes: CE 0212 - 11 estirpes; CE 0222 - 6 estirpes; CE 0122 - 5 estirpes.

Ao desenvolver este trabalho, alargando a amostra estudada, pensamos contribuir para a Epidemiologia desta levedura patogénica, já que este tipo de análise genética é mais estável do que a maioria das análises baseadas em características fenotípicas.

**Palavras-chave:** Cariotipo electroforético. *Candida albicans*. Campo pulsado.

### SUMMARY

We surveyed a sample of 27 portuguese clinical isolates of *Candida albicans*, based on the chromosomal polymorphism of this species. Using Pulsed Field Gradient Gel Electrophoresis (PFGE), we concluded to be possible to perform epidemiological studies with the following technic, created by M. Monod *et al*: (6) Separation of whole chromosomes using a specific (PFGE) program and determination of the Electrophoretic Karyotype (EK) according to the number of bands which migrate with less than 850 kbp, between 850 and 1125 kbp, between 1125 and 1600 kbp and with more than 1600 kbp.

Eight distinct EK were found in the 27 strains analysed. Three of which cover 21 of these 27 strains (11 strains with EK 0212, 6 strains with EK 0222 and 5 strains with EK 0122).

By enlarging the sample analysed we hope to contribute to the epidemiology of this microorganism since this kind of molecular analysis can be more stable and conclusive than most of the studies based on phenotypic characteristics.

**Keywords:** Electrophoretic Karyotype. *Candida albicans*. Pulsed Field.

\* Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa — Sec. Aut. Biotecnologia.

\*\* Instituto Nacional de Saúde, Lisboa - Lab. Micologia.

## Introdução

Nos últimos anos tem-se observado um aumento importante das infecções sistémicas oportunistas cujos agentes etiológicos são frequentemente Leveduras, sobretudo do Género *Candida Berkhout*.

Em Portugal a espécie patogénica mais frequente, pertencente a este Género é a *Candida albicans* (Robin) Berkhout (56 %) que em alguns países chega a ser responsável por 90 % das candidiases (7).

*Candida albicans* faz parte da flora normal da cavidade oral e do trato gastro-intestinal, podendo em determinadas condições proliferar e atingir vários órgãos, causando patogenicidade superficial e/ou sistémica.

Um factor determinante para a pré-disposição à infecção é a depressão do sistema imunitário originada por exemplo por infecções por vírus como o HIV e o de Epstein-Barr e o tratamento prolongado com citostáticos, antibióticos e corticosteróides.

No Género *Candida Berkhout* a identificação das diferentes espécies é efectuada por métodos clássicos de rotina, baseados em estudos fenotípicos, morfológicos e fisiológicos, assimilação e fermentação de vários compostos, fontes de carbono e de azoto (Auxanograma e zimograma) (1). A existência de mutantes auxotróficos, pode no entanto levar a identificação erradas. O mesmo acontece quanto ao teste de identificação de *Candida albicans* pela formação de tubo germinativo: Existem estirpes em que a formação deste tubo não se observa (5).

Em estudos epidemiológicos é importante poder distinguir estirpes de uma mesma espécie patogénica, pois um mesmo indivíduo pode ser infectado por várias espécies ou por várias estirpes da mesma espécie, durante o curso de uma infecção ou em infecções recorrentes (3).

Em 1988 foram publicados os primeiros trabalhos sobre variabilidade de Cariotipos Electroforéticos em PFGE (2, 3, 4).

Em 1990 M. Monod et al. (6) estudaram o CE de 130 estirpes de 4 espécies do Género *Candida Berkhout* e observaram um padrão electroforético típico para cada espécie, havendo pequenas variações entre diferentes estirpes.

No nosso estudo preliminar seguimos o mesmo método e analisámos na nossa população 27 estirpes de *Candida albicans* de diferentes origens anatómicas, de isolados clínicos de indivíduos diferentes

## Material e métodos

As estirpes estudadas foram isoladas e identificadas no laboratório de Micologia do Instituto Nacional de Saúde de Lisboa.

Usámos ainda uma estirpe padrão de *Candida albicans* (Robin) Berkhout n.º 3436, pertencente à Colecção Portuguesa de Culturas de Levedura do Instituto Gulbenkian de Ciências, Oeiras.

A origem anatómica dos isolados é a seguinte: 6 estirpes isoladas do aparelho urogenital, 14 do aparelho respiratório, 4 de infecções superficiais e 3 de infecções profundas. Todas as estirpes foram identificadas pela função de tubo germinativo em soro humano, com confirmação por Auxanograma e zimograma.

### Determinação do CE por PFGE:

CONDIÇÕES DE MIGRAÇÃO: GEL 0.9% DE AGAROSE (BDH.44250), 15X15 cm<sup>2</sup>, 1XTBE, 9 °C, CHEF (Contour Clamped Homogeneous Electric Field).

### PROGRAMA:

FASE1-150 V, 24 h, 120 s (PULSO)  
FASE2-150 V, 16 h, 180 s (PULSO)

### APARELHO:

PULSAPHOR 2015 (LKB)-TINA E CONTROLADOR  
PULSAPHOR 2219 (LKB)-BANHO TERMOSTATIZADO  
ESP 500/400 (PHARMACIA)-FONTE DE ALIMENTAÇÃO

VISUALIZAÇÃO DO DNA: Corar o gel com 0.5 mg BrEt/ml durante 20 min, seguido de lavagem em H<sub>2</sub>O, 5 min.

IDENTIFICAÇÃO DO CE: Método definido e estudado por M. Monod et al. (6), baseado na separação do campo em 4 regiões:

- 1 — Cromossomas de PM inferior a 850 kpb
- 2 — Cromossomas de PM entre 850 kpb e 1125 kpb
- 3 — Cromossomas de PM entre 1125 kpb e 1600 kpb
- 4 — Cromossomas de PM superior a 1600 kpb

O código do CE é composto por quatro dígitos, representando cada um o número de

bandas encontradas em cada uma dessas regiões (Figura 1).

## Resultados

Podemos observar três CE predominantes: CE 0212, CE 0222, CE 0122 (tab. I). As estirpes com o CE 0222 estão presentes nos diferentes tipos de infecção.

Não podemos estabelecer nenhuma correspondência exacta entre um determinado CE e a origem anatómica das estirpes isoladas. No entanto, parece existir uma relação entre o CE 0212 e o aparelho urogenital e entre o CE 0122 e o aparelho respiratório (tab. I).

Nas estirpes de *Candida albicans* isoladas no nosso país não encontramos cromossomas de PM inferior a 850 kpb, como aconteceu durante o trabalho de *M. Monod et al.* <sup>(6)</sup>.

## Discussão

A nossa análise de CE permitiu estabelecer uma comparação com os dados de *M. Monod et al.* <sup>(6)</sup>.

A nossa amostra apresentou cinco CE não descritos anteriormente (*M. Monod et al.* <sup>(6)</sup>): 0312, 0011, 0232, 0132, 0133; onde o CE 0212 é também o predominante.

Não observámos cromossomas de PM inferior a 850 kpb, enquanto que na amostra anterior 7% das estirpes de *Candida albicans* têm cromossomas destas dimensões.

Podemos também observar uma modificação no grupo dos três CE dominantes (0212, 0222, 0312). Em relação a Portugal, o CE 0312 é pouco frequente, enquanto que o CE 0122 é mais frequente (tab. I).

O método de análise cariotípica por PFGE pode ser um meio de confirmação para a identificação de *Candida albicans*. Apesar das oscilações dos pesos moleculares dos cromossomas desta Levedura, *Candida albicans* apresenta um padrão electroforético típico da espécie.

Do ponto de vista epidemiológico esta técnica é válida, necessitando apenas de uma standardização, para o seu sucesso.

## Agradecimentos

Agradecemos a Maria Luísa Veríssimo e a Maria Luísa de Sousa pelo apoio técnico prestado e a

Ezequiel Domingues pela sua colaboração no trabalho gráfico.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — DROUHET, E. e DUPONT, B. — Les champignons levéduriformes d'intérêt médical. *Laborama, Diagnostics Pasteur*, 21, 1985, 3-14.
- 2 — MAGEE, B. B.; KOLTIN, Y.; GORMAN, J. A. e MAGEE, P. T. — Assignment of cloned genes to the Seven Electrophoretically Separated *Candida albicans* chromosomes. *Molecular and Cellular Biology*, 8(11), 1988, 4721-4726.
- 3 — MAGEE, B. B. e MAGEE, P. T. — Electrophoretic Karyotypes and Chromosome Numbers in *Candida* species. *Journal of General Microbiology*, 133, 1987, 425-430.
- 4 — MERZ, W. G.; CONNELLY, C. e HIETER, P. — Variations of Electrophoretic Karyotypes among Clinical Isolates of *Candida albicans*. *Journal of Clinical Microbiology*, 26(5), 1988, 842-845.
- 5 — MEYER, S. A.; AHEARN, D. G. e YERROW, D. — Genus 4. *Candida* Berkhout. In Kreger-van Rij, N. J. W. (ed). *The yeasts. A Taxonomic Study*, 1984, 584-844.
- 6 — MONOD, M.; PORCHET, S.; BAUDRAZ-ROSSELET, F. e FRENK, E. — The identification of pathogenic yeast strains by electrophoretic analysis of their chromosomes. *Journal of Medical Microbiology*, 32, 1990, 123-129.
- 7 — ROSADO, M. L. — ESPÉCIES DE CANDIDA EM PRODUTOS PATOLÓGICOS HUMANOS. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas*, VII, 1984, 97-100, separata.

FIGURA 1  
DETERMINAÇÃO DO CARIOTIPO ELECTROFORÉTICO DE *Candida albicans* POR CAMPO PULSADO

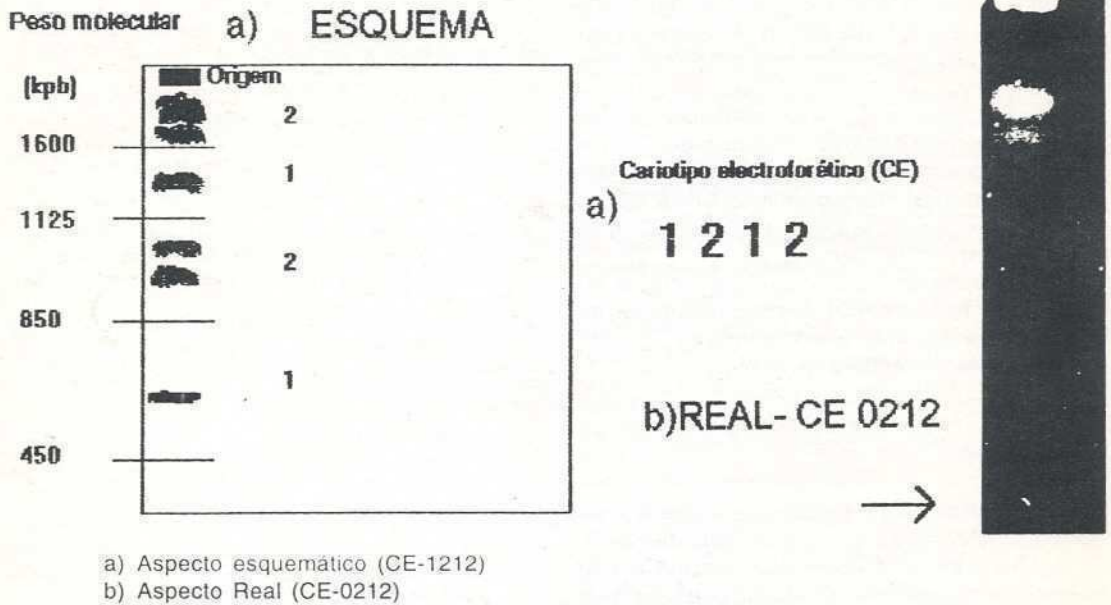
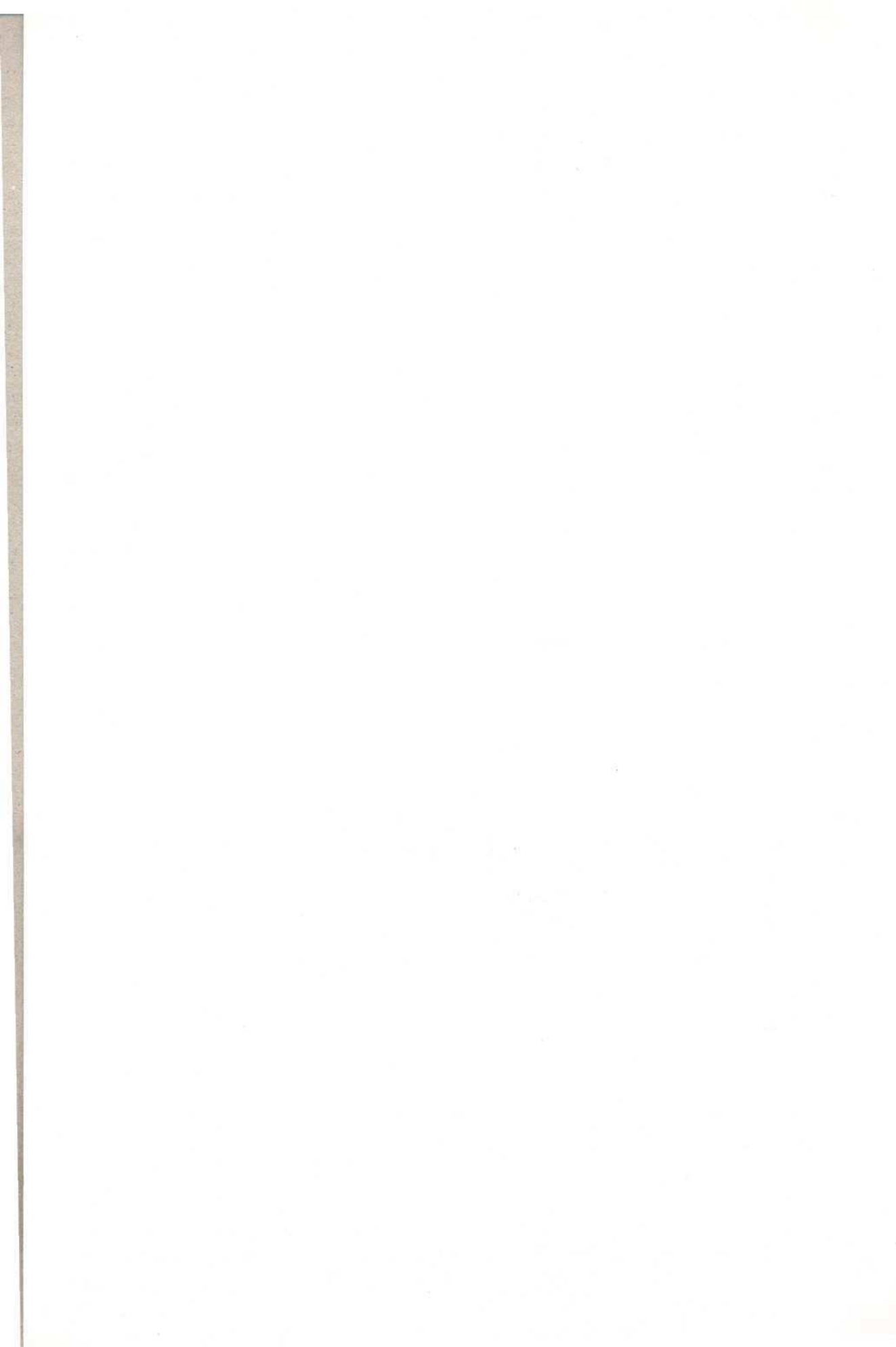


TABELA I  
CE DE *Candida albicans* DAS 27 ESTIRPES ENTRADAS E DE UMA ESTIRPE PADRÃO (3436-COLECÇÃO PORTUGUESA DE CULTURA DE LEVEDURAS-IGC)

CE	Número de estirpes isoladas de:					Total
	Aparelho Urogenital	Aparelho Respiratório	Infecções Profundas	Infecções Superficiais	Estirpe Padrão n.º 3436-IGC	
	(6)	(14)	(3)	(4)	(1)	
0212	6	3	1	1	1	12
0222	—	3	1	2	—	6
0312	—	1	—	—	—	1
0122	—	4	1	—	—	5
0011	—	1	—	—	—	1
0232	—	1	—	—	—	1
0132	—	—	—	1	—	1
0133	—	1	—	—	—	1



ARQUIVOS  
DO INSTITUTO  
NACIONAL  
DE SAÚDE



VOL. XVI-XVII 1991/92