



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

IMPACTO DE BIOAEROSSÓIS POLÍNICOS E FÚNGICOS NA DOENÇA ALÉRGICA RESPIRATÓRIA NA CIDADE DE BEJA

Elsa Margarida Lourenço de Almeida

Orientadores: Prof. Doutor Luiz Carlos Gazarini

Doutora Elsa Rute Guerra Caeiro

Prof. Doutora Ana Maria Todo-Bom Ferreira da
Costa

Tese apresentada à Universidade de Évora para obtenção do
Grau de Doutor em Biologia

Évora, 2018





UNIVERSIDADE DE ÉVORA

IMPACTO DE BIOAEROSSÓIS POLÍNICOS E FÚNGICOS NA DOENÇA ALÉRGICA RESPIRATÓRIA NA CIDADE DE BEJA

Elsa Margarida Lourenço de Almeida

Orientadores: Prof. Doutor Luiz Carlos Gazarini

Doutora Elsa Rute Guerra Caeiro

Prof. Doutora Ana Maria Todo-Bom Ferreira da
Costa

Tese apresentada à Universidade de Évora para obtenção do
Grau de Doutor em Biologia

Évora, 2018



Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo	III
Abstract	IV
Índice figuras	V
Índice tabelas	X
Abreviaturas e símbolos:	XIII
1. Introdução geral.....	1
2. Justificação e objetivos do estudo	3
2.1. Justificação do estudo.....	3
2.2. Objetivos do estudo.....	4
2.2.1. Objetivo geral.....	4
2.2.2. Objetivo específicos.....	4
3. Material e Métodos	6
3.1. Desenho de estudo	6
3.2. Caracterização biofísica da área de estudo	7
3.2.1. Localização geográfica	7
3.2.2. Características biogeográficas.....	9
3.3. Análise aerobiológica	10
3.3.1. Localização do coletor	10
3.3.2. Paisagem.....	11
3.3.3. Período de amostragem	11
3.3.4. Método de recolha das amostras.....	12

3.3.5. Análise qualitativa e quantitativa das amostras	14
3.3.6. Análise da informação aerobiológica	15
3.3.6.1. Estação de pólen atmosférico principal (EPAP) e Estação de esporos atmosférico principal (EEAP)	15
3.3.6.2. Variação Intradiária	15
3.3.6.3. Análise dos níveis de exposição ao pólen	15
3.3.6.4. Calendário polínico	16
3.4. Parâmetros meteorológicos	17
3.5. Análise Clínica	17
3.5.1. Doseamento de IgE total e específica	17
3.5.2. Efeitos dos aeroalergénios na saúde da população - Necessidade de recorrer ao Serviço de Urgência Hospitalar.....	18
3.5.3. Venda de medicação antialérgica.....	18
3.6. Análise Estatística	19

CAPÍTULO I - CONTEÚDO POLÍNICO DA ATMOSFERA DA CIDADE DE BEJA

1.1. Introdução	23
1.2. Material e Métodos.....	25
1.3. Resultados	26
1.3.1. Caracterização interanual.....	26
1.3.1.1. Ano de 2012	26
1.3.1.2. Ano de 2013.....	27
1.3.1.3. Ano de 2014.....	28
1.3.2. Caracterização da Estação Polínica Atmosférica Principal (EPAP)	29
1.3.3. Caracterização da estação primaveril	30

1.3.3.1. Ano de 2012	30
1.3.3.2. Ano de 2013	31
1.3.3.3. Ano de 2014	32
1.3.3.4. Comparação de Primaveras: Anos de 2012, 2013 e 2014	33
1.3.4. Variação intranual	38
1.3.5. Variação intradiária	39
1.3.6. Análise dos níveis de exposição ao pólen	41
1.4. Discussão	44
1.5. Conclusão	52
1.6. Bibliografia	54

CAPÍTULO II - CONTEÚDO EM ESPOROS DE ALTERNARIA SP. E CLADOSPORIUM SP. NA ATMOSFERA DA CIDADE DE BEJA

2.1. Introdução	57
2.2. Material e Métodos	63
2.3. Resultados	65
2.3.1. Esporos de <i>Cladosporium</i>	65
2.3.1.1 Caracterização anual	65
2.3.1.2. Variação intradiária	67
2.3.1.3. Caracterização do risco alérgico	67
2.3.2. Esporos de <i>Alternaria</i>	68
2.3.2.1. Caracterização anual	68
2.3.2.2. Variação intradiária	69
2.3.2.3. Caracterização do risco de exposição	70
2.4. Discussão	71

2.5. Conclusão	75
2.6. Bibliografia	77

CAPÍTULO III - O EFEITO DOS PARÂMETROS METEOROLÓGICOS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE PÓLEN ATMOSFÉRICO

3.1. Introdução	83
3.2. Materiais e Métodos	85
3.3. Resultados	86
3.3.1. Temperatura	86
3.3.2. Precipitação	88
3.3.3. Humidade relativa	91
3.3.4. Insolação	93
3.3.4. Direção do vento	95
3.3.5. Velocidade do vento	97
3.3.6. Correlação com parâmetros meteorológicos	98
3.4. Discussão.....	100
3.5. Conclusão	104
3.6. Bibliografia	105

CAPÍTULO IV - O EFEITO DOS PARÂMETROS METEOROLÓGICOS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE ESPOROS FÚNGICOS NA ATMOSFERA

4.1. Introdução	111
4.2. Materiais de Métodos.....	112

4.3. Resultados	113
4.4. Discussão.....	114
4.5. Conclusão	117
4.6. Bibliografia.....	123

CAPÍTULO V - SENSIBILIZAÇÃO ALERGOLÓGICAS NA POPULAÇÃO DE BEJA

5.1. Introdução	123
5.1.1. Resposta alérgica	123
5.1.2. Fatores de risco na doença alérgica	126
5.1.3. Alergénios mais importantes.....	129
5.1.4. Principais doenças alérgica	131
5.1.4.1. Rinite alérgica.....	131
5.1.4.2. Asma	132
5.1.5. Doença alérgica em Portugal e no Mundo.....	133
5.1.6. Meios complementares de diagnóstico.....	135
5.1.6.1. Testes cutâneos por picada.....	135
5.1.6.2. Doseamento de IgE total e específica	136
5.1.6.3. Testes moleculares	136
5.1.6.4. Eosinofilia	137
5.1.6.5. Testes de provocação	137
5.1.7. Estratégias de tratamento.....	138
5.1.7.1. Evicção de alergénios	138
5.1.7.2. Terapêutica Farmacológica	138
5.1.7.3. Imunoterapia alérgica	139

5.2. Métodos	140
5.2.1 População com sintomatologia alérgica	140
5.2.2. Venda de medicação antialérgica.....	140
5.3. Resultados	141
5.3.1. Caraterização da amostra de doentes.....	141
5.3.2. Análise dos principais alergénios sensibilizantes	143
5.3.3. Análise das sensibilizações segundo as classes etárias.....	144
5.3.4. Análise do consumo de medicação Antialérgica e sua relação com os níveis de pólen e esporos de fungos atmosféricos.....	148
5.3.4.1. Ano de 2012.....	149
5.3.4.2. Ano de 2013.....	151
5.3.4.3. Ano de 2014.....	153
5.3.4.4. Efeitos dos níveis de esporos fúngicos na venda de medicação antialérgica.....	155
5.3.5. Efeitos dos aeroalergénios na saúde da população - Necessidade de recorrer ao Serviço de Urgência Hospitalar.....	157
5.4. Discussão.....	158
5.5. Conclusão	162
5.6. Bibliografia	163

CAPÍTULO VI – SENSIBILIZAÇÃO A AEROALERGÉNIOS MOLECULARES DE PÓLEN DE GRAMÍNEAS E DE FUNGOS NA POPULAÇÃO DE BEJA

6.1. Introdução	169
6.1.1. Alergénios moleculares	169
6.1.1.1. Principais constituintes moleculares.....	171
6.1.1.2. Alergénios do pólen de gramíneas.....	173

6.1.1.3. Alergénios dos fungos	176
6.1.2. A Imunoterapia	176
6.2. Métodos.....	178
6.2.1. Critérios de inclusão	178
6.2.2. Critério de exclusão	178
6.2.3. População no grupo de estudo sobre fungos	178
6.2.4. Determinação de alergénios moleculares.....	179
6.3. Resultados	181
6.3.1. Caracterização da amostra de doentes sensíveis ao pólen de gramíneas.....	181
6.3.2. Caracterização da amostra de doentes sensíveis a fungos.....	184
6.4. Discussão.....	185
6.5. Conclusão	188
6.6. Bibliografia.....	189
3. Discussão, críticas e sugestões futuras	189
4. Conclusões finais	192
5. Bibliografia.....	194
Anexo I	CCI
Anexo II	CCII
Anexo III	CCVII
Anexo IV	CCIX
Anexo V	CCXI
Anexo VI.....	CCXII

*À minha família que são os pilares que me mantêm
e a todos os que ajudaram, muito obrigado...*

Agradecimentos

Este projeto é o culminar de vários anos de trabalho e sacrifícios. Mas não é um trabalho só meu. É também o resultado do esforço e generosidade de várias pessoas e entidades a quem não posso deixar de agradecer.

Em primeiro lugar, agradecer à Universidade de Évora, ao Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas e ao Departamento de Biologia por me receberem e me proporcionarem esta possibilidade.

Quero também agradecer à Unidade Local de Saúde do Baixo Alentejo – Hospital José Joaquim Fernandes em Beja por permitir a instalação do coletor e aceitar colaborar com o estudo. Ao Serviço de Cardiopneumologia, nomeadamente à Dr.^a Ana Cristina Duarte, ao Serviço de Patologia Clínica e à sua Diretora Dr.^a Rosa Bento, ao Serviço de Instalação e Equipamentos, nomeadamente ao Sr.^o Pascoa e a toda a equipa de eletricitas. E de uma forma muito especial à Dr.^a Graça Cristina e aos meus colegas Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública que participaram nas recolhas das amostras e pelo carinho, amizade e apoio. Não posso deixar de salientar também o Serviço de Estatística, nomeadamente a Mestre Ana Dionísio que foi imprescindível e incansável no trabalho de cálculo e estatística.

A Base Aérea nº 11 foi também um parceiro crucial. Gostaria de agradecer ao Exmo. Senhor Comandante e ao Tenente Carlos Policarpo a cedência de informação meteorológica.

Quero agradecer também à Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica pela cedência do coletor.

Os diretores das farmácias da cidade de Beja: Farmácia Oliveira, Farmácia Palma, Farmácia Santos, Farmácia Fonseca, Farmácia Silveira, Farmácia Central, Farmácia J. Delgado, que cederam a informação sobre a venda de antialérgicos que permitiram retirar conclusões importantes no que diz respeito à doença alérgica na região do Baixo Alentejo, o meu obrigado.

Não posso deixar de agradecer também aos meus orientadores. Em primeiro lugar ao Professor Doutor Rui Brandão, que desenhou e acreditou no projeto desde o início. Também os meus orientadores: Professora Doutora Ana Todo-Bom, Doutora Elsa Caeiro e Doutor Luiz Gazarini pelo apoio quando tudo parecia impossível e pela paciência, disponibilidade e partilha de conhecimento.

Quero também agradecer à empresa Thermo Fisher Scientific pela cedência gratuita de testes moleculares de diagnóstico de doença alérgica, em especial à Dr.^a Elsa de Freitas por acreditar no meu trabalho e pelo esforço para que esta parceria se concretizasse.

Em último lugar quero agradecer à minha família. Aos meus pais, à minha irmã, e ao João, pelo apoio, paciência e carinho.

A todos os que não nomeie mas que de alguma forma contribuíram para este projeto.

O meu muito obrigado!

Resumo

Impacto de bioaerossóis polínicos e fúngicos na doença alérgica respiratória na cidade de Beja

Introdução: O conhecimento das variações das concentrações atmosféricas de pólen e de esporos fúngicos numa determinada região são fundamentais no diagnóstico, tratamento e prevenção da patologia alérgica. **Objetivos:** Analisar: 1) o conteúdo em pólen e em esporos de *Alternaria* e *Cladosporium* na atmosfera de Beja; 2) a influência dos parâmetros meteorológicos sobre as suas concentrações; 3) a prevalência da sensibilização aos alergénios moleculares Phl p1, Phl p5, Phl p7, Phl p12 e Alt a1. **Metodologia:** Utilizaram-se os dados das monitorizações dos principais tipos polínicos com interesse alergológico e dos esporos fúngicos *Alternaria* e *Cladosporium*, de abril de 2012 a Julho de 2014 e os dados dos parâmetros meteorológicos de Beja desse mesmo período. Utilizou-se a metodologia recomendada pela Rede Portuguesa de Aerobiologia (RPA-SPAIC) baseada no uso de um *Burkard Seven Day Volumetric Spore-trap*®. Para a análise da influência dos parâmetros meteorológicos sobre as concentrações de pólen atmosférico utilizou-se a análise de correlação de *Spearman*. Estudaram-se 45 doentes sensibilizados a gramíneas e 16 a esporos fúngicos para determinar os alergénios moleculares predominantes. **Resultados:** Na atmosfera de Beja a maioria do pólen coletado pertenceu aos tipos: Poaceae, *Quercus*, Oleaceae, Urticaceae e Cupressaceae. Elaborou-se o calendário polínico para a Região. Os níveis de esporos de *Cladosporium* e *Alternaria* foram superiores na primavera e outono e os de *Alternaria* nalguns dias ultrapassaram o valor limiar de alergia. Os alergénios: pólen, ácaros, alimentos e esporos de fungos foram os responsáveis pela maioria das sensibilizações. Cerca de 71% dos doentes alérgicos a gramíneas foram sensíveis a Phl p1 e Phl p5b. e a maioria do doentes com sensibilização a fungos foi sensível a Alt a1. **Conclusão:** Os níveis polínicos e fúngicos na cidade de Beja são elevados, particularmente durante a primavera, e são condicionados pela vegetação envolvente característica e pelas condições meteorológicas.

Palavras-chave: Pólen, *Alternaria*, *Cladosporium*, Alergia, Beja

Abstract

Impact of pollen and fungal bioaerosols on allergic respiratory disease in the city of Beja

Background: The knowledge of atmospheric concentrations of pollen and fungal spores in a particular region is fundamental in the diagnosis, treatment and prevention of allergic pathology. **Objectives:** To analyze: 1) the content of pollen and spores of *Alternaria* and *Cladosporium* in the Beja atmosphere; 2) the influence of meteorological parameters on their concentrations; 3) the prevalence of sensitization to the molecular allergens Phl p1, Phl p5, Phl p7, Phl p12 and Alt a1. **Methodology:** Monitoring data of the main pollen types with allergenic interest and fungal spores *Alternaria* and *Cladosporium*, from April 2012 to July 2014, and the data of Beja meteorological parameters of the same period were used. We used the methodology recommended by the Portuguese Aerobiology Network (RPA-SPAIC) based on the use of a Burkard Seven Day Volumetric Spore-trap®. For the analysis of the influence of the meteorological parameters on the concentrations of atmospheric pollen, the Spearman correlation analysis was used. A total of 45 patients sensitized to grasses and 16 to fungal spores were studied to determine the predominant molecular allergens. **Results:** In the Beja atmosphere the majority of the collected pollen belonged to the types: Poaceae, *Quercus*, Oleaceae, Urticaceae and Cupressaceae. The pollen calendar for the Region was elaborated. The levels of spores of *Cladosporium* and *Alternaria* were higher in spring and autumn and those of *Alternaria* in a few days exceeded the threshold value of allergy. Allergens: pollen, mites, food and fungi spores were responsible for most sensitizations. Approximately 71% of grass allergic patients were sensitive to Phl p1 and Phl p5b and most of the patients with fungal sensitization were sensitive to Alt 1. **Conclusion:** Pollen and fungal levels in the city of Beja were high, particularly during spring, and are conditioned by the characteristic vegetation and weather conditions.

Key words: Pollen, *Alternaria*, *Cladosporium*, Allergy, Beja

Índice figuras

Figura 0.1. Esquema do Desenho Metodológico do Estudo.....	6
Figura 0.2. A- Mapa de Portugal onde se evidenciam os diferentes distritos. B- 14 concelhos pertencentes ao Distrito de Beja. Imagem adaptada de Bibliotecas, (2015).....	7
Figura 0.3. Fotografia da cidade de Beja, pode ver-se a planície que a rodeia e o seu belo castelo no centro. Imagem adaptada de Portuguesa,(2015).	8
Figura 0.4. Hospital José Joaquim Fernandes em Beja (ULSBA), local onde foi colocado o coletor polínico. Figura adaptada de Google (2015).....	10
Figura 0.5. Fotografia do coletor <i>Burkard Seven Day Volumetric Spore-trape®</i> (RPA, 2007-2014)...	12
Figura 0.6. Coletor volumétrico do tipo <i>Hirst</i> (A) e corte esquemático da unidade de impacto (B). (Santos, 2011).....	13

CAPÍTULO I - CONTEÚDO POLÍNICO DA ATMOSFERA DA CIDADE DE BEJA

Figura 1.1. Fotografia de parte da paisagem da região de Beja.....	21
Figura 1.2. Tipos polínicos identificados. Adaptado e modificado de Caeiro, <i>et al.</i> , (2007).	25
Figura 1.3. Representação em percentagem dos tipos polínicos analisados durante o ano de 2012.....	26
Figura 1.4. Representação em percentagem dos tipos polínicos analisados durante o ano de 2013.....	27
Figura 1.5. Representação em percentagem dos tipos polínicos analisados durante o ano de 2014.....	28
Figura 1.6. Espectro polínico da primavera do ano de 2012 em Beja.	35
Figura 1.7. Espectro polínico da primavera do ano de 2013 em Beja.	36
Figura 1.8. Espectro polínico da primavera do ano de 2014 em Beja.	36
Figura 1.9. Calendário polínico para os principais tipos polínicos presentes na atmosfera da Região de Beja em 2013, segundo o modelo de Spiexsma, (1991).....	38

Figura 1.10. Variação intradiária (ou distribuição horária) das concentrações de pólen atmosférico, expressa em percentagem, dos tipos polínicos predominantes na atmosfera de Beja no ano de 2013.....	40
--	----

CAPÍTULO II - CONTEÚDO EM ESPOROS DE ALTERNARIA SP. E CLADOSPORIUM SP. NA ATMOSFERA DA CIDADE DE BEJA

Figura 2.1. Colónias de <i>Alternaria Alternata</i> em meio de cultura (Freitas, <i>et al.</i> , 2015).	57
Figura 2.2. Fotografias de esporos de fungos ao microscópio ótico. A) <i>Alternaria</i> ; B) <i>Cladosporium</i> . Adaptado de Freitas, <i>et al.</i> , (2015).	64
Figura 2.3. Distribuição dos índices mensais de esporos de <i>Cladosporium</i> no período de estudo (Abr2012-Jul 2014).	66
Figura 2.4. Distribuição horária da percentagem de esporos de <i>Cladosporium</i> ao longo do dia durante a EEAP.	67
Figura 2.5. Distribuição dos índices mensais de esporos de <i>Alternaria</i> no período de estudo (Abr2012-Jul 2014).	69
Figura 2.6. Distribuição horária da percentagem de esporos de <i>Alternaria</i> ao longo do dia durante a EEAP.	69

CAPÍTULO III - O EFEITO DOS PARÂMETROS METEOROLÓGICOS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE PÓLEN ATMOSFÉRICO

Figura 3.1. Fotografia dos arredores de Beja.....	79
Figura 3.2. Valores mensais de temperaturas máximas, médias e mínimas e normais (IPMA 1971-200) em °C, na cidade de Beja durante o período de estudo.	87
Figura 3.3. Valores de precipitação e Normais (mm) durante o período do estudo na cidade de Beja.....	90
Figura 3.4. Valores mensais da humidade relativa média (%) na cidade de Beja durante o período de estudo.	92

Figura 3.5. Variação mensal do número de horas de sol descoberto na cidade de Beja durante o período do estudo.	94
Figura 3.6. Frequências percentuais de cada direção do vento na cidade de Beja durante os anos de estudo.	95
Figura 3.7. Frequências percentuais de cada direção do vento, relativas ao período em estudo na cidade de Beja durante o inverno, primavera, verão e outono.	96

CAPÍTULO IV - O EFEITO DOS PARÂMETROS METEOROLÓGICOS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE ESPOROS FÚNGICOS NA ATMOSFERA

Figura 4.1. Fotografia da paisagem envolvente da cidade de Beja	109
--	-----

CAPÍTULO V - SENSIBILIZAÇÕES ALERGOLÓGICAS NA POPULAÇÃO DE BEJA

Figura 5.1. Fotografia da área envolvente da cidade de Beja	111
Figura 5.2. Reações de hipersensibilidade. (Johansson, <i>et al.</i> , 2001).	123
Figura 5.3. Classificação de Gell e Coombs das reações alérgicas. Adaptado e modificado de Kindt, <i>et al.</i> , (2008).	124
Figura 5.4. Sequência de eventos nas reações de hipersensibilidade de tipo I. Adaptado de Abbas, <i>et al.</i> , (2012).	125
Figura 5.5. Fatores genéticos e ambientais na doença alérgica. Modificado e adaptado de Bartra, <i>et al.</i> , (2007).	126
Figura 5.6. Marcha alérgica. Adaptado e modificado de Scientific.Inc, (2013).	130
Figura 5.7. Distribuição de taxas de prevalência de asma na população adulta na Europa. Adaptado de Sales, (2010).	134
Figura 5.8. Gráfico da distribuição do género dos doentes comprovadamente alérgicos.	141
Figura 5.9. Gráfico da distribuição etária.	142

Figura 5.10. Gráfico da distribuição dos resultados positivos ao longo do ano.	142
Figura 5.11. Distribuição dos doentes segundo a sua sensibilização aos vários alergénios.	143
Figura 5.12. Distribuição dos doentes na classe etária ≤ 4 anos segundo a sua sensibilização alérgica	144
Figura 5.13. Distribuição dos doentes na classe etária 5-8 anos segundo a sua sensibilização alérgica.	145
Figura 5.14. Distribuição dos doentes na classe etária 9-17 anos segundo a sua sensibilização alérgica.	146
Figura 5.15. Distribuição dos doentes na classe etária ≥ 18 anos segundo a sua sensibilização alérgica.	147
Figura 5.16. Número de embalagens de antialérgicos vendidos durante o período da Primavera nos anos em estudo (2012, 2013 e 2014).	148
Figura 5.17. Número de embalagens de antialérgicos vendidos e os níveis polínicos durante o ano de 2012.	149
Figura 5.18. Número de embalagens de antialérgicos vendidos e curvas de níveis polínicos durante o período ano de 2013.	151
Figura 5.19. Número de embalagens de antialérgicos vendidos e curvas de níveis polínicos durante o período ano de 2014.	153
Figura 5.20. Número de embalagens de antialérgicos vendidos e os níveis fúngicos durante o ano de 2012.	155
Figura 5.21. Número de embalagens de antialérgicos vendidos e os níveis fúngicos durante o ano de 2013.	156
Figura 5.22. Número de embalagens de antialérgicos vendidos e os níveis fúngicos durante o ano de 2014.	156

CAPÍTULO VI – SENSIBILIZAÇÃO A AEROALERGÉNIOS MOLECULARES DE PÓLEN DE GRAMÍNEAS E DE FUNGOS NA POPULAÇÃO DE BEJA

Figura 6.1. Fotografia das culturas tradicionais da região de Beja.	163
---	-----

Figura 6.2. Figura representativa dos diferentes componentes alérgicos. Modificado e adaptado de Thermo Fisher Scientific (2016).	171
Figura 6.3. Ilustração do nível de risco alérgico em diferentes famílias de alergénios. Modificado e adaptado de Thermo Fisher Scientific (2014).	172
Figura 6.4. Ilustração dos perfis recomendados para Imunoterapia Específica. Modificado e adaptado de Thermo Scientific (2016).	175
Figura 6.5. Esquema representativo da metodologia ImmunoCAP®, ensaio imuno-enzimático fluorescente, Thermo Fisher Scientific. Modificado e adaptado de Thermo Fisher Scientific, (2016).	179
Figura 6.6. Distribuição de sensibilizações dos diferentes alergénios por idades e género.	182
Figura 6.7. Distribuição de sensibilização para o alergénio Alt a1 por idades e género.	184

Índice tabelas

Tabela 0.1. Representação das classes e concentrações de grãos de pólen. Modificado e adaptado de Pérez-Badia, <i>et al.</i> , (2010).	16
---	----

CAPÍTULO I - CONTEÚDO POLÍNICO DA ATMOSFERA DA CIDADE DE BEJA

Tabela 1.1. Características da EPAP dos vários tipos polínicos estudados durante o ano de 2013.....	29
--	----

Tabela 1.2. Características da primavera do ano de 2012 de todos os tipos polínicos estudados.	30
--	----

Tabela 1.3. Características da primavera do ano de 2013 de todos os tipos polínicos estudados.	31
--	----

Tabela 1.4. Características da primavera do ano de 2014 de todos os tipos polínicos estudados	32
--	----

Tabela 1.5. Índices totais das primaveras durante o período em estudo.....	33
---	----

Tabela 1.6. Índices primaveris dos vários tipos polínicos durante as primaveras dos anos de 2012, 2013 e 2014 na cidade de Beja.....	34
---	----

Tabela 1.7. Número de dias em que as concentrações dos principais tipos polínicos apresentaram níveis atmosféricos perigosos para os doentes alérgicos durante a primavera dos anos de 2012, 2013 e 2014.....	37
--	----

Tabela 1.8. Representação dos dias com concentrações médias diárias consideradas de risco alérgico moderado (31-50 grãos/m ³), pela Rede Portuguesa de Aerobiologia, no ano de 2013 para os tipos polínicos predominantes e com capacidade alergológica na cidade de Beja. (Cup – <i>Cupressaceae</i> ; Olea – <i>Oleaceae</i> ; Plan – <i>Plantago</i> ; Poa- <i>Poaceae</i> ; Quer- <i>Quercus</i> ; Urt – <i>Urticaceae</i> ; N° - Número de dias; SR- Sem risco).	42
--	----

Tabela 1.9. Representação dos dias com concentrações médias diárias consideradas de risco alérgico elevado (51-100 grãos/m ³) pela Rede Portuguesa de Aerobiologia, no ano de 2013 para os tipos polínicos predominantes e com capacidade alergológica na cidade de Beja. (Cup – <i>Cupressaceae</i> ; Olea – <i>Oleaceae</i> ; Plan – <i>Plantago</i> ; Poa- <i>Poaceae</i> ; Quer- <i>Quercus</i> ; Urt – <i>Urticaceae</i> ; Pla- <i>Platanus</i> ; N° - Número de dias; SR- Sem risco).....	42
--	----

Tabela 1.10. Representação dos dias com concentrações médias diárias consideradas de risco alérgico muito elevado (> 100 grãos/m ³) pela Rede Portuguesa de Aerobiologia, no ano de 2013 para os tipos polínicos predominantes e com capacidade alergológica na cidade de Beja. (Cup – <i>Cupressaceae</i> ; Olea – <i>Oleaceae</i> ; Plan – <i>Plantago</i> ; Poa- <i>Poaceae</i> ; Quer- <i>Quercus</i> ; Urt – <i>Urticaceae</i> ; Pla- <i>Platanus</i> ; N° - Número de dias; SR- Sem risco).....	43
--	----

CAPÍTULO II - CONTEÚDO EM ESPOROS DE ALTERNARIA SP. E CLADOSPORIUM SP. NA ATMOSFERA DA CIDADE DE BEJA

Tabela 2.1. Índice anual, máximo e média anual dos esporos fúngicos de <i>Cladosporium</i> registados durante os vários anos do período do estudo (Abr 2012-Jul 2014).....	65
Tabela 2.2. Índice anual, concentração máxima diária e média anual dos esporos fúngicos de <i>Alternaria</i> registados durante os vários anos do período do estudo (Abr 2012- Jul 2014).....	68
Tabela 2.3. Número de dias e datas com concentrações médias diárias de esporo de <i>Alternaria</i> > 50 esporos/m ³ no ano de 2013.....	70

CAPÍTULO III - O EFEITO DOS PARÂMETROS METEOROLÓGICOS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE PÓLEN ATMOSFÉRICO

Tabela 3.1. Caracterização do período de estudo relativamente ao parâmetro da temperatura (°C).	86
Tabela 3.2. Caracterização dos anos de estudo relativamente ao parâmetro precipitação (mm).....	88
Tabela 3.3. Valores mensais de precipitação (em mm) durante o período de estudo na cidade de Beja.	89
Tabela 3.4. Valores mensais da humidade relativa média (%) na cidade de Beja durante o período de estudo.....	91
Tabela 3.5. Valores mensais do número de horas de sol a descoberto, na cidade de Beja durante o período em estudo.	93
Tabela 3.6. Frequências percentuais de cada direção do vento na cidade de Beja durante os anos de estudo.	95
Tabela 3.7. Valores mensais de velocidade média do vento (em m/s), na cidade de Beja durante o período em estudo.	97
Tabela 3.8. Resultados da análise de correção de <i>Spearman</i> entre os parâmetros meteorológicos e as concentrações dos principais tipos polínicos da cidade de Beja durante o período em estudo...	99

CAPÍTULO IV - O EFEITO DOS PARÂMETROS METEOROLÓGICOS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE ESPOROS FÚNGICOS NA ATMOSFERA

Tabela 4.1. Correlação de *Spearman* entre os parâmetros meteorológicos e as concentrações atmosféricas de *Alternaria* e *Cladosporium* na cidade de Beja durante o período do estudo. 113

CAPÍTULO V - SENSIBILIZAÇÕES ALERGOLÓGICAS NA POPULAÇÃO DE BEJA

Tabela 5.1. Principais alergénios em Portugal (Ferreira, 2011). 129

Tabela 5.2. População do concelho de Beja estudada, entre os anos 2010 e 2015. 141

Tabela 5.3. Coeficientes de correlação de Ró de *Spearman* (ρ) entre as contagens dos vários tipos polínicos e as vendas de medicação antialérgica no ano 2012. 150

Tabela 5.4. Coeficientes de correlação de Ró de *Spearman* (ρ) entre as contagens dos vários tipos polínicos e as vendas de medicação antialérgica no ano 2013. 152

Tabela 5.5. Coeficientes de correlação de Ró de *Spearman* (ρ) entre as contagens dos vários tipos polínicos e as vendas de medicação antialérgica no ano 2014. 154

CAPÍTULO VI – SENSIBILIZAÇÃO A AEROALERGÉNIOS MOLECULARES DE PÓLEN DE GRAMÍNEAS E DE FUNGOS NA POPULAÇÃO DE BEJA

Tabela 6.1. Distribuição de doentes com reatividade a alergénios específicos. 181

Tabela 6.2. Distribuição da população sensibilizada a pólen de gramíneas por alergénios moleculares do pólen de *Phleum*. 183

Tabela 6.3. Distribuição da população sensibilizada ao alergénio Alt a1. 184

Abreviaturas e símbolos

Neste trabalho utilizou-se a simbologia e abreviaturas de acordo com a literatura da especialidade mas em determinadas situações houve necessidade de abreviaturas próprias devidamente identificadas na sua primeira utilização.

% - Percentagem

µm - micrómetros

(N, W, E...) - Pontos cardeais

<Inferior;> superior; ≤inferior ou igual; ≥ superior ou igual; = igual

°C - Graus Celcius

Abr - Abril

CO - Monóxido de carbono

Cup - Cupressaceae

d1 - *Dermatophagoides pteronyssinus*

d2- *Dermatophagoides farinae*

DPOC - Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica

E.A.N.- European Aeroallergen Network

EAS - European Aerobiology Society

EEAP- Estação de esporos atmosférico principal

EPAP - Estação de pólen atmosférico principal

esporos/m³ - Esporos fúngicos por metro cúbico de ar

esporos/m³/dia - Esporos fúngicos por metro cúbico de ar durante um dia

ex1- Multi- alergénio para caspa animal

fx1 - Multi- alergénio alimentar para frutos secos

fx2 - Multi- alergénio alimentar para peixe e marisco

fx5- Multi- alergénio alimentar infantil

Grãos pólen/ m³ - Grãos de pólen por metro cúbico de ar

gx1 - Multi- alergénio para gramíneas

hh - Horas por hectare *IAA - International Association of Aerobiology*

IAA- International Association for Aerobiology

IgE específica - Imunoglobulina do tipo E característica de um determinado alergénio

IgE total - Imunoglobulina do tipo E

IgG – Imunoglobulina do tipo G

Jul - Julho

Jun - Junho

l/mim - Litros por minuto

Mai - Maio

mm³ - Milímetro cúbico

MOC - microscópio ótico composto

mx1 - Multi- alergénio para fungos

Nº - Número

NO₂ - Dióxido de nitrogénio

Nov - Novembro

º - Graus

O₃ - Ozono

Olea - Oleaceae

Out - Outubro

P - Coeficiente de correlação de *Spearman* (nível de significância)

Pla - *Platanus*

Plan - *Plantago*

Poa - Poaceae

Quer- *Quercus*

RPA - Rede Portuguesa de Aerobiologia

Set - Setembro

SO₂ - dióxido de enxofre

SPAIC - Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica

SR- Sem risco

tx1- Multi- alergénio para árvores

ULSBA - Unidade Local de Saúde do Baixo Alentejo

Urt - Urticaceae

wx1 - Multi- alergénio para ervas infestantes

1. Introdução geral

Os primeiros relatos de estudos do conteúdo polínico datam de 1819. Bostock descreveu pela primeira vez o catarro, provocado pelo contacto entre o pólen atmosférico e as vias respiratórias, denominado por “febre do feno”. Em 1873, Charles Blackeley, observou grãos de pólen pela primeira vez e, posteriormente, vários trabalhos em Aerobiologia surgiram um pouco por todo o mundo.

Em Portugal, em 1949, Pinto da Silva, desenvolveu o primeiro estudo aerobiológico nas cidades de Sacavém, Lisboa e Porto em simultâneo (Fernandes, *et al.*, 2010).

O reconhecimento da importância da ciência Aerobiologia em várias vertentes, tal como na agricultura, no estudo das alterações climáticas, na ecologia dos ecossistemas, no património, na evolução das espécies, na economia e na saúde, em particular na área das alergias, levou ao desenvolvimento de metodologias para o seu estudo. A monitorização contínua e permanente dos níveis polínicos tornou-se imprescindível e necessária, dado que vários estudos científicos demonstraram uma relação positiva entre os níveis de alguns grãos de pólen atmosférico e os sintomas alérgicos manifestados pela população numa determinada região (RPA, 2007-2014).

Em resposta a esta necessidade, em 2002 surgiu em Portugal a Rede Portuguesa de Aerobiologia (RPA); serviço público, gratuito, disponibilizado pela Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica (SPAIC). Os seus objetivos são: prever e monitorizar os níveis polínicos e fúngicos diários de forma contínua; criar um banco de informação aerobiológica nacional credível e atualizado permanentemente e divulgar a informação a nível local e nacional sobre os alergénios mais comuns através dos órgãos de comunicação social. Este trabalho é realizado por Biólogos e Imunoalergologistas em parceria. Atualmente são monitorizadas 9 estações: Porto, Vila Real, Coimbra, Castelo Branco, Lisboa, Évora, Portimão, Funchal e Ponta Delgada. A informação polínica é divulgada através do portal da SPAIC em www.spaic.pt ou em

www.rpaerobiologia.com, no Facebook e na primavera o boletim polínico é divulgado pelos meios de comunicação, como jornais, canal televisivo RTP1 e rádios. As amostras recolhidas no Continente são preparadas e analisadas no Laboratório de Palinologia e Aerobiologia do Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade de Évora e as provenientes das estações dos arquipélagos são processadas na Universidade da Madeira (RPA, 2007-2014; SPAIC, 2014).

Ao longo dos anos, foram surgindo redes aerobiológicas um pouco por toda a Europa. Em conjunto formam a *European Aeroallergen Network* (E.A.N.) que é uma rede mais ampla, a nível Europeu que mensalmente transfere a informação aerobiológica recolhida nos vários Centros de Coordenação para o “*European Pollen Data Bank*”, situado na Universidade de Viena. A compilação de informação é uma ferramenta muito útil para diferentes grupos de investigação. Pois permite adequar os extratos alérgicos utilizados no diagnóstico, sendo que o conhecimento das concentrações aerobiológicas numa determinada zona geográfica é de grande utilidade para pacientes alérgicos e clínicos (Caeiro, 2004).

Os esporos de fungos são os bioaerossóis muito abundantes, habitualmente, detetados em concentrações superiores a 1.000 esporos/m³ (Oliveira, *et al.*, 2007) e também estão associados a doenças alérgicas respiratórias. São fatores de mau prognóstico em doentes com patologias como asma, DPOC, doentes transplantados entre outros. A RPA também monitoriza alguns esporos de fungos mas a bibliografia e o conhecimento nesta área é ainda escasso. Os níveis elevados de esporos e o seu tamanho reduzido facilitam a dispersão e o contacto com as vias respiratórias. Associados à sua facilidade de adaptação a vários meios tornam os esporos fúngicos fator de risco para a população alérgica. Por outro lado, a facilidade de colonizarem culturas conferes-lhes também importância na agricultura e, por conseguinte, na economia.

O método de *Hirst* é a metodologia recomendada para a monitorização de grãos de pólen e esporos fúngicos presentes na atmosfera pela *International Association for Aerobiology* (IAA) e *European Aerobiology Society* (EAS) (Caeiro, 2013) e foi a metodologia utilizada neste trabalho.

2. Justificação e objetivos do estudo

2.1. Justificação do estudo

As doenças alérgicas afetam grande parte da população mundial e são um grave problema de saúde pública principalmente em países industrializados (Vasconcelos, *et al.*, 2011) sendo a rinite alérgica e a asma as patologias mais comuns. Aproximadamente 10 a 40% da população mundial sofre de rinite alérgica (Cheng-yao, *et al.*, 2010) e a asma afecta, segundo a Organização Mundial de Saúde mais de 300 milhões de pessoas em todo Mundo. Em Portugal, a asma afecta 10% da população (Sales, 2010) e a rinite, afeta 10 a 70% dependendo do local e população abrangida (Viana, *et al.*, 2014). Frequentemente coexistem, o que representa um factor de gravidade e de mau prognóstico na resposta à terapia (Todo-Bom, *et al.*, 2012).

Segundo “*European Allergy White Paper*” no ano 2000 os custos anuais com doenças alérgicas foram estimados em 29 biliões de euros, incluem: consultas médicas, idas ao serviço de emergência, hospitalizações, terapias, exames complementares de diagnóstico, mas também incapacidade laboral, social e familiar.

Este estudo surgiu porque a cidade de Beja reúne condições climáticas e biogeográficas propícias para o desenvolvimento de espécies consideradas muito alérgicas, tal como Poaceae e Oleaceae. Apesar disto, não faz parte das cidades monitorizadas pela Rede Portuguesa de Aerobiologia e os níveis de bioaerossóis polínicos e fúngicos e a sua influência na saúde dos doentes alérgicos permanece desconhecida.

2.2. Objetivos do estudo

2.2.1. Objetivo geral

- Analisar o impacto de bioaerossóis polínicos alergizantes e de esporos fúngicos de *Alternaria* e *Cladosporium* na doença alérgica respiratória na cidade de Beja.

2.2.2. Objetivo específicos

- Analisar o espectro polínico da atmosfera da cidade de Beja, através do uso de um *Burkard Seven Day Volumetric Spore-trap®*, um coletor de impacto volumétrico;

- Analisar o conteúdo dos esporos fúngicos de *Alternaria spp* e *Cladosporium spp* na atmosfera da cidade de Beja;

- Analisar a influência dos parâmetros meteorológicos sobre as concentrações de pólen e de esporos de fungos presentes na atmosfera de Beja;

- Conhecer a sensibilização a aeroalergénios da população de Beja, através da análise da sensibilização dos utentes do Hospital José Joaquim Fernandes – Beja [Unidade Local de Saúde do Baixo Alentejo, EPE (ULSBA)];

- Analisar a correlação entre as contagens polínicas e o acesso a cuidados de saúde. Quer seja recorrendo ao Serviço de Emergência Médica quer seja pelo acesso a medicação antialérgica;

- Analisar a correlação entre os níveis de esporos fúngicos de *Alternaria spp* e *Cladosporium spp* e o estado de saúde dos doentes alérgicos;

- Determinar se os doentes sensibilizados a gramíneas apresentam provas positivas para alergénios característicos da espécie (Phl p1, Phl p5) ou se pelo contrário, são sensibilizados por alergénios característicos de reatividade cruzada como Profilina e Polcalcina (Phl p7 Phl p12). Informação importante no seu tratamento.

- Determinar se os doentes sensibilizados a fungos, apresentam provas positivas para Alt a1, alergénio característico da espécie *Alternaria alternata*.

3. Material e Métodos

3.1. Desenho de estudo

Numa primeira fase, o estudo realizado foi do tipo descritivo, consistiu em descrever e caracterizar os níveis polínicos de interesse alergológico e também dos esporos de fungos *Alternaria* e *Cladosporium* na cidade de Beja. Também as condições meteorológicas foram caracterizadas durante o período de estudo.

Numa segunda fase, o estudo foi do tipo descritivo-correlacional, mais especificamente relacionaram-se os níveis polínicos e fúngicos, através da análise de correlação de *Spearman*, com variáveis climatológicas, com o acesso ao Serviço de Emergência Médica e com a venda de embalagens de antialérgicos.

O estudo aqui apresentado foi do tipo descritivo retrospectivo, porque analisou as provas de sensibilização alérgica realizadas no Hospital José Joaquim Fernandes entre os anos de 2010 e 2015 (Fortin, 1999).

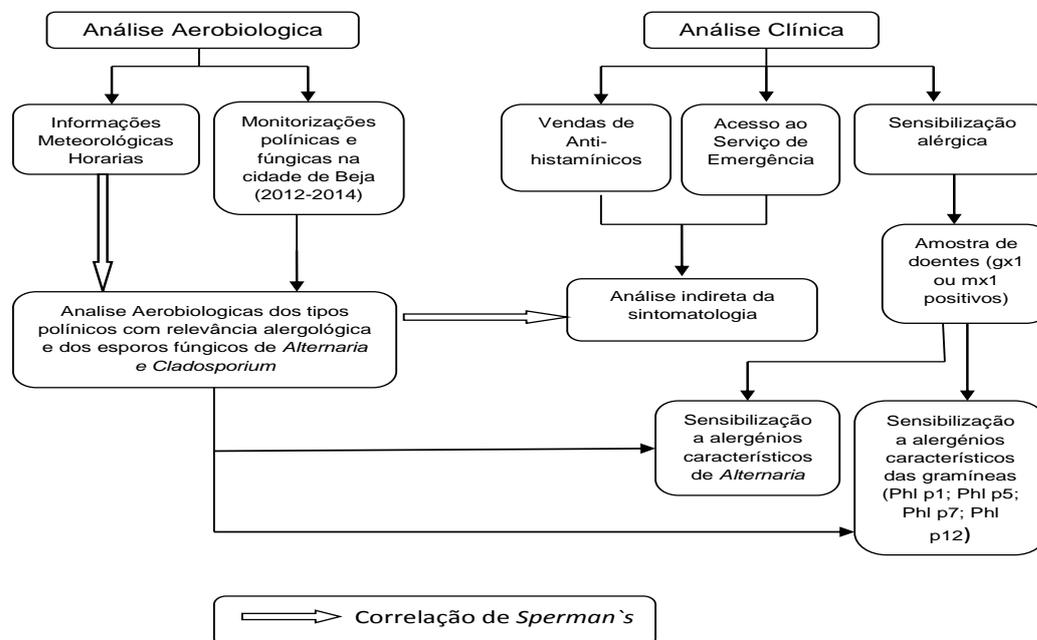


Figura 0.1. Esquema do Desenho Metodológico do Estudo.

3.2. Caracterização biofísica da área de estudo

3.2.1. Localização geográfica

O distrito de Beja é o mais extenso do país, representa 11,5% da área continental e tem 36.000 habitantes (Fernandes, *et al.*, 2010).

É limitado a Norte pelo Distrito de Évora, a Este por Espanha, a Sul pela Região do Algarve e a Oeste pelo Oceano Atlântico e o Distrito de Setúbal. Situa-se na Região Alentejo, e distribui-se por 14 Concelhos: Aljustrel, Almodôvar, Alvito, Barrancos, Beja, Castro Verde, Cuba, Ferreira do Alentejo, Mértola, Moura, Ourique, Serpa e Vidigueira, e ao Alentejo Litoral pertence o concelho de Odemira (Figura 0.2.).

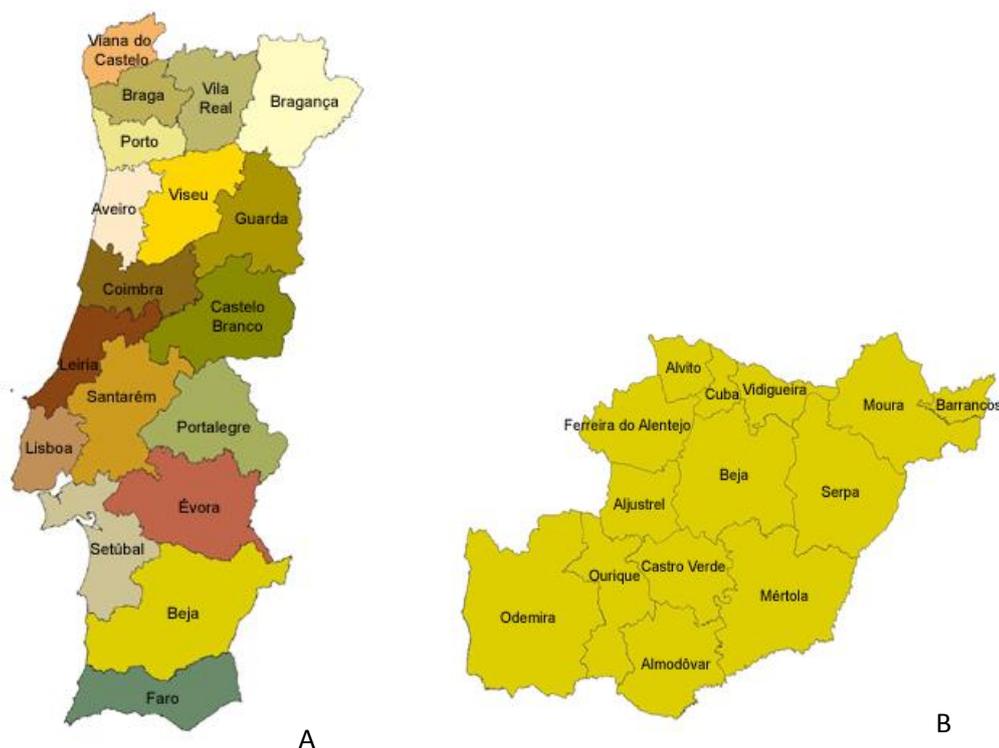


Figura 0.2. A- Mapa de Portugal onde se evidenciam os diferentes distritos. B- 14 concelhos pertencentes ao Distrito de Beja. Imagem adaptada de Bibliotecas, (2015).

É constituído por uma extensa planície, cortada apenas por serras de baixa altitude. Toda a parte Sudeste do Distrito é plana e estende-se sem interrupção pelos Concelhos de Mértola, Serpa, Castro Verde e Almodôvar (Beja, 2008).

Beja é a cidade que dá nome ao Concelho; situada no Baixo Alentejo na Região Sul de Portugal, com aproximadamente 23.000 habitantes; é sede de um dos maiores municípios do país, com uma área de aproximadamente 1.140,21 Km². A cidade está localizada a uma latitude 38°01'N e longitude 7°52' W, cerca de 300m acima do nível do mar e a uma distância de 15 Km do Rio Guadiana e 100Km do Oceano Atlântico e dista também 70Km da barragem Alqueva o maior lago artificial da Europa (Fernandes, *et al.*, 2010).



Figura 0.3. Fotografia da cidade de Beja, pode ver-se a planície que a rodeia e o seu belo castelo no centro. Imagem adaptada de Portuguesa,(2015).

3.2.2. Características biogeográficas

A biogeografia é a ciência que relaciona a geografia de um determinado território com a distribuição da flora nessa região.

Do ponto de vista biogeográfico a área do Baixo Alentejo insere-se no Reino Holártico do qual fazem parte a Europa, o Norte de Africa, a América do Norte e parte da Ásia, e nas seguintes subclassificações:

Região- Mediterrânica

Sub-região- Mediterrânica Ocidental

Superprovíncia - Mediterrânica Ibero- Atlântica

Província- Luso-Extremadureense

Sector- Mariânico-Monchiquense

Subsector- Baixo Alentejano-Monchiquense

Superdistrito- Baixo Alentejano

Caracteriza-se por um clima tipicamente mediterrânico, um Verão quente e seco e um inverno moderadamente chuvoso (Pinto, *et al.*, 2011). Por estas características a paisagem é típica de montado onde abundam as planícies e com predominância de árvores como *Quercus spp.* e *Olea europaea*, entre outros (Brandão, 1996). A família das *Poaceae* é também muito frequente no estrato herbáceo quer como infestantes ou quer como cultivadas (Costa, *et al.*, 1998).

3.3. Análise aerobiológica

3.3.1. Localização do coletor

O coletor localizou-se no telhado do Hospital José Joaquim Fernandes em Beja ($38^{\circ} 00' 54''$ N; $7^{\circ} 51' 47''$ W; 286 m acima do nível do mar) 30 m acima do nível do solo). Em redor não existia qualquer edifício ou outra barreira arquitetónica que pudesse servir de obstáculo e impedisse os grãos de pólen de serem capturados pelo coletor (Figura 0.4).

Atualmente, este hospital está integrado na Unidade Local de Saúde do Baixo Alentejo (ULSBA) e desempenha um importante papel no que diz respeito à saúde e cuidados de saúde primários no distrito de Beja.



Figura 0.4. Hospital José Joaquim Fernandes em Beja (ULSBA), local onde foi colocado o coletor polínico. Figura adaptada de Google (2015).

3.3.2. Paisagem

O recinto do Hospital está integrado na cidade e é composto por parques de estacionamento vários e jardins, onde se podem encontrar árvores de grande porte, como por exemplo, Cupressaceae, Pinaceae e, algumas árvores mais jovens, como *O. europaea* e *C. reticulata*. Há também algumas herbáceas e arbustos ornamentais. As ruas de acesso são ornamentadas com grandes *Celtis australis* e alguns *Platanus hybrida*.

Na cidade, ao longo das ruas e jardins, encontram-se distribuídos árvores e arbustos ornamentais onde predominam os *Platanus hybrida*, as Cupressaceae, e alguns *Salix*. Existe também um parque de lazer, na zona periférica da cidade, onde abundam os eucaliptos.

3.3.3. Período de amostragem

A recolha das amostras foi realizada às quartas-feiras aproximadamente pelas 12:00 horas. O coletor manteve-se em funcionamento sem interrupções desde 12 de abril de 2012 até 30 de julho de 2014, exceto entre as 12:00 do dia 4 de julho de 2012 e as 16:00h do dia 5 de julho do mesmo ano, ou seja durante este período apenas faltam cerca de 28 horas de amostragem que não se obtiveram por razões técnicas. Monitorizaram-se 2 anos e aproximadamente 3 primaveras consecutivas.

3.3.4. Método de recolha das amostras

A recolha de bioaerossóis pode ser realizada por vários métodos, variando consoante os objetivos pretendidos (Piotrowska & Weryszko-Chmielewska, 2003). Neste caso, utilizou-se um coletor volumétrico do tipo *Hirst*, tipo de coletor mais utilizado e o recomendado para estudos que tal como este pretendem conhecer o conteúdo em grãos de pólen e esporos de fungos presentes na atmosfera, permitindo quantificações diárias e horárias (Santiago & García, 2002; Galán *et al.*, 2014). Este tipo de coletor é o utilizado pela Rede Portuguesa de Aerobiologia (RPA) e pela maioria das redes de Aerobiologia europeias (Santos, 2011; Galán, *et al.*, 2014).

Neste estudo, o coletor utilizado foi um *Burkard Seven Day Volumetric Spore-trape®* (Figura 0.5.).



Figura 0.5. Fotografia do coletor *Burkard Seven Day Volumetric Spore-trape®* (RPA, 2007-2014).

O princípio desta metodologia de *Hirst* é fazer incidir as partículas presentes num determinado volume de ar numa bobine que contem uma fita de Melinex previamente impregnada com uma substância adesiva, neste caso

utilizou-se uma solução de silicone (Caeiro, 2013). O coletor é constituído por 3 partes: “cabeça”, bomba de vácuo e cata-vento. A bomba de vácuo aspira 10 litros de ar por minuto, quantidade similar à inspirada pelo homem. Desta forma pode-se relacionar os resultados obtidos com a sintomatologia dos doentes com polinose. A “cabeça” possui um sistema de suporte para uma bobine ou tambor ao qual está acoplado um mecanismo rotativo (sistema de relojoaria) que permite que a bobine se desloque a uma velocidade de 2 mm por hora com capacidade para 7 dias de amostragem consecutivos, e possui um orifício por onde o ar sugado entra. Anexado à “cabeça” possui um cata-vento que funciona como leme, orientando o orifício na direção do vento dominante garantindo uma maior eficiência na captura de partículas (Santos, 2011).

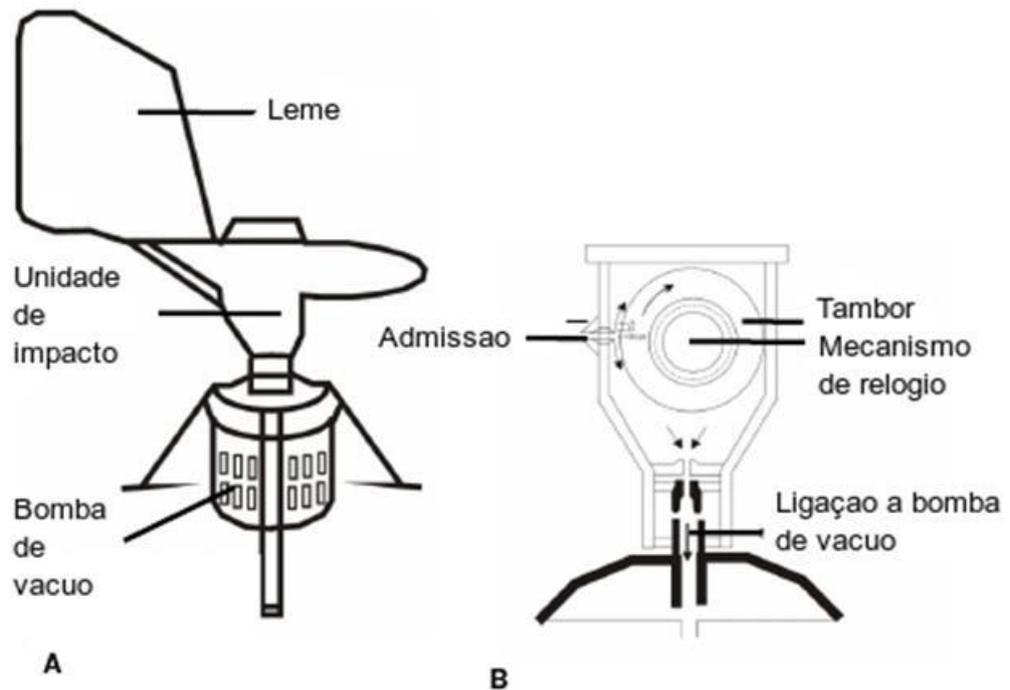


Figura 0.6. Coletor volumétrico do tipo *Hirst* (A) e corte esquemático da unidade de impacto (B). (Santos, 2011)

Semanalmente, à mesma hora, a bobine com a fita onde a amostra fica aprisionada através da sucção e impacto, foi recolhida e substituída por uma nova previamente preparada. Através do orifício do coletor, com auxílio de um objeto

pontiagudo, foi efetuada uma marcação na fita de amostragem para em Laboratório se visualizar o início e fim do processo de amostragem.

3.3.5. Análise qualitativa e quantitativa das amostras

Em Laboratório, a fita que continha a amostra media aproximadamente 336 mm de comprimento, foi seccionada em 7 porções iguais (cada de 48 mm) com o auxílio de uma régua padronizada, deste modo, obtiveram-se amostras diárias.

Cada segmento de fita foi colocado entre uma lâmina e uma lamela de microscopia e corada com uma solução de glicerogelatina com fucsina básica. O corante fucsina básica tem a capacidade de evidenciar as características morfológicas dos grãos de pólen facilitando a sua identificação ao microscópio ótico. Esta coloração não altera os esporos de fungos. No final, cada preparação foi selada com verniz para ajudar na sua conservação ao longo do tempo (Caeiro, 2004).

A análise das amostras foi feita por observação ao microscópio ótico (Olympus BX40) a uma ampliação de 400 vezes (Caeiro, 2004). Como apoio para a análise utilizaram-se as lâminas da palinoteca do Departamento de Biologia da Universidade de Évora, e alguma bibliografia da especialidade, tal como, Sulmont, *et al.*, s.d., Punt, *et al.*, (2014) e Punt, *et al.*, (2007).

A análise das amostras é um trabalho moroso e exige alguma experiência e treino. Utilizou-se o método de leitura das 4 linhas longitudinais ao centro da lâmina. Esta metodologia é a recomendada pela IAA – *International Association for Aerobiology* e EAS- *European Aerobiology Society* (Galán, *et al.*, 2014) e a utilizada pela Rede Portuguesa de Aerobiologia (RPA). No final, os resultados foram expressos em número médio de grãos/esporos por metro cúbico de ar.

3.3.6. Análise da informação aerobiológica

3.3.6.1. Estação de pólen atmosférico principal (EPAP) e Estação de esporos atmosférico principal (EEAP)

Neste trabalho utilizou-se o método de Nilsson & Persson (1981) para a determinação da estação de pólen atmosférico principal (EPAP) dos principais taxa. Segundo esta metodologia a EPAP corresponde ao período em que a soma das concentrações polínicas é superior a 5% e inferior a 95%. Esta denominação foi considerada como sendo a mais correta segundo o estudo realizado por *Jato e colaboradores* (2006). Para alguns tipos polínicos, com características invernais (Cupressaceae, Betulaceae e Urticaceae) a EPAP foi calculada com início no dia 1 de Outubro de um ano e com fim no dia 30 de Setembro do ano seguinte (Caeiro, 2013). Para os esporos de fungos utilizou-se a mesma metodologia e denominou-se estação de esporos atmosférica principal (EEAP).

3.3.6.2. Variação Intradiária

A variação horaria ou intradiária é a distribuição das concentrações de pólen ao longo do dia. Para o seu cálculo utilizaram-se os dias da EPAP ou EEAP do ano de 2013 onde as concentrações superaram em média o terceiro quartil e em que não ocorreu precipitação. Este método foi descrito por Galán (1991) e seguido por vários autores (Ribeiro, *et al.*, 2008; Pérez-Badia, *et al.*, 2010; Sousa, *et al.*, 2014).

3.3.6.3. Análise dos níveis de exposição ao pólen

O conhecimento da informação acerca da concentração polínica na atmosfera num determinado período é muito importante para os doentes alérgicos e Imunoalergologistas. Quanto maior for a concentração de alergénio no ar, maior

será a probabilidade de provocar sintomatologia nos indivíduos com alergia ao pólen. A Rede Portuguesa de Aerobiologia (RPA) desenvolveu classes para caracterizar os níveis polínicos tendo em conta os sintomas que podem desencadear na população com polinose. São classes de risco nulo (0 grãos de pólen/m³), baixo (1-30 grãos de pólen/m³), moderado (31-50 grãos de pólen/m³), elevado (51-100 grãos de pólen/m³) e muito elevado (> 100 grãos de pólen/m³). Neste caso, utilizaremos apenas as três últimas classes por serem as que representam maior importância clínica (Caeiro, 2013; RPA, 2007-2014). Apenas o período correspondente à EPAP/ EEAP foi considerado.

3.3.6.4. Calendário polínico

O calendário polínico representa aerobiologicamente uma determinada área tendo em conta as suas próprias características geográficas, climatéricas, flora e vegetação. Monitoriza as quantidades e variações atmosféricas dos tipos polínicos mais significativos. É uma importante ferramenta a nível alergológico, pois ajuda a planear as atividades dos doentes de forma a evitar a exposição ao alergénio.

É uma representação em escala das médias de 10 dias consecutivos. Apenas se consideraram médias superiores a 1 grão/m³ dos tipos polínicos representativos (Pérez-Badia, *et al.*, 2010). Determinou-se o calendário polínico para o ano de 2013 (Recio, *et al.*, 1998; Docampo, *et al.*, 2007; Pérez-Badia, *et al.*, 2010).

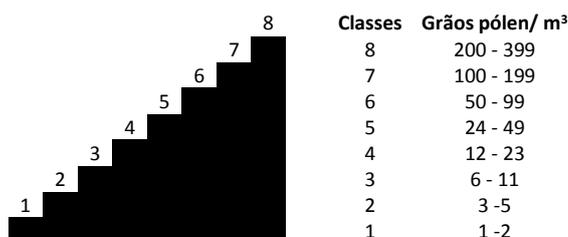


Tabela 0.1. Representação das classes e concentrações de grãos de pólen. Modificado e adaptado de Pérez-Badia, *et al.*, (2010).

3.4. Parâmetros meteorológicos

Neste estudo usaram-se os dados meteorológicos: temperatura, insolação, humidade relativa, precipitação e vento (direção e velocidade), horários relativos ao período de estudo e foram cedidos pelo departamento de meteorologia da Base Aérea nº11 de Beja.

3.5. Análise Clínica

3.5.1. Doseamento de IgE total e específica

A quantidade total de imunoglobulinas do tipo E, e a quantidade de imunoglobulinas específica para um determinado alérgénio são um importante indicador da presença de uma doença alérgica mediada por IgE e uma ferramenta essencial de diagnóstico.

No sentido de analisar os indivíduos com sensibilização alérgica da população de Beja que recorreram ao Laboratório de análises clínicas do Hospital José Fernandes analisaram-se os resultados dos doentes que realizaram análises clínicas nos últimos cinco anos (2010-2015). Na seleção dos doentes utilizou-se o sistema de gestão Clinidata ®XXI que é um sistema de gestão de laboratório de análises clínicas e de diagnóstico. Desta forma, foi possível aceder aos resultados clínicos e a algumas informações pessoais, como a idade e o género.

Neste trabalho, utilizou-se o resultado das determinações de IgE realizadas pelo analisador automático Phadia ® 250 comercializado pela Thermo Fisher Scientific; teste concebido como imunoensaio em sanduíche, e foram respeitadas todas as indicações do fabricante na realização dos testes.

3.5.2. Efeitos dos aeroalergénios na saúde da população - Necessidade de recorrer ao Serviço de Urgência Hospitalar

No sentido de analisar o efeito dos aeroalergénios na saúde da população de Beja estudaram-se os indivíduos que recorreram ao Serviço de Urgência do Hospital José Joaquim Fernandes com sintomatologia de patologias respiratórias (asma e/ou rinite alérgica) durante os anos de estudo (2012 a 2014).

Na seleção dos doentes utilizou-se a tecnologia ALERT® que é uma solução multidisciplinar para informatizar a informação clínica dos hospitais. A seleção teve por base o diagnóstico realizado pela triagem.

3.5.3. Venda de medicação antialérgica

Neste estudo, no sentido de complementar a informação acerca da sintomatologia dos doentes com polinose em Beja, durante o período de estudo, utilizou-se o número de vendas mensais dos cinco medicamentos da classe dos anti-histaminicos H1 (Desloratadina, Ebastina, Cloridrato de fexofenadina, Diclororidrato de levocetirizina e Dicloridrato de cetirizina) mais utilizados. Essa informação foi solicitada às farmácias da cidade de Beja: Farmácia Oliveira, Farmácia Palma, Farmácia Santos, Farmácia Fonseca, Farmácia Silveira, Farmácia Central e Farmácia J. Delgado.

3.6. Análise Estatística

Na análise dos resultados utilizaram-se diversos métodos estatísticos, entre os quais, métodos descritivos: as médias diárias, as caracterizações das EPAP e das EEAP (inícios, fins, duração em n.º de dias e concentrações máximas).

Uma vez que os dados para análise apresentam uma distribuição não normal utilizaram-se testes estatísticos não paramétricos:

O teste *Mann-Whitney* foi utilizado para comparar os períodos homólogos do ano de 2012 com o ano 2013 e 2013 com 2014.

O coeficiente de correlação de *Spearman*, em substituição do paramétrico de *Pearson*, permitiu estabelecer uma relação entre:

- a) os valores horários polínicos/fúngicos e os parâmetros meteorológicos e confirmar de que forma é que os fatores meteorológicos influenciam ou não as variações nas concentrações atmosféricas.
- b) os níveis polínicos ou fúngicos e o acesso dos doentes ao Serviço de Urgência; e
- c) os níveis polínicos ou fúngicos os níveis polínicos e as vendas de medicação antialérgica nas farmácias da cidade Beja.

Foram consideradas as seguintes hipóteses:

H0 = A variável X não influencia a variável Y;

H1 = A variável X influencia a variável Y;

***Nível de confiança 99.9%, $p < 0,001$

**Nível de confiança 99%, $p < 0,01$

*Nível de confiança 95%, $p < 0,05$

Para a análise dos dados utilizaram-se os programas Microsoft Office Excel 2007 e IBM SPSS Statistics 21.

Capítulo I

Conteúdo Polínico da Atmosfera da Cidade de Beja



Figura 1. 1. Fotografia de parte da paisagem da região de Beja.

1.1. Introdução

Aerobiologia é uma ciência que estuda os bioaerossóis (organismos e partículas biológicas) transportados de uma forma passiva na atmosfera, entre os quais se encontram os grãos de pólen, esporos de fungos, bactérias, vírus, entre outros (Otertos, *et al.*, 2013). A aeropalinologia é uma das vertentes da Aerobiologia e estuda o conteúdo polínico da atmosfera, numa determinada cidade, região e origem geográfica, quantidades e períodos de emissão (Ribeiro, *et al.*, 2008).

Os grãos de pólen correspondem ao gametófito masculino nas plantas *Spermatophyta* e resultam de um processo meiótico das células-mãe e podendo ser células bi ou trinucleadas envoltas numa parede, importante na proteção. A sua função biológica é transportar os gâmetas masculinos e fertilizar os óvulos (Lidon, *et al.*, 2005). As condições adversas (altas temperaturas, processos mecânicos e desidratação) podem inviabilizar a sua função (Molina, *et al.*, 2001). A parede externa do grão de pólen, designada exina exerce uma importante função de proteção, sendo constituída por uma substância muito resistente, a esporopolenina. Além da parede externa, apresenta uma parede interna, designada de intina, que é mais fina, e constituída por celulose e pectina, com características semelhantes a uma parede celular que, por sua vez, envolve o citoplasma ou protoplasma.

A identificação dos grãos de pólen ao microscópio ótico é efetuada com base em várias características morfológicas: tamanho, forma, estrutura, ornamentação, número, tipo e disposição das aberturas na superfície do grão. Nem sempre é possível levar a identificação até ao nível da espécie, muitas vezes só ao género, ou à família (Rodríguez, *et al.*, 2010).

O pólen é muito importante para a reprodução das espécies e para o equilíbrio biológico de uma determinada região. Mas também a nível socioeconómico, com por exemplo, na viticultura, oleicultura e apicultura (Pasquale, *et al.*, 2013).

O presente estudo realizou-se na cidade de Beja localizada na região do Baixo Alentejo, onde o clima é tipicamente Mediterrânico. A região de Beja é tradicionalmente agrícola, tem vindo a melhorar a cultura de sequeiro e a implementar o regadio. A região caracteriza-se por apresentar grandes planícies com uma paisagem característica de montado onde abundam os sobreiros, que ocupam aproximadamente 1,3 milhões de hectares (Pinto, *et al.*, 2011) e as cearas (de trigo, cevada, ou aveia) e pastagens. A vinha e o olival são também importantes na região e o seu cultivo tem vindo a aumentar. Este tipo de vegetação que constitui a paisagem de Beja origina a presença de elevadas concentrações de pólen, na atmosfera, durante a primavera com capacidade alergológica. Alguns grãos de pólen provenientes de determinadas plantas são conhecidos como contendo alergénios, um claro e bem conhecido exemplo é o pólen das gramíneas que é frequentemente associado a sintomatologia alérgica (Belver, *et al.*, 2007).

Por conseguinte, o estudo do conteúdo em bioaerossóis polínicos da atmosfera da região é de extrema importância. Atualmente conhecem-se dois estudos efetuados em Beja. O primeiro realizado por Brandão, em 1996, e o segundo por Fernandes e seus colaboradores, em 2010 que analisaram o conteúdo polínico da atmosfera e relacionaram-no com a vegetação envolvente. Assim, com vista a aumentar o conhecimento e a base de dados sobre os grãos de pólen na região, o principal objectivo deste trabalho foi analisar o conteúdo polínico da atmosfera da cidade de Beja, através dum método volumétrico, com o uso de um *Burkard Seven Day Volumetric Spore-trap*®, um coletor de sucção baseado no princípio básico de impacto.

1.2. Material e Métodos

Neste estudo analisaram-se os dados das monitorizações efetuadas durante o período de estudo de 14 tipos polínicos diferentes (Figura 1.2.). Destes tipos polínicos fazem parte os principais tipos com interesse alergológico e que são monitorizados pela Rede Portuguesa de Aerobiologia.

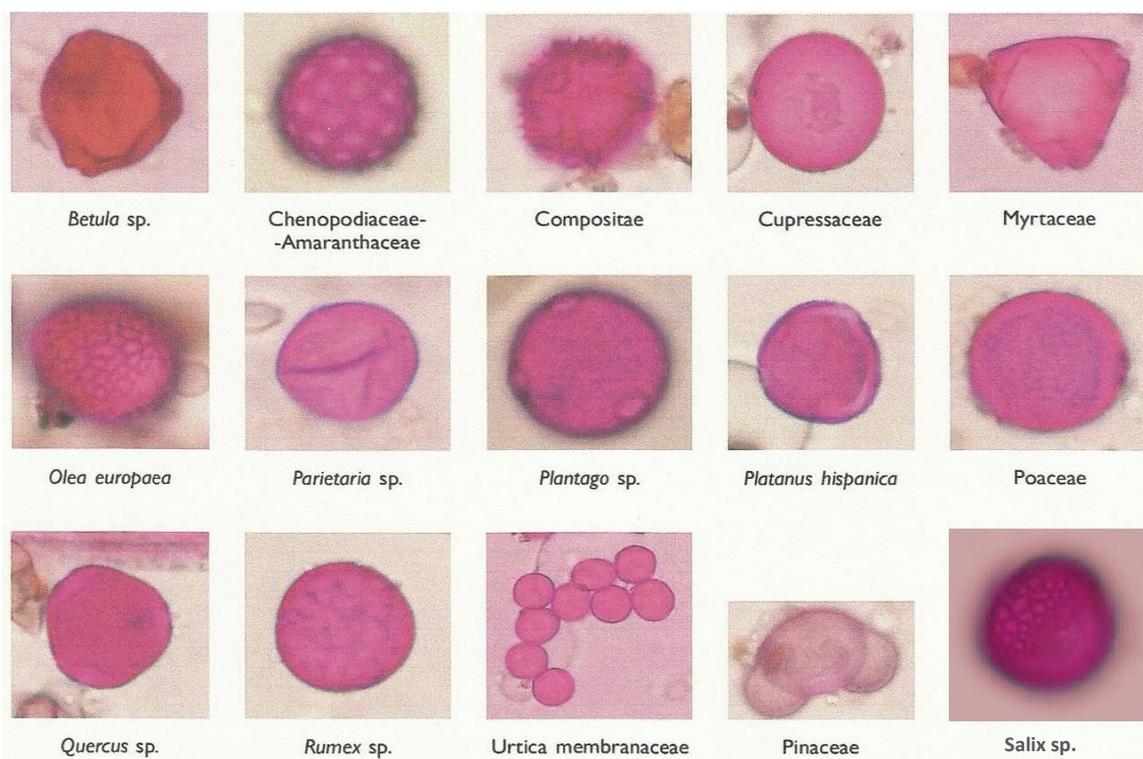


Figura 1.2. Tipos polínicos identificados. Adaptado e modificado de Caeiro, *et al.*, (2007).

Em suma, os tipos polínicos monitorizados foram os seguintes: Betulaceae, Amaranthaceae, Cupressaceae, Myrtaceae, Oleaceae, Pinaceae, *Plantago*, *Platanus*, Poaceae, *Quercus*, Asteraceae, *Rumex*, *Salix* e Urticaceae (Caeiro, *et al.*, 2007). Todos os outros grãos de pólen, menos frequentes na região ou sem importância alergológica, foram incluídos na categoria dos “diversos”; e os grãos que se encontravam de tal forma que não permitia a sua identificação foram incluídos na categoria dos “não identificados” (ou NI) (RPA, 2007-2014; Santiago & García, 2002).

1.3. Resultados

1.3.1. Caracterização interanual

1.3.1.1. Ano de 2012

A recolha de amostras em 2012 deu início no dia 12 de abril. Na totalidade, neste ano, foram analisados aproximadamente 20.715 grãos de pólen.

Como se pode observar na Figura 1.3. a maioria dos grãos de pólen identificados pertenceram aos tipos Poaceae (32%) e Oleaceae (21%) seguidos do tipo *Quercus* (14%). Tipos com uma representação inferior a 1% não se encontram representados.

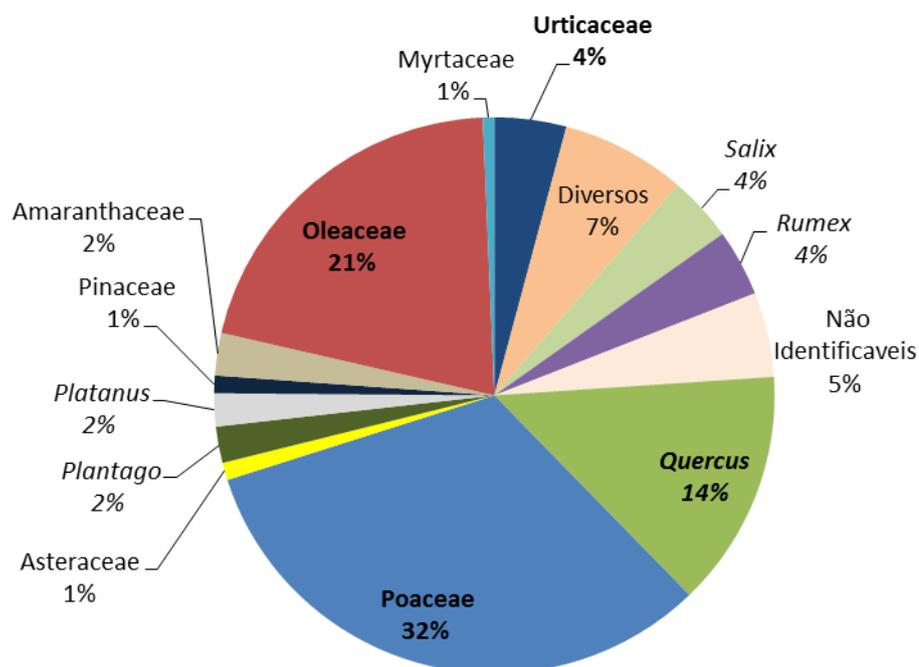


Figura 1.3. Representação em percentagem dos tipos polínicos analisados durante o ano de 2012.

1.3.1.2. Ano de 2013

No ano de 2013 monitorizou-se um total de 26.637 grãos de pólen.

No espectro polínico (Figura 1.4.) predominaram os tipos Poaceae 28%, *Quercus* 15%, Oleaceae 13%, Urticaceae 7% e Cupressaceae 5%.

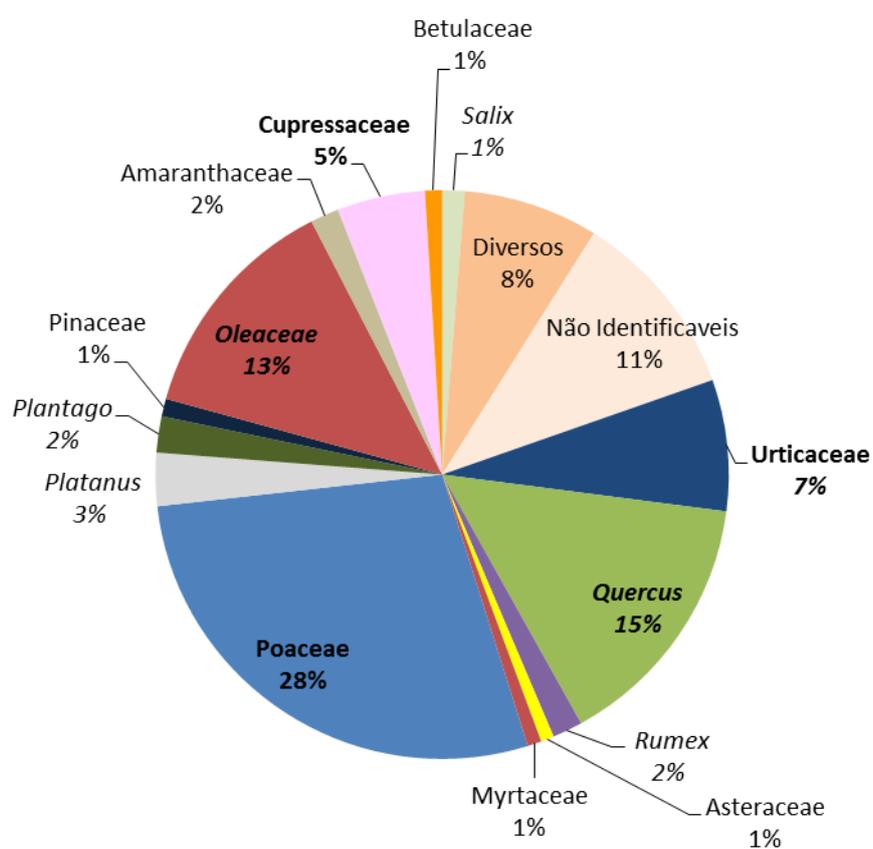


Figura 1.4. Representação em percentagem dos tipos polínicos analisados durante o ano de 2013.

1.3.1.3. Ano de 2014

No período de 2014 registaram-se aproximadamente 35.831 grãos de pólen. No espectro polínico (Figura 1.5.) os tipos polínicos mais abundantes foram *Quercus* 30%, *Poaceae* 27%, *Oleaceae* 14%, *Urticaceae* 9% e *Cupressaceae* 6%. Os restantes tipos apresentam valores de representatividade bastante inferiores.

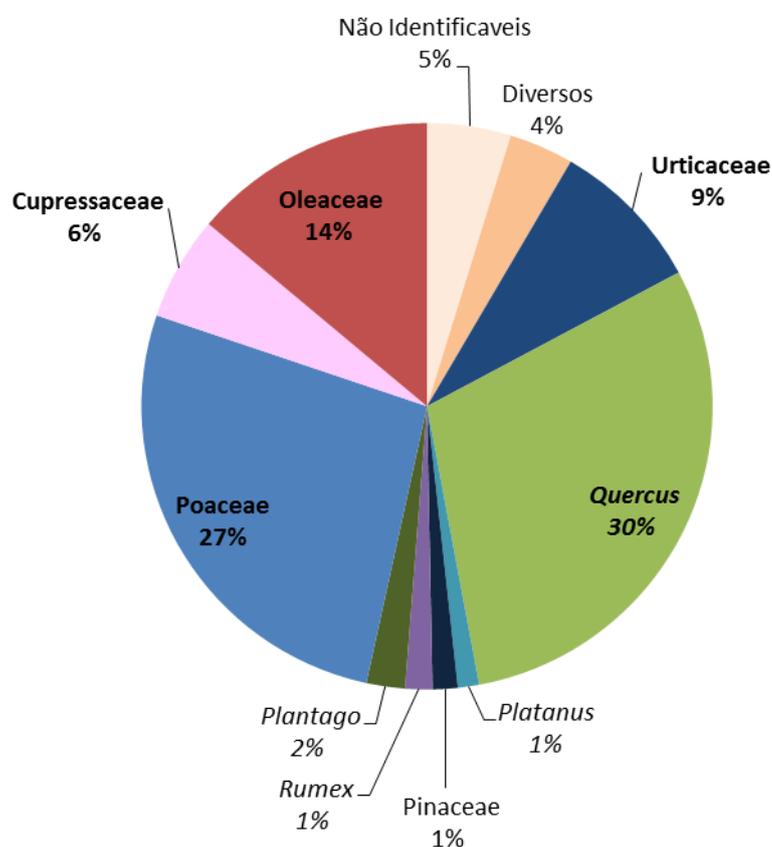


Figura 1.5. Representação em percentagem dos tipos polínicos analisados durante o ano de 2014.

1.3.2. Caracterização da Estação Polínica Atmosférica Principal (EPAP)

Na tabela seguinte, encontra-se de uma forma sumaria as características durante a EPAP de todos os tipos polínicos estudados durante o ano de 2013.

Tabela 1.1. Características da EPAP dos vários tipos polínicos estudados durante o ano de 2013.

Tipos polínicos	EPAP						
	Total de pólen	Nº Médio (grãos/m ³)	Data de início	Data de fim	Duração (dias)	Máximo	
						Valor (grãos/m ³)	Data
Betulaceae	62	0.4	16/12/2012	21/05/2013	157	9	28/04/2013
Urticaceae	1811	7	23/12/2012	29/08/2013	250	69	18/04/2013
Cupressaceae	1149	19	29/01/2013	30/03/2013	61	127	19/02/2013
Rumex	410	3	05/02/2013	03/06/2013	118	23	24/04/2013
Pinaceae	243	2	06/03/2013	09/07/2013	126	19	27-04-2013
Myrtaceae	193	1	03/04/2013	15/08/2013	134	10	03/04/2013
Quercus	3428	27	04/04/2013	06/08/2013	125	360	18/04/2013
Plantago	547	1	04/04/2013	04/07/2013	92	37	09/05/2013
Platanus	651	7	04/04/2013	04/07/2013	92	49	15/05/2013
Salix	304	4	09/04/2013	22/06/2013	75	26	08/05/2013
Poaceae	6656	78	11/04/2013	04/07/2013	85	560	22/05/2013
Amaranthaceae	265	2	27/04/2013	07/10/2013	230	11	15/05/2013
Asteraceae	176	1	27/04/2013	17/09/2013	144	12	04/06/2013
Oleaceae	3272	62	08/05/2013	29/06/2013	50	603	15/05/2013

1.3.3. Caracterização da estação primaveril

1.3.3.1. Ano de 2012

Na Tabela 1.2., encontra-se de uma forma sumaria as características durante a primavera de todos os tipos polínicos estudados durante o ano de 2012.

Tabela 1.2. Características da primavera do ano de 2012 de todos os tipos polínicos estudados.

Tipos polínicos	Primavera 2012			
	Total de pólen	Nº Médio (grãos/m ³)	Máximo	
			Valor (grãos/m ³)	Data
Betulaceae	60	1	6	10/05/2012
Urticaceae	500	7	37	13/05/2012
Cupressaceae	72	1	7	17/04/2012
Rumex	781	11	137	17/05/2012
Pinaceae	200	3	24	19/05/2012
Myrtaceae	91	1	10	15/05/2012
Quercus	2325	33	195	31/05/2012
Plantago	329	4	19	18/04/2012
Platanus	392	6	54	24/05/2012
Salix	772	11	122	15/05/2012
Poaceae	5855	82	694	13/05/2012
Amaranthaceae	327	5	25	17/05/2012
Asteraceae	132	2	9	18/05/2012
Oleaceae	4045	57	667	16/05/2012

1.3.3.2. Ano de 2013

Na tabela seguinte, encontra-se de uma forma sumaria as características durante a primavera de todos os tipos polínicos estudados durante o ano de 2013.

Tabela 1.3. Características da primavera do ano de 2013 de todos os tipos polínicos estudados.

Tipos polínicos	Primavera 2013			
	Total de pólen	Nº Médio (grãos/m ³)	Máximo	
			Valor (grãos/m ³)	Data
Betulaceae	32	0.3	9	28/04/2013
Urticaceae	1021	11	69	18/04/2013
Cupressaceae	87	1	18	22/03/2013
Rumex	327	3	23	24/04/2013
Pinaceae	179	19	19	24/04/2013
Myrtaceae	36	1	8	24/04/2013
Quercus	3627	37	360	18/04/2013
Plantago	477	5	37	09/05/2013
Platanus	726	8	49	15/05/2013
Salix	301	3	26	08/05/2013
Poaceae	6455	69	560	22/05/2013
Amaranthaceae	126	2	11	15/05/2013
Asteraceae	119	1	12	04/06/2013
Oleaceae	3100	33	603	15/05/2013

1.3.3.3. Ano de 2014

Na Tabela 1.4., encontra-se de uma forma sumaria as características durante a primavera de todos os tipos polínicos estudados durante o ano de 2014.

Tabela 1.4. Características da primavera do ano de 2014 de todos os tipos polínicos estudados

Tipos polínicos	Primavera 2014			
	Total de pólen	Nº Médio (grãos/m ³)	Máximo	
			Valor (grãos/m ³)	Data
<i>Betulaceae</i>	16	0.2	4	01/05/2014
<i>Urticaceae</i>	1996	21	142	09/04/2014
<i>Cupressaceae</i>	148	2	37	20/03/2014
<i>Rumex</i>	461	5	30	09/04/2014
<i>Pinaceae</i>	462	5	73	28/04/2014
<i>Myrtaceae</i>	19	0.2	2	13/05/2014
<i>Quercus</i>	10123	108	1977	09/04/2014
<i>Plantago</i>	744	8	53	09/05/2014
<i>Platanus</i>	277	3	74	26/03/2014
<i>Salix</i>	20	2	0.1	20/03/2014
<i>Poaceae</i>	8834	94	937	14/05/2014
<i>Amaranthaceae</i>	153	2	19	06/05/2014
<i>Asteraceae</i>	182	2	16	15/05/2014
<i>Oleaceae</i>	4859	52	733	06/05/2014

1.3.3.4. Comparação de Primaveras: Anos de 2012, 2013 e 2014

A) Totais Primaveris

Na Tabela 1.5., encontram-se os índices totais primaveris dos anos de 2012, 2013 e 2014.

Tabela 1.5. Índices totais das primaveras durante o período em estudo.

	Primavera		
	2012	2013	2014
TOTAL	15881	16613	28294

B) Índices dos vários tipos polínicos

Na Tabela 1.6., encontram-se os índices dos vários tipos polínicos durante as primaveras dos anos de 2012, 2013 e 2014.

Tabela 1.6. Índices primaveris dos vários tipos polínicos durante as primaveras dos anos de 2012, 2013 e 2014 na cidade de Beja.

Tipos polínicos	Primavera		
	2012	2013	2014
Betulaceae	60	32	16
Urticaceae	500	1021	1996
Cupressaceae	72	87	148
Rumex	781	327	461
Pinaceae	200	179	462
Myrtaceae	91	36	19
Quercus	2325	3627	10123
Plantago	329	477	744
Platanus	392	726	277
Salix	772	301	20
Poaceae	5855	6455	8834
Amaranthaceae	327	126	153
Asteraceae	132	119	182
Oleaceae	4045	3100	4859

C) Espectros primaverais

As figuras seguintes representam graficamente os espectros polínicos das primaveras de 2012, 2013 e 2014.

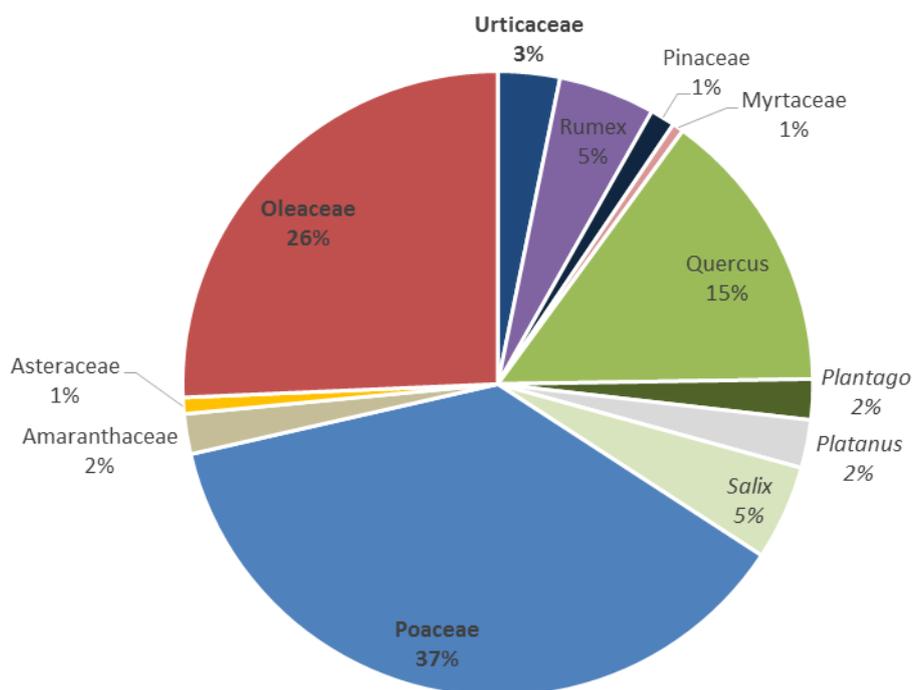


Figura 1.6. Espectro polínico da primavera do ano de 2012 em Beja.

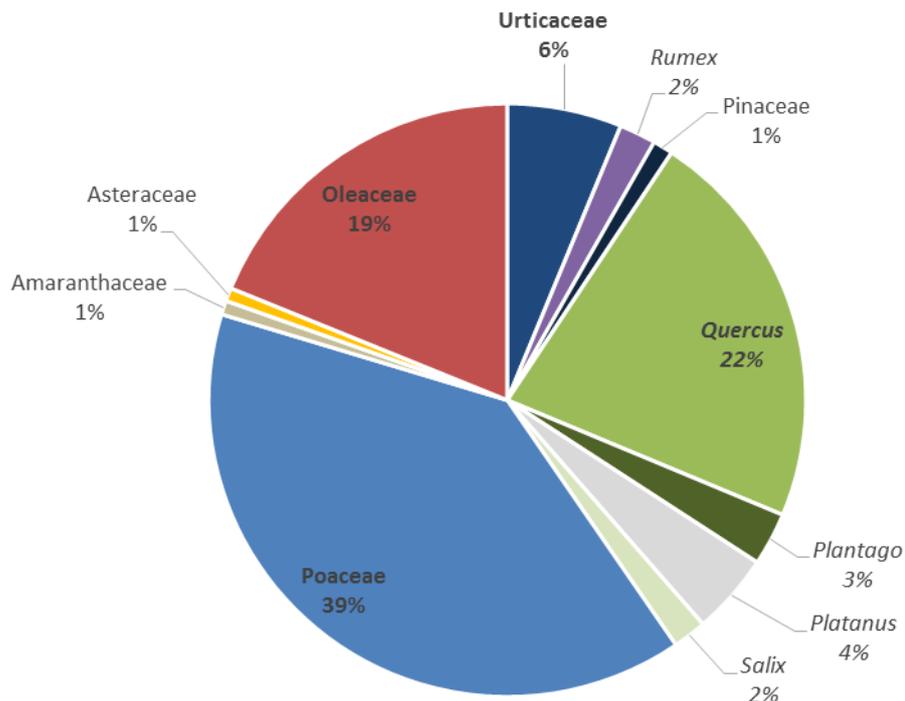


Figura 1.7. Espectro polínico da primavera do ano de 2013 em Beja.

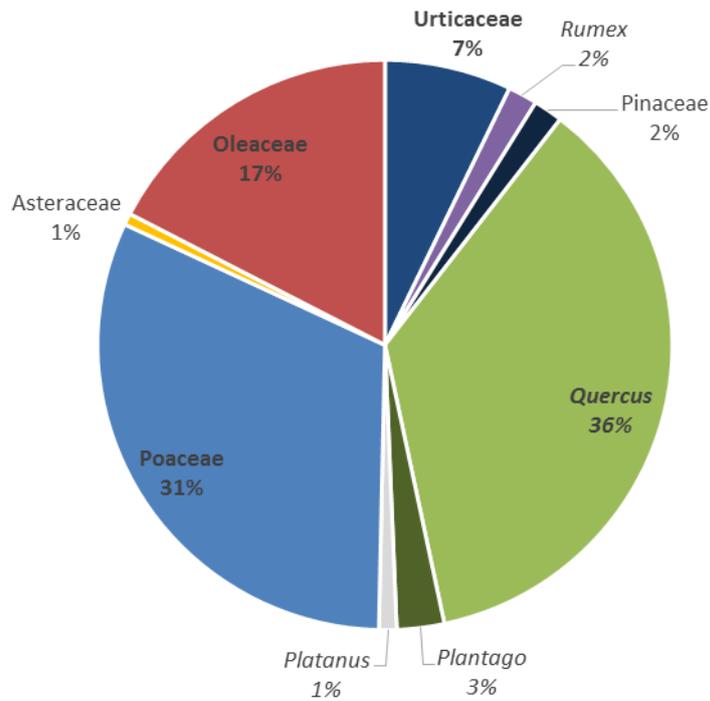


Figura 1.8. Espectro polínico da primavera do ano de 2014 em Beja.

C) Risco de exposição alérgica durante a primavera

A tabela seguinte representa os dias em que os níveis dos principais tipos polínicos da região apresentaram valores considerados perigosos para a população alérgica.

Tabela 1.7. Número de dias em que as concentrações dos principais tipos polínicos apresentaram níveis atmosféricos perigosos para os doentes alérgicos durante a primavera dos anos de 2012, 2013 e 2014.

	Primavera		
	2012	2013	2014
Quercus			
Moderado (31-50 grãos de pólen/m ³)	4	13	9
Elevado (51-100 grãos de pólen/m ³)	6	9	14
Muito elevado (> 100 grãos de pólen/m ³)	2	9	23
Poaceae			
Moderado (31-50 grãos de pólen/m ³)	7	7	3
Elevado (51-100 grãos de pólen/m ³)	6	4	4
Muito elevado (> 100 grãos de pólen/m ³)	9	10	16
Oleaceae			
Moderado (31-50 grãos de pólen/m ³)	1	2	2
Elevado (51-100 grãos de pólen/m ³)	0	4	3
Muito elevado (> 100 grãos de pólen/m ³)	10	7	14

1.3.4. Variação intranual

A Figura 1.9 representa o Calendário polínico para os principais tipos polínicos presentes na atmosfera da Região de Beja em 2013.

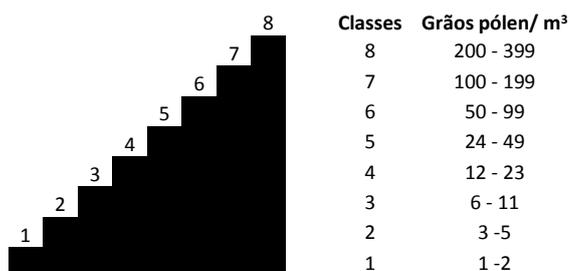
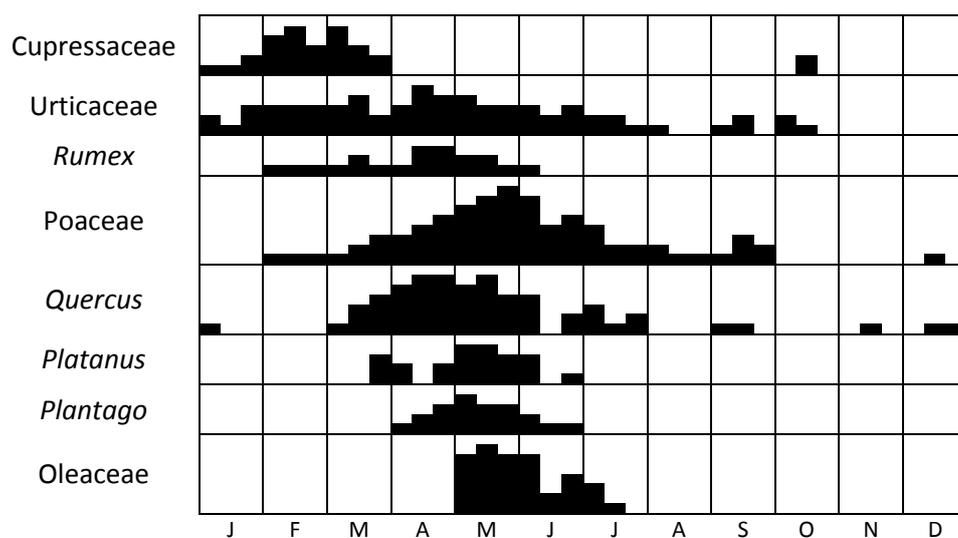


Figura 1.9. Calendário polínico para os principais tipos polínicos presentes na atmosfera da Região de Beja em 2013, segundo o modelo de Spieksma, (1991).

Com o objetivo de comparar os períodos homólogos do ano de 2013 com os anos 2012 e 2014 utilizou-se o teste não paramétrico de *Mann-Whitney*. No ANEXO III apresentamos os resultados obtidos.

1.3.5. Variação intradiária

A Figura 1.10. representa as variações das concentrações ao longo do dia dos vários tipos polínicos analisados.

O tipo *Oleaceae* apresentou baixas concentrações durante a noite, as concentrações mais elevadas registaram-se entre as 14:00 e as 20:00 horas, com o pico máximo às 14:00 horas.

O tipo *Cupressaceae* teve as suas concentrações horárias mais elevadas entre as 8:00 e as 13:00, com pico máximo às 10:00.

O tipo *Rumex* registou as suas concentrações horárias mais baixas durante a noite, as concentrações mais elevadas registaram-se entre as 13:00 e as 19:00 horas, com pico máximo às 16:00.

O tipo *Platanus* mostrou as suas concentrações mais elevadas entre as 13:00 e as 22:00 horas, a concentração máxima horária registou-se às 17:00.

O Tipo *Plantago* apresentou os seus níveis mais elevados entre as 14:00 e as 17:00 horas, e o pico máximo registou-se às 14:00 horas.

O tipo *Poaceae* registou as suas concentrações mais elevadas entre as 10:00 e as 21:00, e o pico máximo registou-se às 15:00 horas, das 22:00 às 9:00 as concentrações no ar foram baixas.

Os tipos *Urticaceae* e *Quercus* apresentaram muitas oscilações nas suas concentrações ao longo de todo o dia.

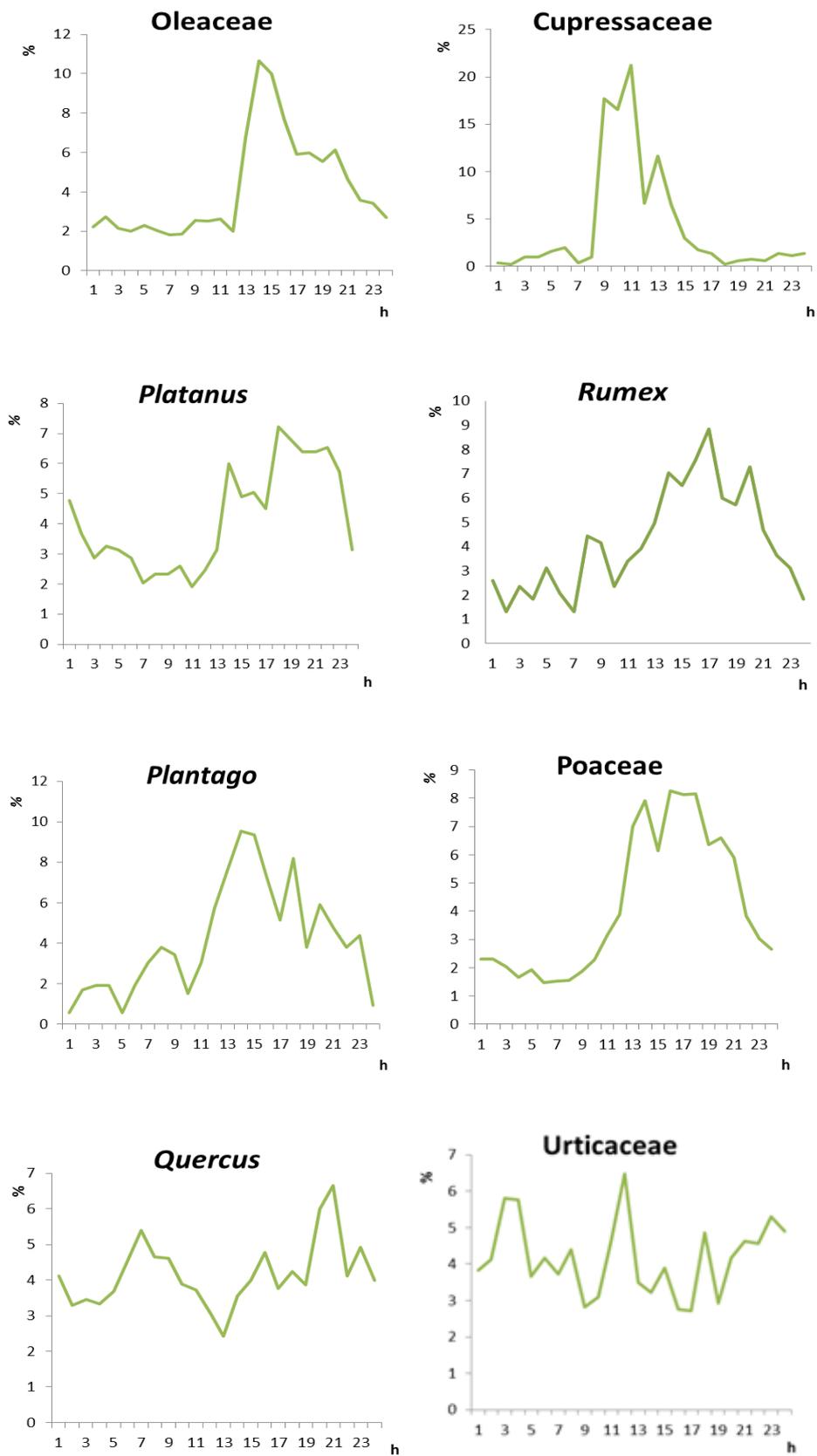


Figura 1.10. Variação intradiária (ou distribuição horária) das concentrações de pólen atmosférico, expressa em percentagem, dos tipos polínicos predominantes na atmosfera de Beja no ano de 2013.

1.3.6. Análise dos níveis de exposição ao pólen

As Tabelas 1.8., 1.9. e 1.10. apresentam o número de dias e as datas dos tipos polínicos analisados cujas concentrações médias diárias registadas atingiram níveis de exposição considerados com capacidade de provocar ou desencadear sintomatologia de alergia em indivíduos com polinose na região de Beja durante o ano de 2013.

As concentrações médias diárias do tipo Cupressaceae atingiram valores considerados de risco de exposição, durante 11 dias e nos meses de fevereiro e março.

O tipo Oleaceae apresentou 24 dias nos meses de maio e junho.

O tipo *Plantago* apenas apresentou 2 dias em maio.

O tipo Poaceae foi o tipo polínico que apresentou mais dias com níveis capazes de desencadear sintomatologia, 45 dias durante os meses de abril, maio, junho e julho, particularmente em maio e início de junho.

O tipo *Quercus* atingiu concentrações importantes durante 34 dias, principalmente no mês de abril, seguido pelos meses de maio e junho

O tipo Urticaceae apesar de ter sido coletado durante todo o ano, as concentrações atingiram níveis de risco apenas durante 8 dias distribuídos especialmente no mês de abril.

Tabela 1.8. Representação dos dias com concentrações médias diárias consideradas de risco alérgico moderado (31-50 grãos/m³), pela Rede Portuguesa de Aerobiologia, no ano de 2013 para os tipos polínicos predominantes e com capacidade alergológica na cidade de Beja. (Cup – *Cupressaceae*; Olea – *Oleaceae*; Plan – *Plantago*; Poa- *Poaceae*; Quer- *Quercus*; Urt – *Urticaceae*; Nº - Número de dias; SR- Sem risco).

	Cup	Olea	Plan	Poa	Quer	Urt
Nº de dias	3	3	2	12	16	7
	15/02/2013	19/05/2013	08/05/2013	25/04/2013	05/04/2013	18/03/2013
	02/03/2013	24/06/2013	09/05/2013	26/04/2013	23/04/2013	17/04/2013
	06/03/2013	25/06/2013		04/05/2013	29/04/2013	19/04/2013
				05/05/2013	01/05/2013	24/04/2013
				06/05/2013	02/05/2013	25/04/2013
				07/05/2013	04/05/2013	26/04/2013
				12/06/2013	05/05/2013	09/05/2013
				17/06/2013	06/05/2013	
				24/06/2013	11/05/2013	
				02/07/2013	13/05/2013	
				26/06/2013	14/05/2013	
				18/04/2013	22/05/2013	
					23/05/2013	
					02/06/2013	
					03/06/2013	
					04/06/2013	

Tabela 1.9. Representação dos dias com concentrações médias diárias consideradas de risco alérgico elevado (51-100 grãos/m³) pela Rede Portuguesa de Aerobiologia, no ano de 2013 para os tipos polínicos predominantes e com capacidade alergológica na cidade de Beja. (Cup – *Cupressaceae*; Olea – *Oleaceae*; Plan – *Plantago*; Poa- *Poaceae*; Quer- *Quercus*; Urt – *Urticaceae*; Pla- *Platanus*; Nº - Número de dias; SR- Sem risco).

	Cup	Olea	Plan	Poa	Quer	Urt
Nº de dias	6	12	SR	12	9	1
	02/02/2013	11/05/2013		24/04/2013	10/04/2013	18/04/2013
	09/02/2013	12/05/2013		10/05/2013	12/04/2013	
	13/02/2013	17/05/2013		17/05/2013	14/04/2013	
	14/02/2013	21/05/2013		20/05/2013	15/04/2013	
	03/03/2013	22/05/2013		27/05/2013	27/04/2013	
	04/03/2013	23/05/2013		28/05/2013	28/04/2013	
		24/05/2013		31/05/2013	08/05/2013	
		26/05/2013		01/06/2013	09/05/2013	
		29/05/2013		06/06/2013	16/05/2013	
		03/06/2013		14/06/2013		
		05/06/2013		25/06/2013		
		26/06/2013		29/06/2013		

Tabela 1.10. Representação dos dias com concentrações médias diárias consideradas de risco alérgico muito elevado (> 100 grãos/m³) pela Rede Portuguesa de Aerobiologia, no ano de 2013 para os tipos polínicos predominantes e com capacidade alergológica na cidade de Beja. (Cup – *Cupressaceae*; Olea – *Oleaceae*; Plan – *Plantago*; Poa- *Poaceae*; Quer- *Quercus*; Urt – *Urticaceae*; Pla- *Platanus*; Nº - Número de dias; SR- Sem risco).

	Cup	Olea	Plan	Poa	Quer	Urt
Nº de dias	2	9	SR	21	9	SR
19/02/2013		08/05/2013		02/05/2013	17/04/2013	
05/03/2013		09/05/2013		08/05/2013	18/04/2013	
		10/05/2013		09/05/2013	19/04/2013	
		13/05/2013		11/05/2013	20/04/2013	
		14/05/2013		12/05/2013	21/04/2013	
		15/05/2013		13/05/2013	24/04/2013	
		16/05/2013		14/05/2013	25/04/2013	
		02/06/2013		15/05/2013	26/04/2013	
		04/06/2013		16/05/2013	15/05/2013	
				21/05/2013		
				22/05/2013		
				23/05/2013		
				24/05/2013		
				25/05/2013		
				26/05/2013		
				29/05/2013		
				30/05/2013		
				02/06/2013		
				03/06/2013		
				04/06/2013		
				05/06/2013		

1.4. Discussão

No presente estudo, observou-se a existência de uma variabilidade interanual. Esta variabilidade é resultado da diferente fenologia das espécies vegetais que constituem a paisagem de Beja e das diferentes condições meteorológicas (Caeiro, *et al.*, 2007). O índice anual obtido em 2013 foi inferior aos referidos no estudo realizado nesta região que foi de 49.242 grãos de pólen em 2003 e 30.996 grãos de pólen em 2004 (Fernandes, *et al.*, 2010). Contudo, 2014, pelo resultado obtido, embora ano incompleto, de 35.831 grãos de pólen, certamente estaria próximo desse valores. A diferença obtida certamente dever-se-á às diferentes condições meteorológicas dos referidos anos, entre outros fatores.

O tipo polínico Poaceae foi predominante na região, representou aproximadamente 30% do pólen total coletado. Ao tipo Poaceae seguiram-se os tipos *Quercus* e Oleaceae, com representações superiores a 10%, e os tipos Urticaceae e Cupressaceae. O espectro polínico de Beja obtido neste estudo é tipicamente Mediterrânico, muito semelhante aos de outras localidades do SW da Península Ibérica (Todo-Bom, *et al.*, 2006; Caeiro *et al.*, 2007; Fernandes, *et al.*, 2010), com os tipos Poaceae, *Quercus* e Oleaceae a predominar, reflexo da paisagem (flora e vegetação) circundante. A estação primaveril (em particular os meses abril, maio e junho) apresenta níveis de pólen especialmente elevados. Neste período aproximadamente 70% do pólen anual esteve presente na atmosfera e em média coletaram-se 1176,12 grãos/m³ por dia. A primavera de 2014 foi a que registou maior índice polínico (28.294 grãos de pólen). Observou-se um aumento do pólen atmosférico do tipo Poaceae mas especialmente do tipo *Quercus* quando comparado com os anos anteriores. Apesar disto, em todas as primaveras registaram-se níveis de exposição polínica perigosos para os doentes alérgicos. No ano de 2012, registaram-se 45 dias; no ano de 2013, 65 dias e no ano de 2014 registaram-se 88 dias.

Durante este estudo, foi possível distinguir três períodos aerobiológicos diferente, esquematizados num calendário polínico: 1.º Período: Início do ano, nos

meses de janeiro e fevereiro onde se observa um predomínio de pólen de Cupressaceae; 2.º Período: de março até julho, onde se registou na atmosfera a presença das concentrações mais elevadas da maioria dos tipos de pólenes: *Rumex*, Poaceae, *Quercus*, *Platanus*, *Plantago* e Oleaceae; 3.º Período: de agosto até dezembro, período que comparativamente com os anteriores apresentou as concentrações mais baixas de pólen atmosféricas, onde se salienta um outro período de pólen do género *Quercus* e dos taxas invernais, Cupressaceae e Urticaceae. Apesar do calendário apresentado representar apenas um ano de amostragem (o ano de 2013 analisado na totalidade) pode abrir algumas perspetivas para propostas futuras. O calendário polínico é uma mais valia para doentes e clínicos, ajuda no planeamento de atividades ao ar livre de forma a evitar a exposição ao alérgico (Recio, *et al.*, 1998; Docampo, *et al.*, 2007; Pérez-Badía, *et al.*, 2010).

O tipo Cupressaceae, tipo polínico invernal, apresentou a EPAP de janeiro até março e uma representatividade de aproximadamente 5 % no espectro polínico. Estes resultados são concordantes com os obtidos por outros autores nesta região e com a região vizinha de Évora (Todo-Bom, *et al.*, 2006; Caeiro, *et al.*, 2007; Fernandes, *et al.*, 2010). Em estudos efetuados em localidades de Espanha e Itália este tipo apresenta uma maior representatividade (Recio, *et al.*, 1998) provavelmente, pelo uso destas árvores como ornamentais em jardins e parques, verificando-se um aumento da sensibilização a este tipo polínico na região Mediterrânica nos últimos 20-30 anos. Em Itália, num estudo com 782 pacientes a prevalência de alergias a Cupressaceae foi de 62,9% (Sposato, *et al.*, 2014), e em Toledo 30% dos pacientes apresentam testes positivos, e sendo a principal causa de alergia Invernal (Pérez-Badía, *et al.*, 2010).

Em Beja, o tipo Cupressaceae, durante o ano de 2013, apresentou níveis de pólen atmosférico importantes, durante 8 dias, nos primeiros meses do ano, em fevereiro e março, níveis considerados pela RPA elevados e muito elevados. Tal como descrito por Pérez-Badía, *et al.*, (2010) este tipo polínico aumentou as suas concentrações horárias na atmosfera durante a manhã (8:00), as concentrações elevadas prolongaram-se até ao início da tarde (13:00), atingiu a concentração máxima entre as 10:00 e as 11:00.

Outro tipo invernal, o tipo Urticaceae que é representado pelos pólenes dos géneros *Urtica* e a *Parietaria* (Brandão, 1996; Lidon, *et al.*, 2005) encontrou-se na atmosfera durante um longo período do ano. A sua representatividade no espectro polínico foi de aproximadamente 7%, valor próximo aos encontrados na atmosfera das cidades de Évora (Caeiro, *et al.*, 2007), Málaga (Recio, *et al.*, 1998) e na zona central de Espanha (Pérez-Badia, *et al.*, 2010) mas inferior ao obtido em localidades do litoral, como Porto e Lisboa, onde constitui o tipo polínico mais abundante na atmosfera (Caeiro *et al.*, 2007). O pólen de *Parietaria* é uma importante causa de polinose nas regiões costeiras Mediterrânicas (Ince, *et al.*, 2004). Num estudo, realizado no Porto (região costeira de Portugal), a título de exemplo, 415 doentes sensibilizados a grãos de pólen, 34.2% apresentaram valores positivos para Ig E específica da *Parietaria sp.* (Sousa, *et al.*, 2014).

Neste estudo, no ano de 2013, os níveis deste tipo polínico foram moderados a elevados durante 8 dias. Alguns autores demonstraram que no período da manhã, entre as 7:00 e as 11:00 se verifica um aumento de pólen atmosférico deste tipo polínico (Ribeiro, *et al.*, 2008; Sousa, *et al.*, 2014), em Beja e durante o ano de 2013 o pico máximo registou-se as 11:00 horas.

Nos meses da primavera, as concentrações de pólen na atmosfera aumentaram significativamente devido ao contributo de plantas de vários *Taxa*:

1- Os níveis de pólen de *Rumex* na região de Beja foram baixos, tal como no estudo de Fernandes, *et al.*, (2010) e noutras localidades do país (Todo-Bom, *et al.*, 2006) e no Sul de Espanha (Recio, *et al.*, 1998).

2- As plantas da família Poaceae fazem parte integrante da paisagem Mediterrânica onde constituem o elemento dominante da vegetação herbácea do bosque, das pastagens seminaturais do montado e nos cursos de água (Caeiro, 2004). Os índices polínicos obtidos foram muito elevados, variaram entre 6.637 grãos em 2012 e 9.460 grãos em 2014. Foi o tipo polínico mais representativo do espectro polínico da cidade de Beja. Os níveis de pólen de Poaceae tendem a aumentar de Norte para Sul dos país. A cidade do Porto, Coimbra, Lisboa e Portimão apresentam valores de representatividade inferiores ao obtido em Beja, enquanto Évora apresenta valores próximos (Todo-Bom, *et al.*, 2006; Caeiro, *et al.*, 2007; Caeiro, *et al.*, 2014).

Os grãos de pólen desta família encontraram-se presentes na atmosfera ao longo do todo o ano. Porém, 90% do pólen foi coletado entre abril e julho, resultados concordantes com os obtidos por Fernandes, *et al.*, (2010) e por Caeiro, *et al.*, (2014). Caeiro e seus colaboradores (2014) descrevem o fim da EPAP das Poaceae nas regiões do Sul como mais precoce e de curta duração comparativamente com as do litoral, e colocam a hipótese do pólen ser proveniente de um número mais reduzido de espécies com floração simultânea. As plantas da família Poaceae constituem uma das mais importantes fontes polínicas no País e em particular na região sul interior de Portugal (Caeiro, *et al.*, 2014).

O pólen de Poaceae é a primeira causa de polinose na região Mediterrânica e Alentejo. Num estudo, realizado em Évora, com 32 crianças alérgicas a pólen, a totalidade das crianças estava sensibilizada para pólen de gramíneas, e 94% era sensibilizada ao pólen de *Dactylis* (Diamantino, *et al.*, 2006). Portanto, o risco de exposição dos indivíduos com sensibilização ao pólen e/ ou com polinose a níveis importantes deste pólen nesta região é elevado. O contacto com concentrações de pólen elevadas e durante um período de tempo prolongado prejudica a saúde e qualidade de vida dos pacientes (Caeiro, *et al.*, 2014). Por conseguinte, a monitorização e a elaboração do calendário polínico é crucial. Este ilustra os tipos polínicos presentes na atmosfera de uma dada região e os seus níveis ao longo do ano. Tal como na região central de Espanha (Pérez-Badia, *et al.*, 2010), na cidade de Narja (Docampo, *et al.*, 2007) e na maioria das cidades Portuguesas (Caeiro, *et al.*, 2014) também em Beja o número de dias de risco de exposição a níveis importantes é muito grande, em 2013 foram cerca de 45 dias, de salientar que foi praticamente todo o mês de maio e diariamente com concentrações horárias elevadas entre as 10:00 e as 21:00. Segundo Caeiro, *et al.*, (2013) nas localidades portuguesas (Porto, Coimbra, Lisboa, Évora e Portimão), as concentrações de Poaceae são baixas entre as 22:00 e 6:00 horas e são elevadas entre as 7:00 e 21:00. Na cidade de Évora, as concentrações foram altas entre as 6:00 e as 22:00, Évora apresentou características de uma área rural, com os níveis de pólen mais elevados a observarem-se durante a tarde. Na cidade de Beja, tal como em Évora, as concentrações máximas registaram-se às 15:00 horas.

3- As plantas do género *Quercus* predominam na região do Alentejo, são características do “montado alentejano” pertencem à família Fagaceae. Na área de estudo encontram-se presentes várias espécies do género *Quercus*, as mais comuns e abundantes são a *Quercus rotundifolia* Lam. e a *Q. suber* Lam., mas também existem indivíduos de *Q. coccifera* Lam., *Q. lusitânica* Lam., *Q. faginea* Lam., e *Q. pyrenaica* Will (Brandão, 1996). Por conseguinte, em termos aerobiológicos, este tipo de pólen é comum e predominante na região, mostrou uma representação no espectro polínico de aproximadamente 15% e os seus níveis atmosféricos foram particularmente elevados em 2014.

As concentrações atmosféricas aumentaram no início de abril e prolongam-se até julho/agosto. A representatividade deste tipo em Beja foi superior que, por exemplo, no Porto, Coimbra, Lisboa e Portimão (Caeiro, *et al.*, 2007), em Nerja no sudoeste de Espanha (Docampo, *et al.*, 2007), em Malaga (Recio, *et al.*, 1998) em Madrid (Subiza, *et al.*, 1995) mas inferior à de Évora, outra região do Alentejo (região do Alto Alentejo) (Caeiro *et al.*, 2007). Os índices de pólen encontrados foram: 2.835 grãos em 2012; 3.962 grãos em 2013 e 10.560 grãos em 2014. Fernandes, *et al.*, (2010) referem índices anuais de 7.402 e 5.324 grãos, em 2003 e 2004, respetivamente. Alguns autores descrevem uma produção bianual (Brandão, 1996) mas tal não se verificou neste estudo.

Apesar da sua abundância, a sensibilização a este pólen é considerada pela maioria dos autores reduzida, é cerca de 26 a 27% em Évora (Caeiro, 2013). Neste estudo detetaram-se níveis importantes deste tipo durante 34 dias. As concentrações horárias do tipo *Quercus* oscilaram muito ao longo do dia, foram máximas às 6:00 e 20:00 horas. Num estudo realizado por Caeiro, (2004) obtiveram-se variações horarias diferente entre o tipo *Quercus* e *Quercus suber* para a cidade de Évora e Portimão. Na cidade de Évora próxima de Beja e com características aerobiologicas semelhante observaram-se níveis elevados de *Quercus* às 11:00, 16:00 e 22:00 horas, quanto ao tipo *Quercus suber* as concentrações elevaram-se às 9:00 e as 23:00 horas.

4- O índice polínico do tipo *Plantago* foi de 769 grãos em 2013, representou apenas 2% do pólen total coletado, valor de percentagem semelhante ao

encontrado por Fernandes *et al.* (2010) em Beja e por Caeiro *et al.* (2007) no Porto, Coimbra, Lisboa e Évora e inferior ao de Portimão.

Este tipo polínico esteve sempre presente em níveis considerados baixos, com exceção em 2 dias de cujos níveis foram moderados. Em termos de distribuição das suas concentrações ao longo do dia, apresentou as concentrações horárias mais elevadas entre as 14:00 e as 17:00 e o máximo registou-se às 14:00 horas. Na cidade de Évora as concentrações máximas registaram-se entre as 8:00 e 17:00 e em Portimão entre as 8:00 e as 18:00 horas (Caeiro, 2004).

5- O pólen de *Platanus* provem unicamente da espécie *Platanus hispânica* Miller. É uma planta arbórea, utilizada frequentemente como ornamental em parques, jardins, passeios devido à sua sombra (Brandão, 1996). Este tipo polínico teve uma representatividade de aproximadamente 3% no espectro polínico, foi coletado de meses de Março a Junho, período concordante com o obtido por Fernandes, *et al.*, (2010).

Quanto à variação horaria, as concentrações deste tipo polínico aumentaram no período da tarde, pelas 13:00 e mantiveram-se elevadas até às 22:00. Esta tendência para aumentar no período da noite também se verificou em Toledo, com máximos entre as 24:00 e as 2:00 (Pérez-Badia, *et al.*, 2010). Em Madrid este tipo polínico é muito importante, representa 59% do pólen coletado entre março e abril e num estudo com 47 doentes, 74% deles apresentaram testes de sensibilização positivos (Varela, *et al.*, 1997). Em Portugal, num estudo com 32 crianças com idades inferiores a 8 anos, 9% estavam sensibilizadas a *Platanus* (Diamantino, *et al.*, 2006).

6- O pólen da família *Oleaceae* engloba cerca de 600 espécies muito frequentes na região mediterrânica e algumas zonas Norte Americanas. São na sua maioria arvores mas também arbustos e na Europa o *Fraxinus* e a *Olea* são muito importantes (Santiago & Garcia, 2002). A *Olea europaea* é muito comum na região do Alentejo, em plantações de grandes dimensões associadas com a produção de azeite, em pequenas quintas e como elemento ornamental (Brandão, 1996). Este tipo polínico é sem dúvida um dos mais importantes em termos económicos e alergológicos no Sul da Península Ibérica (Caeiro, *et al.*, 2007).

Este tipo de pólen apresentou um índice de 3508 grãos em 2013, e representou aproximadamente 15% do pólen total coletado. Neste estudo apresentou um fenómeno de alternância bianual, fenómeno habitualmente referido por alguns autores (Brandão, 1996). Os Índices observados são superiores aos encontrados em Coimbra, Porto e Évora, mas inferior aos registados em Lisboa, Portimão (Todo-Bom, *et al.*, 2006), na Bairrada, Valença do Douro e Reguengos de Monsaraz (Ribeiro, *et al.*, 2005). Num estudo realizado por Caeiro (2013) este tipo de pólen é especialmente importante na cidade de Portimão onde representou 40% do pólen atmosférico total.

A estação polínica atmosférica principal foi curta e nos meses de maio e junho tal como descrito por Fernandes, *et al.*, (2010), Pérez-Badia, *et al.* (2010) e Caeiro (2013). Nas localidades Lisboa e Portimão do Centro Sul e Sul litoral de Portugal, e nas localidades de Malaga e Nerja, ambas na região de Andaluzia, no SW litoral de Espanha, a EPAP inicia-se ligeiramente mais cedo (Recio, *et al.*, 1998; Docampo, *et al.*, 2007; Caeiro *et al.*, 2012; Caeiro, 2013). As plantas do género *Fraxinus* polinizam no início do ano, e as plantas do género *Ligustrum* polinizam durante a segunda metade do ano, em geral, os seus grãos de pólen estão presentes no ar em muito menor número quando comparados com os grãos de pólen de *Olea*, de tal forma, como refere Brandão (1996) não interferem nos resultados obtidos.

Este tipo polínico é uma das principais causas de alergia respiratória causada por pólen na região Mediterrânica (Garcia, *et al.*, 2011). Caeiro, *et al.*, (2013) refere o pólen o *Olea* como um do aeroalergénios mais importante na região mediterrânica, em países como, por exemplo Portugal, Espanha, Itália, Israel, Grécia e Turquia onde é uma das causas mais frequentes de doença alérgica. A prevalência de sensibilização difere entre regiões e está muito associada com o cultivo da Oliveira. Em Portugal, as percentagens de sensibilização são importantes, especialmente na região Sul do País. São a segunda causa de polinose em Lisboa (Rodrigues-Alves, *et al.*, 2006) e em Évora (Diamantino, *et al.*, 2006). Em Espanha, por exemplo, na cidade de Madrid é a segunda causa de polinose (Belver, *et al.*, 2007) e no SW de Espanha chega a ser a primeira, nas regiões de Jaén e Sevilha os valores de sensibilização são superiores a 90% (Subiza, *et al.*, 1998; Florido, *et al.*, 1999; Caeiro, *et al.*, 2013).

Neste estudo registaram-se 24 dias com níveis importantes de pólen (moderados a muito elevados), a maioria no mês de Maio. Ao longo do dia as concentrações polínicas de Oleaceae aumentaram no período compreendido entre as 14:00 e 20:00. Pérez-Badia, *et al.*, (2010) na cidade de Toledo, observaram num período mais alargado do dia, entre as 14:00 e as 18:00.

O espectro polínico obtido neste trabalho é semelhante ao descrito para Évora apesar dos níveis polínicos serem ligeiramente inferiores (Todo-Bom, *et al.*, 2006).

1.5. Conclusão

1- Durante o período de estudo identificaram-se 83.183 grãos de pólen presentes na atmosfera da cidade de Beja. Os Índices polínicos são importantes, e distribuíram-se pelos três anos, 20.715 grãos de pólen em 2012, 26.637 grãos de pólen em 2013 e 35.831 grãos de pólen em 2014.

2- Durante todo o ano, diariamente, deteta-se a presença de grãos de pólen na atmosfera. Na primavera (março a junho), os níveis polínicos aumentam significativamente; 70% do pólen total anual é coletado, em especial no mês de maio.

3- O tipo polínico Poaceae é o mais abundante e importante a nível alergológico (28%), seguido dos tipos *Quercus* (15%) e Oleaceae (13%). Os tipos polínicos invernais Urticaceae (7%) e Cupressaceae (5%) são também abundantes na região.

4- Em termos da EPAP de 2013 dos principais tipos de pólen:

Poaceae – A EPAP durou 85 dias, iniciou-se dia 11 de abril de 2013 e terminou no dia 4 de julho de 2013. Neste período coletaram-se 6656 grãos deste pólen e o máximo registou-se no dia 22 de maio;

Quercus – A EPAP durou 125 dias, iniciou-se dia 4 de abril de 2013 e terminou no dia 6 de agosto de 2013. Neste período coletaram-se 3428 grãos deste pólen e o máximo registou-se no dia 18 de abril;

Oleaceae – A EPAP foi curta, durou 50 dias, iniciou-se dia 8 de maio de 2013 e terminou no dia 29 de junho de 2013. Neste período coletaram-se 3272 grãos deste pólen e o máximo registou-se no dia 15 de maio;

Urticaceae – A EPAP foi longa com 250 dias, iniciou-se dia 23 de dezembro de 2012 e terminou no dia 29 de agosto de 2013. Neste período coletaram-se 1811 e o máximo registou-se no dia 18 de abril;

Cupressaceae – A EPAP durou 61 dias, iniciou-se dia 29 de janeiro de 2013 e terminou no dia 30 de março de 2013. Neste período coletaram-se 1149 grãos deste pólen e o máximo registou-se no dia 19 de fevereiro;

5- A distribuição das concentrações horárias varia consoante o tipo polínico analisado. Na maioria dos tipos as concentrações atmosféricas aumentam no final da manhã e início da tarde e atingem o seu valor máximo durante a tarde.

6- Nos vários anos de estudo, e muito em particular durante a primavera, registaram-se níveis elevados de pólen atmosférico em Beja. A exposição a estes níveis de pólen no ar é certamente preocupante na clínica, para os indivíduos com sensibilização ao pólen e/ou alérgicos. Por conseguinte, importa conhecer os seus valores e variações, o calendário polínico da região.

1.6. Bibliografia

- BELVER, M., CABALLERO, M., CONTRERAS, J., CABAÑAS, R., SIERRA, E., MADERO, R., *ET AL.*, (2007). Associations Among Pollen Sensitizations From Different Botanical Species in Patients Living in the Northern Area of Madrid. *J Investig Allergol Clin Immunol*; 17(3): 157-159.
- BRANDÃO, R. M. (1996). *Aerobiologia Polínica e Respectivas Aplicações em Estudos Fenológicos e alergológicos: Uma Análise das Interações no Ambiente Mesomediterrânico Português (Alentejo: Sul de Portugal) .* Évora: Dissertação de Doutoramento em Biologia. Universidade de Évora.
- CAEIRO, E. (2013). *Aerobiologia do Pólen de Poaceae, Olea europaea L. e Platanus hybrida Brot. e Potenciais Repercussões na Doença Alérgica Respiratória no Sul de Portugal.* Évora: Dissertação Doutoramento em Biologia, Universidade de Évora.
- CAEIRO, E. R. (2004). *Estudo Aeropalinológico Comparativo da Atmosfera de Évora e Portimão.* Coimbra: Tese Mestrado. Universidade de Évora.
- CAEIRO, E., BRANDÃO, R., CARMO, S., LOPES, L., ALMEIDA, M. M., GASPAR, Â., *ET AL.*, (2007). Rede Portuguesa da Aerobiologia: Resultados da monitorização do pólen atmosférico (2002-2006). *Rev Port Imunoalergologia*; 13(3): 235-250.
- CAEIRO, E., CAMACHO, I., LOPES, L., GASPAR, A., TODO-BOM, A., OLIVEIRA, J., *ET AL.*, (2014). Análise das concentrações de pólen de gramíneas na atmosfera de Portugal Continental. *Rev Port Imunoalergologia*; 22(2): 125-138.
- DIAMANTINO, C., CAEIRO, E., MARTINS, L., ALMEIDA, F., & LOPES, M. L. (2006). Sensibilização aos pólenes em crianças com idade inferior a 8 anos. *Rev Port Imunoalergologia*; 14(3): 245-249.

- DOCAMPO, S., RECIO, M., TRIGO, M. M., MELGAR, M., & CABEZUDO, B. (2007). Risk of pollen allergy in Nerja (southern Spain): a pollen calendar. *Aerobiologia*; 23: 189-199.
- FERNANDES, F. M., MOLINA, R. T., & CARVALHO, L. M. (2010). Estudo aerobiológico de Beja (Sul de Portugal). *Rev Port Imunoalergologia*; 18 (5): 419 - 429.
- GARCÍA, B., LIZASO, M., MORENO, C., RODRÍGUEZ, R., VILLALBA, M., LEDESMA, A., & ET AL. (2011). Oleaceae_Induced Pollinosis in an Area With Exposure to Olive and Ash Tress. *J Allergy and Clín Immunol*, 34-37.
- INCE, A., KART, L., DEMIR, R., & OZYURT, M. S. (2004). Allergenic Pollen in the Atmosphere of Kayseri, Turkey. *Asian Pac J Allergy Immunol*; 22(2-3):123-132.
- LIDON, F. J., GOMES, H. P., & ABRANTES, A. C. (2005). *Plantas de Portugal- Evolução e Taxonomia*. Lisboa: Escolae Editora.
- MOLINA, R. T., PALACIOS, I. S., RODRIGUEZ, A. F., MUNOZ, J. T., & CORCHERO, A. M. (2001). Environmental Factors Affecting Airborne Pollen Concentration in Anemophilous Species of Plantago. *Ann Bot*; 87(1): 1-8.
- OTERTOS, J., GALÁN, C., ALCÁZAR, P., & DOMÍNGUEZ-VILCHES, E. (2013). Quality control in bio-monitoring networks, Spanish Aerobiology Network. *SciTotal Environ*; 443: 559-565.
- PÉREZ-BADIA, R., RAPP, A., MORALES, C., SARDINERO, S., GALÁN, C., & GARCÍA-MOZO, H. (2010). Pollen Spectrum and Risk of Pollen Allergy in Central Spain. *Ann Agric Environ Med*; 17(1): 139-151.
- PÉREZ-BADIA, R., VAQUERO, C., SARDINERO, S., GALÁN, C., & GARCÍA-MOZO, H. (2010). Intradurnal Variations of Tree Pollen in the Atmosphere of Toledo. *Ann Agric Environ Med*; 17(2): 269-275.
- PINTO, C. A., HENRIQUES, M. O., FIGUEIREDO, J. P., DAVID, J. S., ABREU, F. G., PEREIRA, J. S., ET AL., (2011). Phenology and growth dynamics in

- Mediterranean evergreen oaks: Effects of environmental conditions and water relations. *Forest Ecology and Management*; 262: 500-508.
- RECIO, M., CABEZUDO, B., TRIGO, M. D., & TORO, F. J. (1998). Pollen calendar of Malaga (Southern Spain), 1991-1995 . *Aerobiologia*; 14(2): 101-107.
- RIBEIRO, H., OLIVEIRA, M., & ABREU, I. (2008). Variação horária do pólen de Urticaceae e Poaceae na atmosfera do Porto. *Rev Port Imunoalergologia*; 16: 163-173.
- RODRIGUES-ALVES, R., GASPAR, Â., MORAIS-ALMEIDA, M., PIEDADE, S., ROSA, S., PAIVA, M., ET AL. (2006). Sensibilização alérgica e contagens polínicas a região de Lisboa. *XXVII Reunião Anual da SPAIC. Rev Port Imunoalergologia*, 14(3), 34.
- RODRÍGUEZ, A. F., PALACIOS, I. S., & MOLINA, R. T. (2010). Influence of Meteorological Parameters in Hourly Patterns of Grass (Poaceae) Pollen Concentrations. *Ann Agric Environ Med*; 17(1): 87-100.
- RPA. (2007-2014). *Rede Portuguesa de Aerobiologia*. Obtido de Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica: www.rpaerobiologia.cm
- SANTIAGO, A., & GARCÍA, Á. C. (2002). *Polinosis- Polen y Alergia* (Vol. I). (A. L. Santiago, & Á. C. García, Edits.) mra ediciones, S.L.
- SOUSA, R., RIBEIRO, H., CRUZ, A., DUQUE, L., & ABREU, I. (2014). Pólen de Parietária judaica: Aerobiologia e alergenidade. *Rev Port Imunoalergologia*; 22(2): 81-92.
- SPOSATO, B., LICCARDI, G., RUSSO, M., FOLLETTI, I., SIRACUSA, A., SCICHILONE, N., ET AL., (2014). Cypress Pollen: An Unexpected Major Sensitizing Agent in Different Regions of Italy. *J Investig Allergol Clin Immunol*; 24(1): 23-28.
- SUBIZA, J., JEREZ, M., JIMÉNEZ, J. A., NARGANES, M. J., CABRERA, M., VARELA, S., ET AL., (1995). Clinical aspects of allergic disease- Allergenic pollen and pollinosis in Madrid. *J Allergy Clin Immunol*; 96(1): 15-23.

TUDO-BOM, A., BRANDÃO, R., NUNES, C., LEITÃO, T., OLIVEIRA, J. F., & ALMEIDA, M. M. (2006). Tipos polínicos alergizantes em Portugal- Calendário de 2002-2004. *Rev Port Imunoalergologia*; 14(1): 41-49.

VARELA, S., SUBIZA, J., SUBIZA, J., RODRIGUEZ, R., GARCIA, B., JEREZ, M., ET AL., (1997). Platanus pollen as an important cause of pollinosis. *Allergy Clin Immunol*; 100(6): 748-75.

Capítulo II

Conteúdo em Esporos de
Alternaria sp. e *Cladosporium sp.*
na atmosfera da cidade de Beja

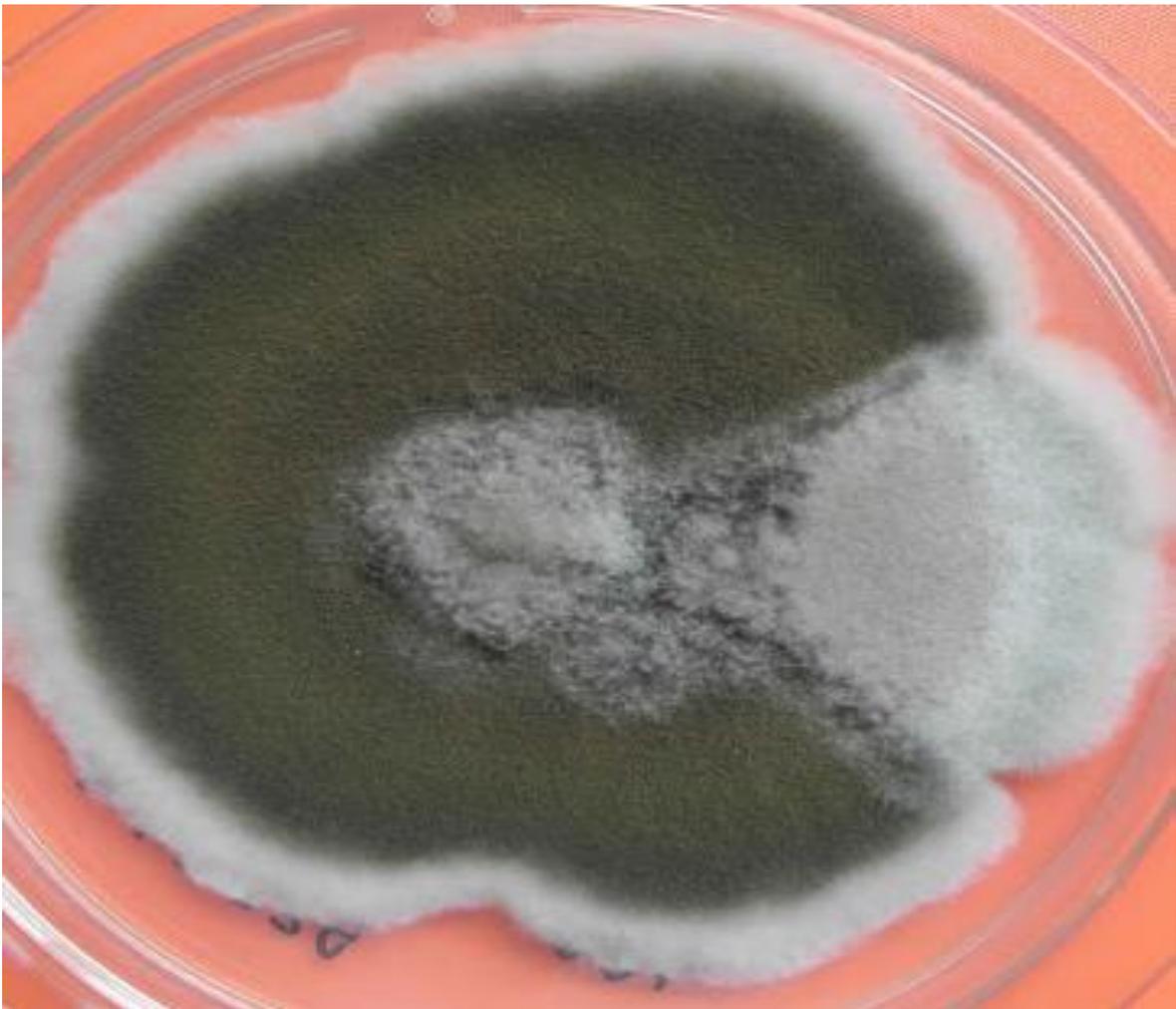


Figura 2.1. Colonias de *Alternaria Alternata* em meio de cultura
(Freitas, *et al.*, 2015).

2.1. Introdução

A atmosfera terrestre é composta por várias partículas, gases, gotículas de água, microrganismos tais como bactérias, fungos e vírus. Entre estas partículas estão os grãos de pólen e os esporos fúngicos. Os esporos fúngicos constituem uma importante fração de bioaerossóis, podem atingir frequentemente concentrações superiores a 1.000 esporos/m³. Apesar disso são pouco estudados quando comparados com os grãos de pólen (Oliveira, *et al.*, 2005). Os esporos fúngicos, objeto de estudo, deste trabalho usam a atmosfera para se disseminar, provêm portanto, de fungos anemófilos. No entanto, os esporos de fungos podem também ser transportados por mamíferos, aves e invertebrados (Camacho, 2007).

Os fungos são organismos eucariotas, saprófitos e cosmopolitas, têm capacidade de colonizar diferentes substratos e de resistir a condições ambientais extremas. Constituem uma grande componente de bioaerossóis quer dos ambientes interiores quer exteriores. São importantes na colonização de campos de cultivo, locais de armazenamento e também no desperdício de géneros alimentícios. Apresentam a capacidade de causar doenças em seres humanos, animais e plantas e a sua propagação é muito fácil (Zoppas, *et al.*, 2011). O seu *habitat* é preferencialmente húmido e escuro e vivem à custa da digestão de matéria orgânica. A colonização em plantações tem um grande impacto na economia de uma região (Oliveira, *et al.*, 2009 B). A dispersão e transporte são feitos pelo ar e o seu reduzido tamanho torna-os potencialmente perigosos para o Homem, e alguns são considerados alergizantes (Pantoja, *et al.*, 2007). O desencadeamento, o tipo e o grau de sintomatologia da doença alérgica depende dos níveis de concentração de esporos presentes na atmosfera e do tempo que os indivíduos estão expostos (Nunes, *et al.*, 2008).

São conhecidos mais de 100 géneros distribuídos por cinco subdivisões taxonómicas: Mastigomycota, Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota e Deuteromycota. Os Deuteromicetos são também conhecidos como fungos imperfeitos e são os mais comuns e representativos em estudos Aeromicológicos (Kochar, *et al.*, 2014). Englobam os dois tipos de esporos analisados neste estudo e a maioria dos esporos de fungos com capacidade alergológica conhecidos

(Ilanovici, *et al.*, 2013). A elevada quantidade de esporos de *Cladosporium* e o risco de desencadear sintomas de alergia atribuído aos esporos de *Alternaria* foram fatores determinantes na escolha destes dois tipos de esporos fúngicos para análise (Grinn-Gofrón, *et al.*, 2016).

Os esporos fúngicos são importantes indicadores de poluição, e em países desenvolvidos, tal como Portugal, pensa-se que mais de 6% dos doentes com alergia apresentam sensibilização a fungos. No entanto, é ainda um tema pouco estudado. Em Portugal o primeiro trabalho Aeromicológico descrito data de 2005 e foi desenvolvido por Oliveira e seus colaboradores. Na cidade de Beja, até ao momento, não se conhece nenhum estudo Aeromicológico.

A Organização Mundial de Saúde no ano de 2000 reconheceu que o contato com esporos de fungos pode provocar problemas graves de saúde e ser um fator de risco e mau prognóstico em doentes com outras patologias pulmonares tais como asma, DPOC e carcinomas. Na área da Saúde, os esporos de fungos atmosféricos tem importantes implicações na doença alérgica respiratória, cerca de 6% da população humana nos países desenvolvidos apresenta sensibilização (Oliveira, *et al.*, 2005; Aira, *et al.*, 2013). Em Portugal, segundo um estudo de Aira e seus colaboradores (2013), essa taxa de sensibilização é cerca de 3%. Neste trabalho pretende-se analisar o conteúdo em esporos de *Cladosporium* e *Alternaria* da atmosfera da cidade de Beja, a sua sazonalidade e variação interanual e intradiária.

2.2. Material e Métodos

Monitorizaram-se os esporos fúngicos de *Cladosporium* e *Alternaria* de uma forma contínua desde dia 12 de abril de 2012 até 30 de julho de 2014. Na monitorização utilizou-se um coletor volumétrico do tipo Hirst, um *Burkard seven-day Volumetric Spore-trape®* que foi colocado na latitude ($38^{\circ} 0' 50''$ E) e longitude ($7^{\circ} 52' 12''$ W). Os esporos foram coletados numa bobine que continha uma fita de Melinex impregnada numa solução de silicone (substância adesiva). A amostragem decorreu durante 7 dias consecutivos e após esse período a bobine foi recolhida e substituída para nova amostragem. No coletor a bobine estava acoplada a um sistema de relojoaria que girava 2 mm/hora que possibilitou para além da leitura diária a leitura horária. Este coletor tem um fluxo de 10L/min semelhante ao inalado pelo Homem. Em Laboratório as amostras foram processadas, a fita foi cortada em segmentos de 48 mm (segmentos de 1 dia), colocada em lâminas de microscopia e corada com uma solução de glicerogelatina com fucsina básica. O corante utilizado não se destinava à identificação dos esporos de fungos mas à dos grãos de pólen. O seu uso deste corante não afetou a identificação dos esporos fúngicos analisados. Para a leitura das amostras utilizou-se o método de leitura das 4 linhas longitudinais ao microscópio ótico com uma ampliação de 400x. Os resultados obtidos foram convertidos e expressos em número de esporos por metro cúbico de ar.

Na figura 2.2. estão representados os esporos de *Alternaria sp* e *Cladosporium sp.* observados ao microscópio ótico que foram monitorizados na atmosfera de Beja e que serviram de objeto de análise neste estudo. A sua identificação ao microscópio foi efetuada com base nas suas características morfológicas (tamanho, forma e cor), e por comparação com imagens de bibliografia da especialidade (Smith, 1986; Smith, 1984; Freitas, *et al.*, 2015). Frequentemente as suas elevadas concentrações atmosféricas, as diferentes configurações e o seu reduzido tamanho dificultam esta tarefa (Oliveira, *et al.*, 2007).

A *Alternaria* pertence à classe dos Deuteromycetas e a maioria das espécies são saprófitas e capazes de colonizar vários substratos como o papel, alimentos e plantações. Tem um papel importante no que diz respeito a infestar

plantações e como tal a nível económico da região (Sabariego, *et al.*, 2012). A sua identificação é muito complexa, devida à grande variabilidade morfológica das espécies. A forma, cor e biometria dos conídios é afetada por condições ambientais e fatores intrínsecos. Assim, a forma dos conídios pode ser cilíndrica, elipsoidal, obpiriforme ou obclavados. A coloração pode variar entre acastanhado a castanho-escuro, a parede pode ser lisa ou verrucosa, com número variável de septos transversais e longitudinais ou por vezes até oblíquos. Os esporos formam-se em esporóforos livres, que podem ser individuais ou cadeias de tamanho variável (Sabariego, *et al.*, 2012).

O género *Cladosporium* pertence à mesma classe e apresenta grande variabilidade de formas, tamanhos, número de septos e coloração, e as cadeias podem ser mais ou menos longas e ramificadas. O tamanho dos esporos ou conídios é em média 10 µm mas pode variar entre 3 e 200 µm de diâmetro (Ilanovici, *et al.*, 2013).



Figura 2.2. Fotografias de esporos de fungos ao microscópio ótico. A) *Alternaria*; B) *Cladosporium*. Adaptado de Freitas, *et al.*, (2015).

2.3. Resultados

2.3.1. Esporos de *Cladosporium*

2.3.1.1 Caracterização anual

A Tabela 2.1. mostra os índices anuais de esporos de *Cladosporium* detetados na atmosfera de Beja durante o período de amostragem, bem como os valores máximos diários e os dias em que se registaram e a média diária deste tipo de esporo.

As concentrações máximas diárias variaram de ano para ano, quer no valor quer no dia (data). Em 2012 registou-se a 24 de maio (1273 esporos/m³); em 2013 no dia 8 de novembro (1301 esporos/m³); e a 7 de abril em 2014 (1966 esporos/m³). A concentração média diária variou entre 340 esporos/m³ e 495 esporos/m³.

Tabela 2.1. Índice anual, máximo e média anual dos esporos fúngicos de *Cladosporium* registados durante os vários anos do período do estudo (Abr 2012-Jul 2014).

Cladosporium

	Total (esporos)	Máximo		Média diária (esporos/m ³)
		Valor (esporos/m ³)	Data	
2012	92351	1273	24/05/2012	351
2013	123864	1301	08/11/2013	340
2014	104647	1966	07/04/2014	495

Através da análise da figura seguinte, verificou-se que os esporos de *Cladosporium* estão presentes no ar ao longo de todo o ano. Nos primeiros meses

do ano, os níveis atmosféricos destes esporos são baixos. As suas concentrações aumentam nos meses de abril e maio e também no mês de outubro. A EEAP do ano de 2013 iniciou-se no dia 1 de fevereiro e terminou no dia 11 de dezembro, durou quase todo o ano.

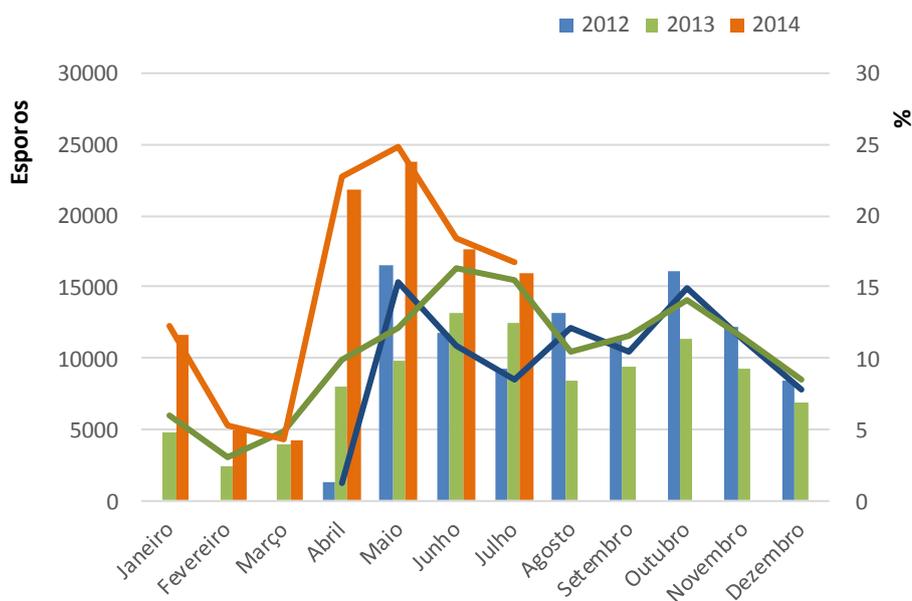


Figura 2.3. Distribuição dos índices mensais de esporos de *Cladosporium* no período de estudo (Abr2012-Jul 2014).

2.3.1.2. Variação intradiária

Como mostra a Figura 2.4. a distribuição foi constante ao longo do dia, no entanto, sofreu um ligeiro aumento durante o período da tarde, entre as 16:00 e as 23:00 horas.

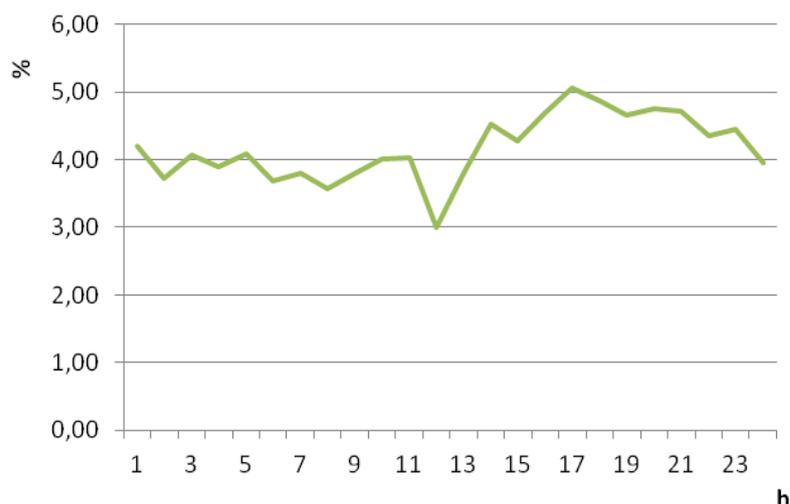


Figura 2.4. Distribuição horária da percentagem de esporos de *Cladosporium* ao longo do dia durante a EEAP.

2.3.1.3. Caracterização do risco alérgico

Apesar dos níveis obtidos serem elevados, não se detetou nenhum dia em que a concentração média diária de esporos fosse superior a 2000 esporos/m³/dia valor de concentração mínimo citado na literatura capaz de desencadear sintomas de alergia (Ilanovici, *et al.*, 2013).

2.3.2. Esporos de *Alternaria*

2.3.2.1. Caracterização anual

Os índices de *Alternaria* variaram entre os 5.822 esporos no ano de 2013 e 8.613 esporos no ano de 2014. Os níveis máximos diários observaram-se nos dias 15 de junho de 2012, 8 de novembro de 2013 e 25 de junho de 2014.

A média diária foi de 16 esporos/m³ no ano de 2013, 24 esporos/m³ no ano de 2012 e de 41 esporos/m³ em 2014 (Tabela 2.2.).

Tabela 2.2. Índice anual, concentração máxima diária e média anual dos esporos fúngicos de *Alternaria* registados durante os vários anos do período do estudo (Abr 2012- Jul 2014).

<i>Alternaria</i>				
	Total (esporos)	Máximo		Média diária (esporos/m ³)
		Valor (esporos/m ³)	Data	
2012	6306	158	15/06/2012	24
2013	5822	211	08/11/2013	16
2014	8613	333	25/06/2014	41

Os índices de esporos de *Alternaria* foram baixos nos primeiros meses do ano, aumentaram a partir de março, tiveram um máximo primaveril cujo mês dependeu do ano, sofreram uma redução nos meses seguintes, e tiveram um novo incremento no de outono (um segundo máximo). A estação de esporos atmosféricos principal iniciou-se no dia 8 de abril e terminou no dia 29 de outubro de 2013 (Figura 2.5.).

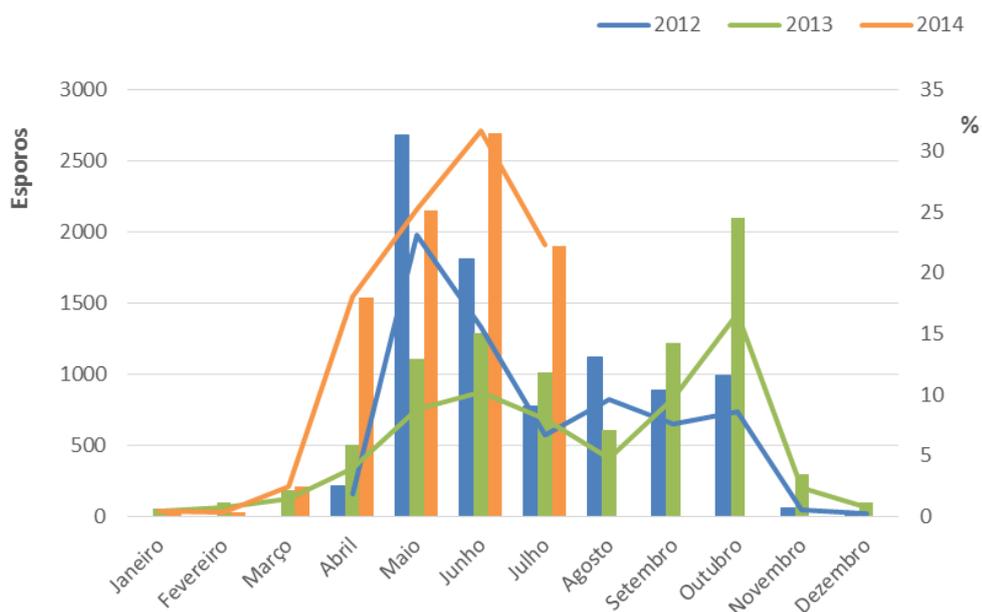


Figura 2.5. Distribuição dos índices mensais de esporos de *Alternaria* no período de estudo (Abr2012-Jul 2014).

2.3.2.2. Variação intradiária

Através da análise da Figura 2.6. verificou-se que as concentrações horárias de esporos de *Alternaria* aumentaram durante a tarde, após as 13:00, mantiveram-se elevadas até às 23:00, e baixaram durante a madrugada e manhã.

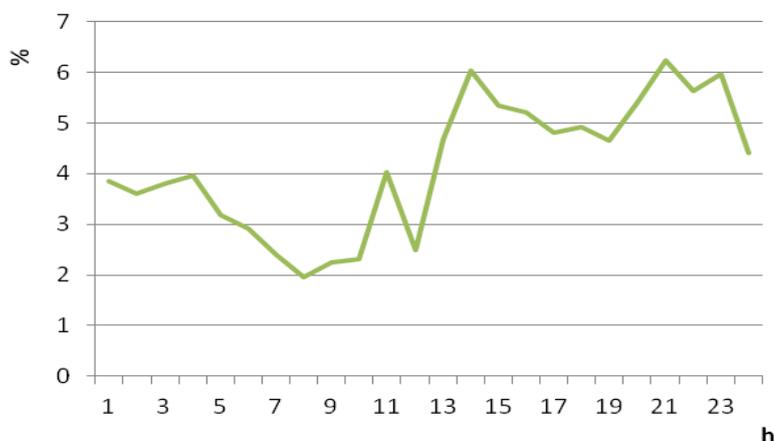


Figura 2.6. Distribuição horária da percentagem de esporos de *Alternaria* ao longo do dia durante a EEAP.

2.3.2.3. Caracterização do risco de exposição

Níveis superiores a 50 esporos/m³/dia estão descritos como capazes de provocar sintomatologia alérgica (Ilanovici, *et al.*, 2013). Durante o ano de 2013, verificaram-se 24 dias com níveis de esporos *Alternaria* superiores ao valor descrito, distribuídos pelos meses de maio, junho, julho, setembro e outubro (Tabela 2.3.).

Tabela 2.3. Número de dias e datas com concentrações médias diárias de esporo de *Alternaria* > 50 esporos/m³ no ano de 2013.

<i>Alternaria</i>	
Número de dias > 50 esporos /m ³	24
Datas	22 a 27 Mai 12 Jun 14 Jun 18 Jun 25 Jun 21 Jul 23 Jul 04 Set 05 Set 02 Out 04 Out 05 Out 07 a 12 Out 17 Out

2.4. Discussão

Os esporos de *Cladosporium* são descritos como os esporos mais abundantes em vários estudos. Nunes, *et al.*, (2008) descreve este tipo de esporos como os mais frequentes nas cidades do Porto, Coimbra, Lisboa, Évora e Portimão. Estes esporos também apresentam grande relevância em Madrid 53% (Sabariego, *et al.*, 2007), em Karachi no Paquistão, 44,8% (Hasnain, *et al.*, 2011), em Caxias do Sul, no Brasil, 33,15% (Zoppas, *et al.*, 2011), em Zarqa na Jordânia 29,2% (Abu-Dieyeh, *et al.*, 2010) e na cidade de Rzeszów, na Polónia (88,9%) (Kasprzyk, *et al.*, 2004).

Neste estudo, uma vez que não se monitorizaram todos os tipos de esporos de fungos presentes na atmosfera de Beja, apenas discutimos os valores de concentração e os totais observados. Os valores dos índices anuais dos anos de 2012 (92.351 esporos) e 2014 (104.647 esporos) foram inferiores ao registado em 2013 (123.864 esporos). Dado que as recolhas nos anos 2012 e 2014 não decorreram durante o ano todo, a diferença encontrada entre os anos está relacionada com esse facto, entre outras razões. Oliveira e seus colaboradores (2007) obtiveram um índice anual de *Cladosporium* de 111.198 e 100.153 para os anos de 2003 e 2004 respectivamente na cidade do Porto. Em Amares os índices são semelhantes aos agora obtidos, variaram entre 188.296 esporos no ano de 2006 e 229.226 esporos em 2007 (Oliveira, *et al.*, 2009 B). Segundo Aira, *et al.*, (2012) as concentrações anuais de *Cladosporium* em algumas cidades Espanholas são: 115.893 esporos em Madrid; 597.953 esporos em Mérida; 54.459 esporos em Cartagena; 933.485 esporos em Sevilha; 212.850 esporos em Málaga. Na cidade de Eskisehir na Turquia os valores anuais foram de 2.875 em 2000 e 3.580 esporos em 2001 (Erkara, *et al.*, 2008). Na Grecia a média anual de *Cladosporium* dos anos de 1999 até 2005 foi de 32.609 esporos (Damialis, *et al.*, 2007). Apesar de se registar em concentrações importantes, não se registaram valores de concentrações diárias superiores aos limites descritos por Ivanovici e seus colaboradores (2013) com capacidade de desencadear sintomas de alergia.

Observou-se a presença de esporos de *Cladosporium* na atmosfera durante todo o ano. A estação de esporos atmosféricos principal durou praticamente todo ano, resultado concordante com os resultados de outros

estudos (Aira, *et al.*, 2008). No início do ano (janeiro e fevereiro) os níveis atmosféricos deste esporo foram baixos, aumentaram progressivamente de abril até junho e sofreram uma redução nos meses seguintes. No entanto, durante o período do verão os valores mantiveram-se moderadamente altos. No Porto, este aumento verificou-se mais tarde, nos meses de verão e outono (Oliveira, *et al.*, 2007). Em Espanha, na cidade de Almería e na Galiza o comportamento é semelhante ao agora obtido (Ruiz, *et al.*, 2004; Aira, *et al.*, 2008). As diferenças climáticas, meteorológicas e a vegetação, entre outras, poderão justificar estas diferenças.

Neste estudo, o ano 2013 apresentou o índice anual mais baixos, 5.822 esporos, comparativamente com os outros dois anos, 2012 e 2014, que foram anos incompletos, 6.306 e 8.613 esporos, respetivamente. Oliveira e seus colaboradores (2007) obtiveram um índice anual de *Alternaria* de 1.940 e de 1.215 para os anos de 2003 e 2004 respectivamente na cidade do Porto. Em Amares os índices anuais são superiores aos do Porto mas inferiores aos da cidade de Beja (Oliveira, *et al.*, 2009 B). Aira, *et al.*, (2013) descreve os seguintes índices anuais de *Alternaria*: Madrid 4.808 esporos; Mérida 33.744 esporos; Cartagena 4.088 esporos; Sevilha 39.418 esporos; Málaga 12.947 esporos. Em Italia as concentrações atmosféricas anuais médias de *Alternaria* nos últimos anos foram de 6.076 esporos (Rizzi- Longo, *et al.*, 2009). Na Turquia, na cidade de Eskisehir as concentrações anuais foram de 2.228 esporos em 2000 e 1.548 em 2001 (Erkara, *et al.*, 2008). Na Grecia as concentrações atmosféricas anuais foram em média 9.941 esporos entre os anos de 1999 e 2005 (Damialis, *et al.*, 2007).

Nunes, *et al.*, (2008) descreve as cidades da região Sul do Portugal como tendo uma maior concentração de esporos fungicos na atmosfera. Segundo Oliveira e seus colaboradores (2009) no Porto e em Amares representa os esporos de *Alternaria* representam 1% do total de esporos atmosféricos. Nunes, *et al.*,(2008) descreve uma representatividade de 6,9 % em Coimbra, 4,4% em Lisboa, 2,9 % em Évora, 3,3% em Portimão.

Os níveis atmosféricos dos esporos de *Alternaria* foram baixos nos meses de inverno, janeiro e fevereiro, e nos meses de outono, novembro e dezembro, chegando mesmo a nulos em alguns dias. Entre maio e julho as concentrações na

atmosfera aumentaram de uma forma abrupta. O índice mensal máximo registou-se em 2012 no mês de maio e em junho nos anos de 2012 e 2014. No ano de 2013 observou-se um segundo máximo em outubro, com a concentração máxima diária a registar-se a 8 de novembro. Estes resultados são semelhantes aos obtidos em Évora e Portimão, cidades próximas de Beja (Nunes, *et al.*, 2008). As concentrações mais elevadas registadas na primavera poderão relacionar-se com as condições ambientais de primavera, nesta em geral tem-se antes de um período de calor com temperaturas amenas/altas a ocorrência de alguma precipitação e, por outro lado, nessa altura do ano, as culturas e a maioria da vegetação encontra-se em pleno desenvolvimento, condições propícias para a ocorrência de esporulação dos fungos (Oliveira, *et al.*, 2005; Abu-Dieyeh, *et al.*, 2010). Também o outono com o aumento de matéria morta própria da época, e com as temperaturas amenas e períodos frequentes de precipitação, coincidem com o pico nos meses de setembro e outubro (Oliveira, *et al.*, 2007).

Neste estudo, registaram-se 24 dias cujos níveis de esporos de *Alternaria* ultrapassaram ao 50 esporos/m³, níveis citados como capazes de provocar sintomatologia em doentes sensibilizados (Ilanovici, *et al.*, 2013). Estes limites de risco não são consensuais entre todos os autores. Por exemplo, Rizzi- Longo e seus colaboradores (2009) consideram níveis superiores a 100 esporos/m³, este limiar apenas foi ultrapassado em 3 dias, neste estudo.

Em termos de variação intradiária, as concentrações horárias de *Alternaria* registaram um aumento durante a tarde, após as 13:00 horas, mantiveram-se elevadas até as 23:00 horas, e sofreram uma diminuição durante a madrugada e manhã. Este comportamento foi semelhante ao obtido num estudo efetuado na cidade do Porto e Amares pelos investigadores Oliveira e seus colaboradores (2009). A distribuição das concentrações de esporos de *Cladosporium* foi constante ao longo do dia, com um ligeiro aumento durante o período da tarde, após as 16:00. Este tipo de distribuição também se verificou em Amares (Oliveira, *et al.*, 2009 A) e em Santiago, Ourense, Corunha (Aira, *et al.*, 2008). Nunes, *et al.*, (2008) num estudo onde descreveu os níveis fúngicos na atmosfera de Portugal encontrou concentrações baixas durante a madrugada e elevadas entre as 10:00 e 11:00 e também entre as 21:00 e 22:00 horas, embora os valores atmosféricos dependam da localidade e clima da região.

Na literatura é claro que a ecologia de uma área, fatores climáticos, a vegetação e microclima (s) bem como as atividades humanas podem ter uma influência elevada na variação dos níveis e na sazonalidade dos esporos (Abu-Dieyeh *et al.*, 2010).

2.5. Conclusão

Os esporos fúngicos encontram-se presentes na atmosfera numa quantidade muito superior à de outros produtos aerobiológicos, como por exemplo, os grãos de pólen. Os seus níveis no ar têm impacto na área clínica, muito em particular na doença alérgica respiratória, assim como na área agrícola no campo da fitopatologia, logo na saúde e economia de uma região, este estudo aeromicológico é certamente muito importante e o ponto de partida para muito outros estudos.

Os esporos de *Cladosporium* são muito comuns e abundantes na atmosfera da cidade de Beja, estão presentes no ar durante todo o ano. Em geral, os seus níveis atmosféricos são baixo nos primeiros meses do ano, janeiro e fevereiro, e elevados na primavera e outono, nos meses de abril, maio e outubro. Contudo, apesar das importantes concentrações registadas, estas durante o período de estudo não ultrapassaram os 2000 esporos/m³, concentração referida como limiar para o desencadeamento de sintomatologia em indivíduos sensíveis. Por conseguinte, pode-se considerar que os níveis atmosféricos de *Cladosporium*, por si só, em Beja, durante o período de estudo, não foram suficientes para causar sintomas nos doentes alérgicos.

Os esporos de *Alternaria*, menos abundantes na atmosfera de Beja, comparativamente com os esporos de *Cladosporium*, apresentaram níveis atmosféricos importantes. Os níveis de esporos de *Alternaria* foram baixos nos meses de inverno, janeiro e fevereiro, e no outono. Nos meses de maio e julho, as concentrações na atmosfera aumentaram de uma forma bastante acentuada, e atingiram os seus máximos em maio e junho. No ano de 2013, observou-se um segundo período de concentrações elevadas, nos meses de setembro até novembro, e mais acentuado que o primeiro período registado (período primaveril). Para este tipo de esporo registaram-se alguns dias cuja concentração média diária ultrapassou os valores limites referidos com capacidade de desencadarem sintomas alérgicos em indivíduos sensíveis.

Os níveis de esporos de fungos atmosféricos elevados estão relacionados com diversos fatores, entre os quais com as culturas e vegetação, com o clima, com as condições meteorológicas, favorecidos pelas temperaturas amenas/ altas conjuntamente com a precipitação.

2.6. Bibliografia

- ABU-DIEYEH, M., BARHAM, R., ABU-ELTEEN, K., AL-RASHIDI, R., & SHAHEEN, I. (2010). Seasonal variation of fungal spore populations in the atmosphere of Zarqa area, Jordan. *Aerobiologia*; 26(4): 263-276.
- AIRA, M. J., RODRÍGUEZ-RAJO, F., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M., SEIJO, C., ELVIRA-RENDUELES, B., GUTIÉRREZ-BUSTILLO, M., & ET AL. (2012). Cladosporium airborne spore incidence in the environmental quality of the Iberian Peninsula. *Grana*, 51 (4), 293-304.
- AIRA, M., RODRÍGUEZ-RAJO, F., & JATO, V. (2008). 47 Annual records of allergenic fungi spore: predictive models from the NW Iberian Peninsula. *Ann Agric Environ Med*; 15(1): 91-98.
- AIRA, M., RODRÍGUEZ-RAJO, F., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M., SEIJO, C., ELVIRA-RENDUELES, B., ABREU, I., Et al., (2013). Spatial and temporal distribution of *Alternaria* spores in the Iberian Peninsula atmosphere, and meteorological relationships:1993-2009. *Int J Biometeorol*; 57: 265-274.
- CAMACHO, I. (2007). *Estudo aerobiológico da cidade do Funchal. Detecção bioquímica dos principais aeroalergénios polínicos*. Funchal: Dissertação de doutoramento- Universidade da Madeira. Aira, M. J., Rodríguez-Rajo, F., Fernández-González, M., Seijo, C., Elvira-Rendueles, B., Gutiérrez-Bustillo, M., & et al. (2012). Cladosporium airborne spore incidence in the environmental quality of the Iberian Peninsula. *Grana*, 51 (4), 293-304.
- DAMIALIS, A., VOKOU, D., GIOULEKAS, D., & HALLEY, J. M. (2015). Long-term trends in airborne fungal-spore concentrations: a comparison with pollen. *Fungal Ecology*, 150-156.
- ERKARA, I., ASAN, A., YILMAZ, V., PEHLIVAN, S., & OKTEN, S. (2008). Airborne *Alternaria* and *Cladosporium* species and relationship with meteorological conditions in Eskisehir City, Turkey. *Environ Monit Assess*, 144, 31-41.

- FREITAS, G., VAZ, P., LOPES, M., RODRIGUES, A., TOMÉ, M., FERREIRA, T., ET AL., (2015). *Atlas de Micologia*. Obtido de Gresmime: WWW.atlasmicologia.blogspot.pt
- GRINN-GOFRON, A., STRZELCZAK, A., STEPALSKA, D., & MYSZKOWSKA, D. (2016). A 10-year study of *Alternaria* and *Cladosporium* in two Polish cities (Szczecin and Cracow) and relationship with the meteorological parameters. *Aerobiologia*; 32(1): 83-94.
- HASNAIN, S., AKHTER, T., & WAQAR, M. (2011). Airborne and allergenic fungal spores of the Karachi environment and their correlation with meteorological factors. *J Environ Monit*; 14(3): 1006-1013.
- IANOVICI, N., MARIA, C., RADUTOIU, M., HANIS, A., & TUDORICA, D. (2013). Variation in Airborne Fungal Spore Concentrations in Four Different Microclimate Regions in Romania. *Not Bot Horti Agrob*; 41(2): 450-457.
- KASPRZYK, I., RZEPOWSKA, B., & WASYLÓW, M. (2004). Fungal spores in the atmosphere of Rzeszów (South-east Poland). *Ann Agric Environ Med*; 11: 285-289.
- KOCHAR, S., AHLAWAT, M., DAHIYA, P., & CHAUDHARY, D. (2014). Assessment of allergenicity to fungal allergens of Rohtak city, Haryana, India. *Allergy & Rhinology*; 5(2): 56-65.
- NIKKELS, A., TERSTEGGE, P., & SPIEKSMAN, F. (1996). Ten types of microscopically identifiable airborne fungal spores at Leiden, The Netherlands. *Aerobiologia*; 12(1):107-112.
- NUNES, C., CÂMARA, I., FERREIRA, M., ALMEIDA, M., GASPAR, Â., LOUREIRO, C., ET AL., (2008). Fungos na atmosfera de Portugal. *Rev Port Imunoalergologia*; 16(4): 377-394.
- OLIVEIRA, M., ABREU, I., RIBEIRO, H., & DELGADO, L. (2007). Esporos fúngicos na atmosfera da cidade do Porto e suas implicações alergológicas. *Rev Port Imunoalergologia*; 15(1): 61-85.

- OLIVEIRA, M., RIBEIRO, H., & ABREU, I. (2005). Annual variation of fungal spores in a atmosphere of Porto: 2003. *Ann Agric Environ Med*; 12: 309-315.
- OLIVEIRA, M., RIBEIRO, H., DELGADO, J., & ABREU, I. (2009 A). Seasonal and intradiurnal variation of allergenic fungal spores in urban and rural areas of the North of Portugal. *Aerobiologia*; 25(2): 85-98.
- OLIVEIRA, M., RIBEIRO, H., DELGADO, J., & ABREU, I. (2009 B). The effects of meteorological factors on airborne fungal spore concentration in two areas differing in urbanisation level. *Int J Biometeorol*; 53: 61-73.
- PANTOJA, L., COUTO, M., & PAIXÃO, G. (2007). Diversidade de bioaerossóis presentes em ambientes urbanizados e preservados de um campus universitário. *Biológico*; 69(1): 41-47.
- RIZZI-LONGO, L., PIZZULIN-SAOLI, M., & GANIS, P. (2009). Seasonal occurrence of *Alternaria* (1993-2004) and *Epicoccum* (1994-2004) spores in Trieste (NE Italy). *Ann Agric Environ Med*; 16(1): 63-70.
- RUIZ, S., GUERRERO, C., & SÁNCHEZ, F. (2004). Estudio aerobiológico de los conidios de *Alternaria* y *Cladosporium* en la atmósfera de la ciudad de Almería (SE de España). *Rev Iberoam Micol*; 21: 121-127.
- SABARIEGO, S., BOUSO, V., & PÉREZ-BADIA, R. (2012). Comparative study of airborne *Alternaria* conidia levels in two cities in Castilla-La-Mancha (central Spain), and correlations with weather-related variables. *Ann Agric Environ Med*; 19(2): 227-232.
- SABARIEGO, S., DÍEZ, A., & GUTIÉRREZ, M. (2007). Monitoring of airborne fungi in Madrid (Spain). *Acta Bot Croat*; 66(2): 117-126.
- SMITH, E. (1984). *Sampling and Identifying Allergenic Pollens and Molds* (Vol. I). San Antonio, Texas: Blewstone Press.
- SMITH, E. G. (1986). *Sampling and Identifying Allergenic Pollens and Molds* (Vol. II). San Antonio, Texas: Blewstone Press.

ZOPPAS, B. C., VALENCIA-BARRERA, R. M., & FERNÁNDEZ-GONZÁLES, D. (2011). Distribuição de esporos de Cladosporium spp no ar atmosférico de Caxias do Sul, RS, Brasil, durante dois anos e estudo. *Rev Bras Alerg Immunopatol*; 34(2): 55-58.

Capítulo III

O efeito dos parâmetros meteorológicos sobre as concentrações de pólen atmosférico



Figura 3.1. Fotografia dos arredores de Beja.

3.1. Introdução

Os níveis polínicos na atmosfera estão dependentes de fenômenos endógenos e exógenos relativos às plantas, do uso do solo, latitude, altitude, condições climáticas e índice de urbanização (Recio, *et al.*, 2009). As condições meteorológicas podem influenciar a vegetação e também a libertação, a dispersão e o transporte dos grãos de pólen. Dias quentes, secos e ventosos são referidos na bibliografia como dias com níveis elevados de pólen (Perveen, *et al.*, 2014).

Alguns estudos mostram, nos últimos 100 anos, uma tendência para um aumento da temperatura global de 0,7°C. Na Europa, este aumento foi de aproximadamente 0,95°C e foi mais acentuado nos meses de primavera e verão (Bogawski, *et al.*, 2014). Em Espanha, o aumento foi superior, foi de 1,5°C. Esta tendência em conjunto com a diminuição de 11% na precipitação vai claramente influenciar a vegetação e a agricultura. A precipitação verifica-se especialmente nos meses de inverno, podendo ocorrer períodos de até 6 meses sem precipitação ou com valores insignificantes (Minero, *et al.*, 1998). Para a agricultura, a precipitação nos meses chuvosos é importante para completar as reservas (Frenguelli, *et al.*, 2014).

Há evidências, que temperaturas elevadas levam a um início de floração precoce, e a uma polinização cada vez mais precoce com o passar dos anos (a EPAPs precoces) (Caeiro, *et al.*, 2014; Bogawski, *et al.*, 2014). Alguns estudos apontam também para um aumento da duração da EPAPs entre +0.5 a 0.9 dias/ano na última década, principalmente nas plantas arbóreas como por exemplo *Quercus* e a *Olea europaea* (Torno-Molina, *et al.*, 2010; Frenguelli, *et al.*, 2014).

A temperatura é referida como um dos fatores que mais condiciona os níveis polínicos, no entanto, em regiões de seca extrema, a precipitação tem um papel preponderante. Temperaturas amenas e períodos de chuva antes da floração parecem aumentar os níveis polínicos atmosféricos (Frenguelli, *et al.*, 2014), e períodos de seca durante a primavera, dificultam a germinação de

algumas plantas, e conseqüentemente mais tarde tem repercussões negativas nos níveis de pólen atmosféricos desses *Taxa*.

Neste capítulo, pretende-se analisar a influência dos parâmetros meteorológicos (temperatura, insolação, humidade relativa, precipitação, velocidade e direção do vento) sobre as concentrações de pólen na atmosfera.

3.2. Materiais e Métodos

Para a Análise da influência dos parâmetros meteorológicos sobre as concentrações de pólen na atmosfera, utilizaram-se os dados horários das monitorizações de pólen de Beja e dos parâmetros meteorológicas do período de 12 de abril de 2012 a 30 de julho de 2014. Os parâmetros meteorológicos usados foram os seguintes: temperatura, insolação, humidade relativa, precipitação e vento (direção e velocidade), e foram cedidos pelo Departamento de Meteorologia da Base Aérea nº11 de Beja.

O efeito dos parâmetros meteorológicos sobre as concentrações horárias de grãos de pólen foi analisado através análise estatística de correlação de *Spearman* utilizando o Microsoft Office Excel 2007 e IBM SPSS Statistics 21.0.

3.3. Resultados

3.3.1. Temperatura

Durante o período em estudo registaram-se grandes amplitudes térmicas. Nos meses mais frios (dezembro e fevereiro) as temperaturas mínimas variaram entre 0.5 e 2.9°C e nos meses mais quentes (julho a agosto) as temperaturas máximas foram superiores aos 35°C.

O valor médio de temperatura variou entre 18.8 em 2012 e 15.9°C em 2014. No ano de 2013, o único analisado na totalidade o valor médio foi 16,4°C, valor inferior ao normal climatológica 1971-2000 descrito para a região (16,9 °C; IPMA, 2016) (Tabela 3.1.).

Tabela 3.1. Caracterização do período de estudo relativamente ao parâmetro da temperatura (°C).

	2012	2013	2014	Normal
Temperatura média anual				
Média	18,8	16,4	15,9	16.9
Mínimo	8,2	6,0	6,3	10.7
Máximo	32,3	27,5	27,9	23.1
Mês mais quente				
Designação	Agosto	Agosto	Julho	Julho
Média	23.8	24.9	22.6	24.2
Mínima	13.0	13.3	12.0	15.6
Máximo	38.9	39.7	36.9	32.8
Mês mais frio				
Designação	Dezembro	Fevereiro	Fevereiro	Janeiro
Média	10.3	9.2	10.5	9.6
Mínima	0.5	0.7	2.9	5.3
Máximo	18.0	18.0	16.9	13.9

Nas curvas de distribuição da temperatura ao longo do período de estudo verifica-se que os valores aumentam a partir de março e atingem o máximo julho/agosto (Figura 3.2.).

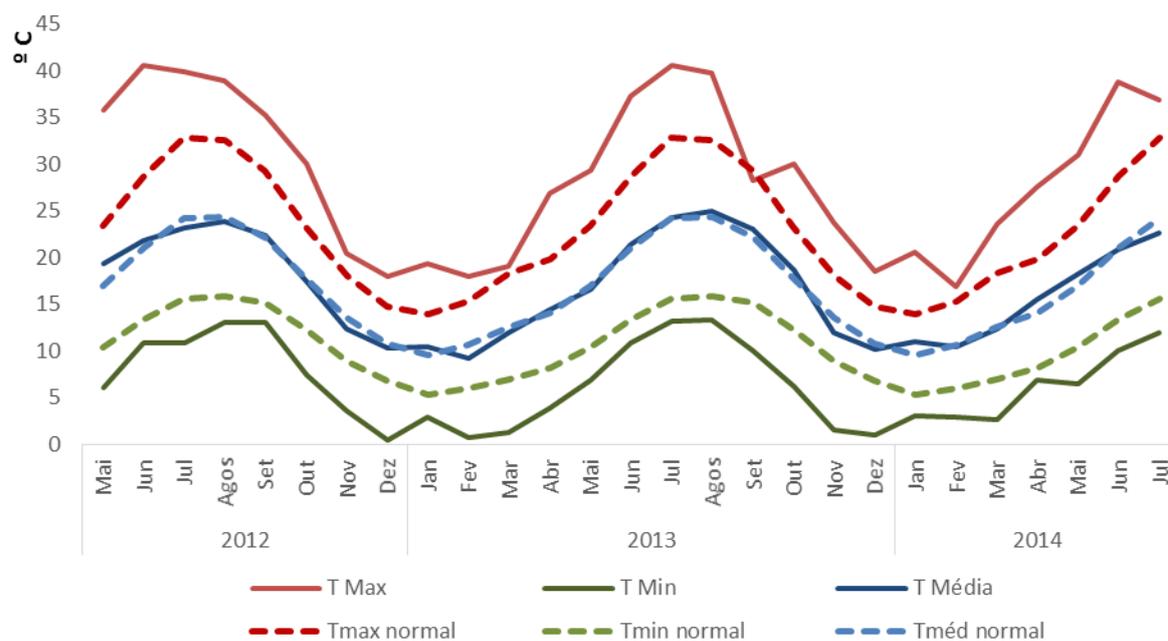


Figura 3.2. Valores mensais de temperaturas máximas, médias e mínimas e normais (IPMA 1971-200) em °C, na cidade de Beja durante o período de estudo.

3.3.2. Precipitação

A quantidade de precipitação variou entre os 268.8 mm no ano de 2014 e os 423.3 mm no ano de 2013, mas registou em todos os anos deste estudo valores inferiores ao Normal (571.8 mm) (Tabela 3.2.).

Tabela 3.2. Caracterização dos anos de estudo relativamente ao parâmetro precipitação (mm).

	2012	2013	2014	Normal
Precipitação				
Anual				
Total (mm)	409.5	423.3	268.8	571.8
Número de dias com chuva	89	148	102	101
Número de dias sem chuva	175	217	110	264
Mês com maior precipitação				
Designação	Novembro	Março	Fevereiro	Dezembro
Total (mm)	220.9	150.5	70.2	100.6
Mês com menor precipitação				
Designação	Julho	Julho	Julho	Julho
Total (mm)	0	0.3	0.8	2.9
Máxima diária (mm)	47.9	20.8	15.7	111.3

Os meses de novembro e fevereiro/março foram os mais chuvosos, ao contrário, o mês de julho registou precipitação quase nula. Os valores normais apresentados pelo IPMA para a região apontam para o mês de dezembro como o mais chuvoso (Tabela 3.3. e Figura 3.3.).

Tabela 3.3. Valores mensais de precipitação (em mm) durante o período de estudo na cidade de Beja.

	2012	2013	2014	Normal
Janeiro		55,7	66,9	73,7
Fevereiro		38,8	70,2	61,5
Março		150,5	27,0	42,5
Abril	14,2	27,1	61,7	62,2
Maiο	30,8	7,2	15,0	47,0
Junho	1,7	2,2	27,2	17,6
Julho	0	0,3	0,8	2,9
Agosto	1,5	1,4		4,0
Setembro	44,2	14,1		24,7
Outubro	43,4	66,7		63,3
Novembro	220,9	8,0		71,8
Dezembro	52,8	51,3		100,6

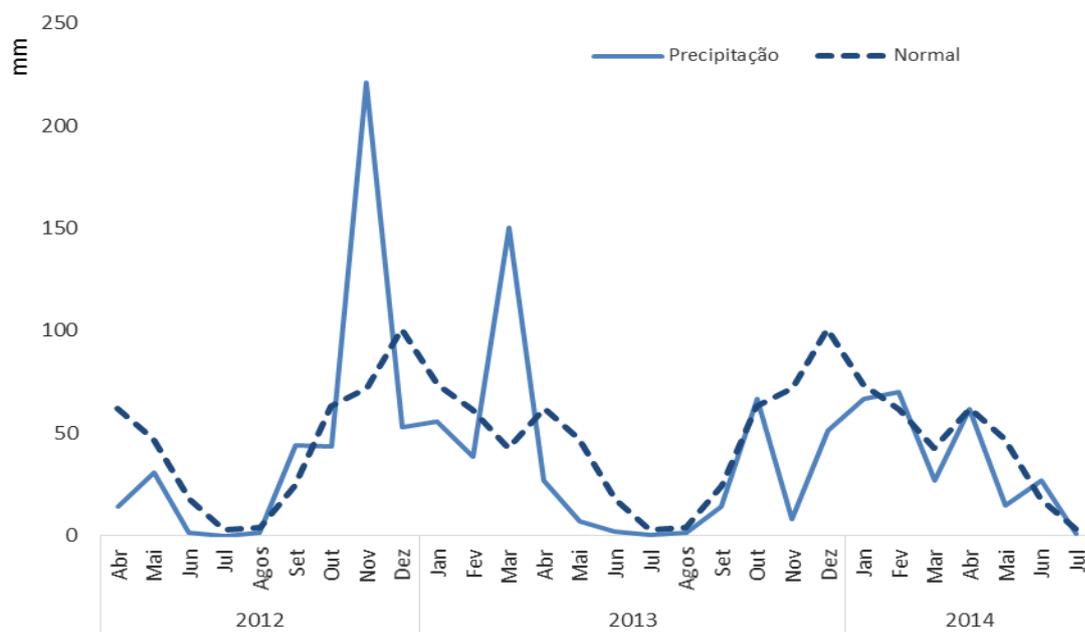


Figura 3.3. Valores de precipitação e Normais (mm) durante o período do estudo na cidade de Beja.

3.3.3. Humidade relativa

A humidade relativa durante o período de estudo na cidade de Beja foi baixa nos meses de verão (próxima dos 50%) e elevada nos meses de inverno (superior a 80%). Os valores aumentaram em novembro até março, decrescendo nos meses seguintes. A distribuição dos valores de humidade relativa segue a tendência dos valores normais para esta região (Tabela 3.4. e Figura 3.4).

Tabela 3.4. Valores mensais da humidade relativa média (%) na cidade de Beja durante o período de estudo.

	2012	2013	2014	Normal
Janeiro		87	84	85
Fevereiro		79	84	81
Março		83	71	77
Abril	76	71	78	73
Maió	64	60	62	65
Junho	58	52	60	55
Julho	52	53	59	46
Agosto	55	50		47
Setembro	57	58		55
Outubro	75	71		70
Novembro	84	71		80
Dezembro	89	75		85

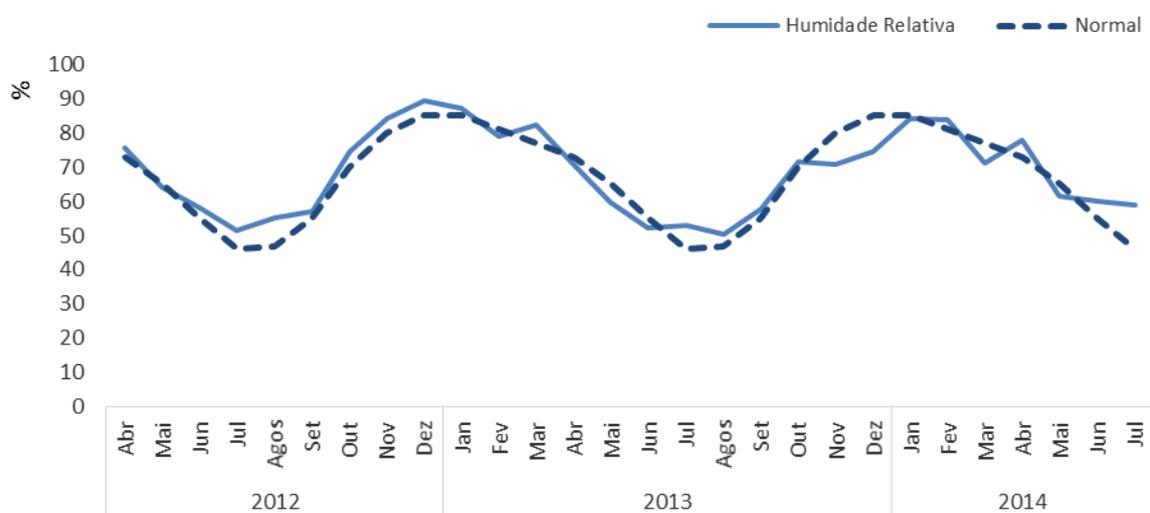


Figura 3.4. Valores mensais da humidade relativa média (%) na cidade de Beja durante o período de estudo.

3.3.4. Insolação

Em Beja, durante o período de estudo, o número de horas de sol descoberto variou entre 16703 no ano de 2014 e 29474 no ano de 2013. A média foi de aproximadamente 2440 horas de sol descoberto por ano (Tabela 3.5.).

Tabela 3.5. Valores mensais do número de horas de sol a descoberto, na cidade de Beja durante o período em estudo.

	2012	2013	2014
Janeiro		1455	1247
Fevereiro		1860	1325
Março		1663	2353
Abril	1257	2765	2120
Maio	2783	3122	3375
Junho	3291	3293	3128
Julho	3765	3413	3155
Agosto	3411	3537	
Setembro	2669	2667	
Outubro	2360	2082	
Novembro	1442	1923	
Dezembro	1375	1694	
Total anual	22353	29474	16703
Média anual	2483,7	2456,0	2386,1

Em Beja, durante o período de estudo, o número de horas de sol descoberto mensal foi reduzido nos meses de novembro até fevereiro, aumentando nos meses seguintes, atingindo valores máximos em junho, julho e agosto (Figura 3.5.).



Figura 3.5. Variação mensal do número de horas de sol descoberto na cidade de Beja durante o período do estudo.

3.3.4. Direção do vento

Durante o período em estudo, na cidade de Beja, a direção do vento oscilou ao longo dos anos. Nos anos de 2012 e 2013 os ventos de W predominaram, os ventos de N e NE foram os menos frequentes. Em 2014 os ventos com direção NW foram os mais frequentes (Tabela 3.6. e Figura 3.6.).

Tabela 3.6. Frequências percentuais de cada direção do vento na cidade de Beja durante os anos de estudo.

	2012	2013	2014
N	5	5	6
NE	5	7	7
E	6	7	8
SE	8	5	10
S	7	8	17
SW	11	12	21
W	40	42	7
NW	18	12	24

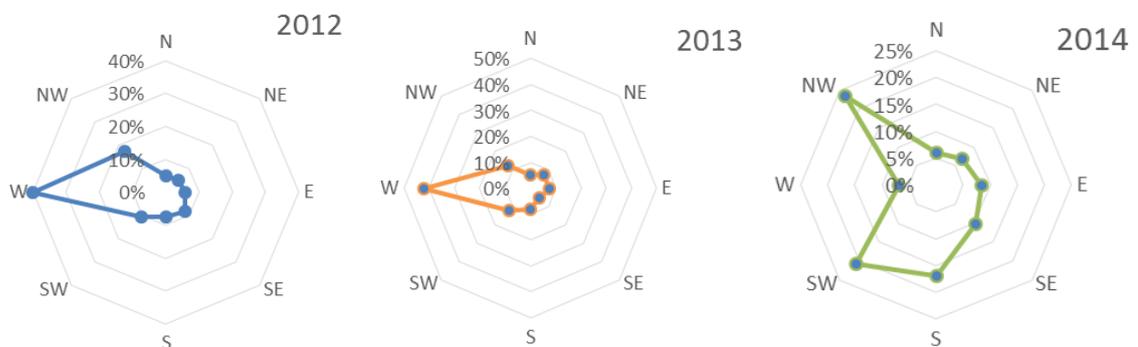


Figura 3.6. Frequências percentuais de cada direção do vento na cidade de Beja durante os anos de estudo.

De uma forma geral na cidade de Beja durante o período em estudo predominaram os ventos de W e NW. No entanto, as direções variaram de estação em estação. No inverno observou-se um predomínio dos ventos de W. Na primavera e no verão os ventos foram predominantemente de NW. No outono os ventos foram instáveis e com predominância NE e W (Figura 3.7.).

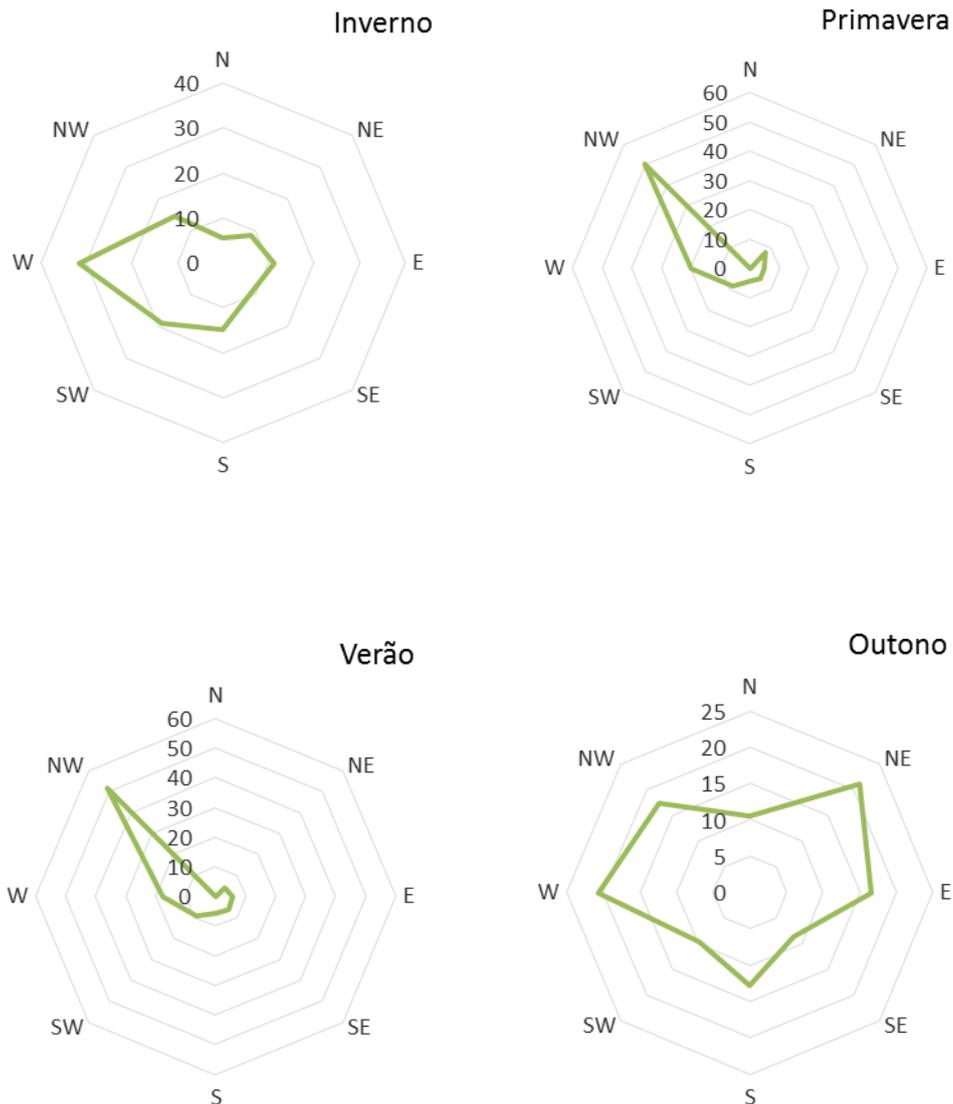


Figura 3.7. Frequências percentuais de cada direção do vento, relativas ao período em estudo na cidade de Beja durante o inverno, primavera, verão e outono.

3.3.5. Velocidade do vento

Na Tabela 3.7. verifica-se que o valor máximo de velocidade média do vento na cidade de Beja, durante o período em estudo registou-se no mês de abril de 2012 e foi de 5.2 m/s. O valor mínimo de velocidade média de vento registou-se no mês de dezembro de 2012 com o valor de 3.0 m/s.

As médias anuais variaram entre 3.9 m/s em 2013 e 4.2 m/s em 2014. O valor normal para a região é de 3.7 m/s (CLIMA, 2017).

De uma maneira geral, as velocidades médias do vento mais elevadas registaram-se nos meses da primavera (entre março e julho).

Tabela 3.7. Valores mensais de velocidade média do vento (em m/s), na cidade de Beja durante o período em estudo.

	2012	2013	2014	Normal
Janeiro		3,8	4,6	3,5
Fevereiro		3,8	4,8	3,6
Março		5,0	4,1	3,9
Abril	5,2	4,0	3,8	4,0
Mai	4,0	4,2	4,4	3,9
Junho	4,6	4,2	3,9	3,9
Julho	4,6	3,7	4,0	3,9
Agosto	4,4	3,7		3,8
Setembro	3,4	3,6		3,5
Outubro	3,6	3,4		3,3
Novembro	4,1	3,5		3,4
Dezembro	3,0	3,4		3,5
Média anual	4,1	3,9	4,2	3,7

3.3.6. Correlação com parâmetros meteorológicos

Para verificar esta relação entre os diferentes tipos polínicos e as condições meteorológicas realizou-se um teste de correlação de *Spearman*.

A Tabela 3.8. mostra os resultados obtidos através da análise de correlação de *Spearman* entre as concentrações dos diversos tipos polínicos e os diferentes parâmetros meteorológicos. Pela sua análise, verificou-se a existência de correlações estatisticamente significativas entre os vários tipos de pólen e os parâmetros meteorológicos aqui analisados. As correlações variam consoante o tipo polínicos em causa. Obtiveram-se correlações significativas com sinal positivo para os parâmetros da temperatura (exceto para Pinaceae e Betulaceae), insolação (exceto para Pinaceae), velocidade (exceto para Urticaceae) e direção do vento (exceto Betulaceae); e obtiveram-se correlações significativas negativas para a humidade relativa e precipitação, com exceção das Pinaceae.

A maioria das correlações estatísticas apresenta um grau de confiança de 99.9 %.

Tabela 3.8. Resultados da análise de correção de Spearman entre os parâmetros meteorológicos e as concentrações dos principais tipos polínicos da cidade de Beja durante o período em estudo.

Tipos Polínicos	Temperatura (°C)	Insolação (hh)	Humidade relativa (%)	Precipitação (mm)	Velocidade do vento (m/s)	Direção do vento (°)
Oleaceae	0,208***	0,115***	-0,221***	-0,074***	0,047***	0,056***
Pinaceae	0,01	0,014	-0,061***	-0,009	0,058***	0,047***
Plantago	0,163***	0,100***	-0,170***	-0,043***	0,040***	0,063***
Platanus	0,038***	0,049***	-0,095***	-0,015*	0,040***	0,041***
Poaceae	0,276***	0,137***	-0,293***	-0,092***	0,089***	0,108***
Quercus	0,150***	0,098***	-0,191***	-0,056***	0,060***	0,063***
Asteraceae	0,131***	0,063***	-0,134***	-0,041***	0,059***	0,052***
Rumex	0,065***	0,082***	-0,110***	-0,028***	0,023**	0,027***
Salix	0,057***	0,029***	-0,094***	-0,027***	0,055***	0,037***
Urticaceae	0,017*	0,020**	-0,072***	-0,037***	-0,013	0,024**
Betulaceae	0,008	0,023**	-0,038***	-0,020**	0,034***	0
Amaranthaceae	0,202***	0,102***	-0,176***	-0,041***	0,043***	0,044***
Cupressaceae	-0,177**	0,018*	0,044**	0,046***	0,051**	-0,052**
Myrtaceae	0,103**	0,045***	-0,094**	-0,020**	0,056**	0,041**
Pólen Total	0,224***	0,159***	-0,306***	-0,094***	0,093***	0,091***

Níveis de significância: * $0,05 \geq p > 0,01$; ** $0,01 \geq p > 0,001$; *** $p \leq 0,001$

3.4. Discussão

O clima da região de Beja é segundo o IPMA (2016), temperado com verão quente e seco.

Durante o período em estudo (2012-2014) registaram-se grandes amplitudes térmicas. O valor médio de temperatura foi de 18.8°C no ano de 2012 e 15.9°C em 2014. No ano de 2013, analisado na totalidade o valor médio foi 16,4°C. Apesar de ser superior ao valor descrito para o país (15.39°C) é inferior ao valor da normal climatológica 1971-2000 (-0,4°C) para a região (16,9 °C; IPMA, 2016). Ao longo do período de estudo verificou-se que os meses de dezembro a fevereiro foram os mais frios e que os valores da temperatura aumentam a partir de março e atingem o máximo julho/agosto.

Em Beja, durante o período de estudo, o número de horas de sol descoberto variou entre 16703 no ano de 2014 e 29474 no ano de 2013. A média foi de aproximadamente 2440 horas de sol descoberto por ano. O número de horas de sol descoberto foi reduzido nos meses de novembro até fevereiro, aumentando nos meses seguintes, atingindo valores máximos em junho, julho e agosto.

Nos anos de 2012 e 2013 os ventos de W predominaram, mas em 2014 os ventos com direção NW foram os mais frequentes. Os ventos de N e NE foram os menos frequentes na região. As médias anuais de velocidade de vento variaram entre 3.9 m/s em 2013 e 4.2 m/s em 2014. O valor normal para a região é de 3.7 m/s (CLIMA, 2017). O mês de abril de 2012 apresentou o valor médio de velocidade de vento mais elevado com 5.2m/s. Ao contrario o mês de dezembro de 2012 registou o valor médio mais baixo (3.0 m/s). De uma maneira geral, as velocidades médias do vento mais elevadas registaram-se nos meses da primavera (entre março e julho).

Os valores de precipitação variaram entre os 268.8 mm no ano de 2014 e os 423.3 mm no ano de 2013, mas registou em todos os anos deste estudo valores inferiores à média de Portugal continental (939 mm) e ao valor da normal

1971-2000 para a região (571,8 mm; IPMA, 2016). O IPMA descreve o mês de março de 2013 como o 2º mais chuvoso dos últimos 50 anos em Portugal Continental. Também em Beja, março foi o mês mais chuvoso do ano com valores de 150,5 mm de precipitação, valor bastante superior ao da normal 1971-2000 (42,5 mm, IPMA, 2016). Ao contrário novembro foi considerado o 4º mês mais seco dos últimos 83 anos, em Beja apenas se registaram 8 mm de precipitação (normal climatológica 1971-2000: 63,3 mm IPMA, 2016). Nos meses de junho, julho e agosto os valores de precipitação foram muito baixos.

A humidade relativa durante o período de estudo na cidade de Beja foi baixa nos meses de verão (próxima dos 50%) e elevada nos meses de inverno (superior a 80%). Os valores aumentaram em novembro até março, decrescendo nos meses seguintes. A distribuição dos valores de humidade relativa segue a tendência dos valores normais para esta região.

A primavera de 2012 foi normal a seca. Apresentou valores de temperatura média, 14,24°C, superiores ao valor normal (em +0,64°C) e valores de médios de precipitação, 173,3mm, inferior ao normal (em -38,1mm). Nesta primavera registaram-se alguns períodos quentes, com ocorrência de três ondas de calor, duas no mês de março e uma em maio. (IPMA, 2016). A primavera de 2013 foi caracterizada por valores médios de precipitação superiores ao normal e por valores médios de temperatura média inferiores ao normal. O valor médio da quantidade de precipitação no trimestre março-maio no Continente no ano de 2013 foi 325.9 mm, muito superior ao valor normal (em +114.6 mm), sendo o 3º mais elevado desde 1972 (maiores valores: 372.0 mm em 2001 e 363.9 mm em 2000). Assim a primavera de 2013 foi a mais fria desde 1993 e foi classificada como chuvosa a extremamente chuvosa em todo o território continental (IPMA, 2016). A primavera de 2014 foi classificada como normal. Apresentou valores médios de precipitação, 191,6 mm, inferior ao valor médio com um desvio de -19,8mm e valores de temperatura média superiores, 14,9°C, superior ao normal com desvio de +1,3°C. Esta primavera foi a 9ª mais quente desde 1931 (IPMA, 2016).

As concentrações de pólen dos vários tipos polínicos presentes na atmosfera são claramente influenciadas pelas condições meteorológicas da

região (Recio, *et al.*, 2006). A vegetação é condicionada pela sua situação geográfica e condições climatológicas e ambientais/meteorológicas. Segundo Grewling e seus colaboradores (2014) a vegetação é condicionada principalmente pela quantidade de precipitação e pela temperatura. Num estudo realizado por Puc (2011), 18% da variação nos níveis de *Poaceae* tem origem na variação das condições meteorológicas. Neste estudo, a temperatura e a insolação influenciaram positivamente a maioria dos tipos polínicos analisados. Esta relação positiva também se observou noutros estudos efetuados noutros países e regiões: em Espanha, na cidade de Málaga (Recio, *et al.*, 2010), Narja (Docampo, *et al.*, 2007), Granada (Guardia, *et al.*, 2006) e na região da Extremadura (Molina, *et al.*, 2001) no Paquistão (Perveen, *et al.*, 2014) e na Polónia (Puc, 2011). Alguns autores descrevem um aumento da temperatura na região Mediterrânica nos últimos anos, principalmente na primavera e verão. Em Espanha esta subida no verão chega aos 0,7°C por década (Frenguelli, *et al.*, 2014). Este aumento da temperatura na primavera, na região de Beja, certamente influenciará a fenologia das plantas que constituem a paisagem, e conseqüentemente, os seus níveis de pólen na atmosfera. Esta relação é menos notória nos tipos polínicos invernais (Torno-Molina, *et al.*, 2010). No entanto, temperaturas elevadas e períodos de seca depois do pico polínico prejudicam as plantas levando a um fim repentino da época polínica atmosférica (García-Mozo, *et al.*, 2006; Recio, *et al.*, 2009; Recio, *et al.*, 2010; García-Mozo, *et al.*, 2010; Frenguelli, *et al.*, 2014).

A precipitação e a humidade provocam um decréscimo nos níveis de grãos de pólen na atmosfera (Molina, *et al.*, 2001; Puc, 2011;). Apenas no tipo Pinaceae não foi possível encontrar qualquer tipo de relação estatística, nos restantes tipos polínicos há uma clara relação negativa. A chuva provoca um fenómeno de “lavagem de pólen da atmosfera”, ou seja os grãos de pólen são removidos da atmosfera, daí nessa altura monitorizarem-se níveis baixos ou nulos de pólen atmosférico. Os grãos de pólen absorvem a água da chuva, hidratam-se, tomando-se mais pesados o que favorece a sua deposição e rebentamento (Rodríguez-Rajo, *et al.*, 2001). Se por um lado a precipitação diminui os grãos de pólen em suspensão, por outro, quando ocorre antes da época polínica, 2 a 4 semanas antes da floração (Frenguelli, *et al.*, 2014), é benéfica para as plantas, beneficiando o seu desenvolvimento e germinação e conseqüentemente pode

levar a um aumento na produção dos grãos de pólen ao nível das anteras e conduzir a níveis de pólen elevados na altura da polinização (Recio, *et al.*, 2010).

A relação com o vento é mais controversa. No entanto, neste trabalho foi possível provar que há efetivamente uma relação positiva entre a direção e velocidade do vento e os níveis de pólen atmosférico. Resultados semelhantes foram referidos por alguns investigadores, tais como, García-Mozo, *et al.*, (2006) e Recio, *et al.* (2010). O vento é o responsável pela dispersão, ressuspensão e transporte de grãos de pólen de plantas anemófilas. Enquanto, a temperatura e precipitação originam variações verticais, o vento origina variações horizontais, ou seja, o tempo durante o qual determinado tipo polínico se mantém na atmosfera (Perveen, *et al.*, 2014). O vento proveniente de determinada direção arrasta consigo o pólen da vegetação dessa área. As grandes extensões de olival, áreas cultivadas, o montado Alentejano ou até mesmo jardins e áreas de lazer naturalmente originam variação na presença e na quantidade de diferentes tipos de pólen no ar que se coleta (Rodríguez-Rajo, *et al.*, 2001).

3.5. Conclusão

No decorrer deste trabalho retiraram-se as seguintes conclusões:

1- O ano de 2012 caracterizou-se por uma situação de seca meteorológica, principalmente no final do inverno e início da primavera. A maioria do território nacional apresentou índices de seca severa e extrema nos meses de fevereiro a março. A primavera foi classificada como normal a seca.

2- O ano de 2013 foi classificado como normal, os valores de temperatura média e precipitação foram ligeiramente superiores ao normal mas a primavera foi classificada como chuvosa a extremamente chuvosa com valores de precipitação superiores ao normal para o trimestre.

3- O ano de 2014 foi classificado como muito chuvoso, os valores da temperatura média do ar e da precipitação foram superiores ao valor médio. Apesar disso a primavera foi considerada normal.

4- A variação do conteúdo em pólen da atmosfera de Beja ao longo do tempo é reflexo da vegetação, muito em particular dos padrões fenológicos da vegetação que constitui a paisagem da cidade afetados por fatores exógenos (como por exemplo, variações das condições meteorológicas).

5- As condições meteorológicas influenciam claramente os níveis polínicos presentes na atmosfera. A temperatura média e o número de horas de sol (insolação) influenciam positivamente, enquanto, a quantidade de precipitação e a humidade relativa apresentam uma relação negativa. As correlações obtidas entre os parâmetros meteorológicos e os níveis de pólen foram estatisticamente significativas para maioria dos tipos de pólen estudados.

3.6. Bibliografia

- BOGAWSKI, P., GREWLING, L., NOWAK, M., SMITH, M., & JACKOWIAK, B. (2014). Trends in atmospheric concentrations of weed pollen in the context of recent climate warming in Poznan (Western Poland). *Int J Biometeorol*; 58:1759-1768.
- CAEIRO, E., CAMACHO, I., LOPES, L., GASPAR, A., TODO-BOM, A., OLIVEIRA, J., ET AL., (2014). Análise das concentrações de pólen de gramíneas na atmosfera de Portugal Continental. *Rev Port Imunoalergologia*; 22(2): 125-138.
- CLIMA, P. D. (2017). *Portal do Clima*. Obtido de Portal do Clima: <http://portaldoclima.pt/pt/>
- DOCAMPO, S., RECIO, M., TRIGO, M. M., MELGAR, M., & CABEZUDO, B. (2007). Risk of pollen allergy in Nerja (southern Spain): a pollen calendar. *Aerobiologia*, 189-199.
- FERNANDES, F. M., MOLINA, R. T., & CARVALHO, L. M. (2010). Estudo aerobiológico de Beja (Sul de Portugal). *Rev Port Imunoalergologia*, 18 (5) :419 - 429.
- FRENGUELLI, G., GHITARRINI, S., & TEDESCHINI, E. (2014). Climatic change in Mediterranean area and pollen monitoring. *FI Medit*; 24: 99-107.
- GARCÍA-MOZO, H., GALÁN, C., ALCÁZAR, P., GUARDIA, C., NIETO-LUGILDE, D., RECIO, M., ET AL., (2010). Trends in grass pollen season in southern Spain. *Aerobiologia*; 26: 157-169.
- GARCÍA-MOZO, H., GALÁN, C., JATO, V., BELMONTE, J., GUARDIA, C., FERNÁNDEZ, D., ET AL., (2006). *Quercus* pollen season dynamics in the Iberian Peninsula: Response to meteorological parameters and possible consequences of climate change. *Ann Agric Environ Med*; 13: 209-224.

- GREWLING, L., JACKOWIAK, B., & SMITH, M. (2014). Variations in *Quercus* sp. pollen seasons (1996-2011) in Poznan, Poland, in relation to meteorological parameters. *Aerobiologia*, 149-159.
- GUARDIA, C. D., F., A., LINARES, C., NIETO-LUGILDE, D., & CABALLERO, J. L. (2006). Aerobiological and allergenic analysis of Cupressaceae pollen in Granada (Southern Spain). *J Investig Allergol Clín Immunol*, 16(1), 24-33.
- IPMA. (Novembro de 2016). *Instituto Português do Mar e Atmosfera*. Obtido de Instituto Português do Mar e Atmosfera: <http://www.ipma.pt/pt/oclima/normais.clima/1971-2000/002>
- MINERO, F., CANDAU, P., MORALES, J., & TOMAS, C. (1998). The pollen spectrum of trees and shrubs in SW Spain (1987- 1996). *Grana*; 37: 114-120.
- MOLINA, R., PALACIOS, I., RODRÍGUEZ, A., MUÑUZ, J., & CORCHEROS, A. (2001). Environmental Factors Affecting Airborne Pollen Concentration in Anemophilous Species of *Plantago*. *Ann Bot*; 87(1): 1-8.
- PERVEEN, A., ZEB, S., KHAN, M., & QAISER, M. (2014). Seasonal Fluctuations of Airborne Pollen Grains Counts and Its Correlation With Climatic Factors From Khairpur; Sindh, Pakistan. *Pak J Bot*; 46(1): 299-306.
- PUC, M. (2011). Threat of allergenic airborne grass pollen in Szczecin, NW Poland: the dynamics of pollen seasons, effect of meteorological variables and air pollution. *Aerobiologia*; 27(3): 191-202.
- RECIO, M., DOCAMPO, J., GARCÍA- SANCHEZ, J., TRIGO, M., MELGAR, M., & CABEZUDO, B. (2010). Influence of temperature, rainfall and wind trends on grass pollination in Malaga (western Mediterranean coast). *Agricultural and Forest Meteorology*; 150: 931-940.
- RECIO, M., RODRÍGUEZ-RAJO, F., JATO, M., TRIGO, M., & CABEZUDO, B. (2009). The effect of recent climatic trends on Urticaceae pollination in two bioclimatically different areas in the Iberian Peninsula: Malaga and Vigo. *Climatic Change*.

RECIO, M., TRIGO, M., TORO, F., DOCAMPO, S., GARCÍA-GONZÁLEZ, J., & CABEZUDO, B. (2006). A Three-year aeropalynological study in Estepona (Southern Spain). *Ann Agric Environ Med*; 13: 201-207.

RODRÍGUEZ-RAJO, F., JATO, M., & SEIJO, M. (2001). El polen de Eucalyptus y su incidencia en la atmósfera de Vigo (N.O. España). *Acta Botanica Malacitana*; 26: 99-110.

TORNO-MOLINA, R., GONZALO-GARIJO, M., SILVA-PALACIOS, & MUÑOZ-RODRÍGUEZ, A. (2010). General Trends in Airborne Pollen Production and Pollination Periods at a Mediterranean Site (Badajoz, Southwest Spain). *Journal of Investigational Allergology and Immunology*; 20(7): 567-574.

Capítulo IV

O efeito dos parâmetros meteorológicos sobre as concentrações de esporos fúngicos na atmosfera



Figura 4.1. Fotografia da paisagem envolvente da cidade de Beja

4.1. Introdução

O conhecimento do conteúdo em esporos de fungos existentes na atmosfera de uma localidade/região é de grande interesse na Aerobiologia, mas também nas áreas Agrícola e Saúde (Reyes, *et al.*, 2009). Na literatura é claro que a ecologia de uma área, fatores climáticos, a vegetação e microclima (s) bem como as atividades humanas podem ter uma influência elevada na sazonalidade dos esporos (Abu-Dieyeh *et al.*, 2010).

Os fungos *Alternaria* e *Cladosporium* desenvolvem-se preferencialmente em temperaturas amenas, entre 13 e 22°C, e valores de humidade baixos, entre 50-60%. Valores inferiores ou muito superiores a estes intervalos dificultam o seu desenvolvimento (Herrero, *et al.*, 1996; Sabariego, *et al.*, 2000; Rodríguez-Rajo, *et al.*, 2005; Linares, *et al.*, 2010; Maya-Manzano, *et al.*, 2012; Grinn-Gofron & Bosiacka, 2015).

Ilanovici e seus colaboradores (2013) citam a concentração atmosférica de 2000 esporos/m³ como o limiar, a partir do qual os esporos de *Cladosporium* provocam sintomatologia. No entanto, para os esporos de *Alternaria* a sintomatologia verifica-se com concentrações atmosféricas superiores a 50 esporos/m³.

Em Portugal, não existem muitos estudos sobre a carga aeromicrobiológica atmosférica, para a localidade de Beja não se conhece nenhum estudo, o que torna a monitorização dos esporos de fungos presentes no ar atmosférico desta região de grande interesse.

Neste capítulo, o objetivo foi analisar a influência dos fatores meteorológicos sobre as concentrações dos esporos de *Cladosporium* e *Alternaria* no ar.

4.2. Materiais de Métodos

No estudo, utilizaram-se os dados horários das monitorizações de esporos de *Alternaria* e *Cladosporium* de Beja e dos parâmetros meteorológicas de 12 de abril de 2012 a 30 de julho de 2014. As variáveis meteorológicas usadas foram as seguintes: temperatura, insolação, humidade relativa, precipitação e vento (direção e velocidade). Os dados meteorológicos foram do Departamento de Meteorologia da Base Aérea nº11 de Beja.

O efeito dos parâmetros meteorológicos sobre as concentrações horarias de esporos de fungos foi analisado através da análise estatística de correlação de *Spearman* utilizando o Microsoft Office Excel 2007 e IBM SPSS Statistics 21.0.

4.3. Resultados

O ano de 2012 caracterizou-se por uma situação de seca meteorológica, principalmente no final do inverno e início da primavera. O ano de 2013 foi classificado como normal, os valores de temperatura média e precipitação foram ligeiramente superiores ao normal. O ano de 2014 foi classificado como muito chuvoso com os valores da temperatura média do ar e da precipitação superiores ao valor médio. No Capítulo III encontram-se caracterizadas ao pormenor as condições climáticas e meteorológicas da cidade de Beja dos anos relativos ao período de estudo.

A tabela 4.1 apresenta os coeficientes de correlação de *Spearman* obtidos entre os parâmetros meteorológicos e as concentrações horárias dos esporos *Alternaria* e *Cladosporium*. A temperatura, a insolação e direção do vento apresentaram uma correlação positiva estatisticamente significativa com as concentrações dos tipos *Alternaria* e o *Cladosporium* enquanto a velocidade do vento apresentou uma correlação estatisticamente positiva apenas para o tipo *Alternaria*. A humidade relativa e a precipitação apresentaram uma correlação negativa estatisticamente significativa com os dois tipos de esporos.

Tabela 4.1. Correlação de *Spearman* entre os parâmetros meteorológicos e as concentrações atmosféricas de *Alternaria* e *Cladosporium* na cidade de Beja durante o período do estudo.

Tipos Esporos Fúngicos	Temperatura (°C)	Insolação (hh)	Humidade Relativa (%)	Precipitação (mm)	Velocidade do vento (m/s)	Direção do vento (°)
<i>Alternaria</i>	0,480***	0,131***	-0,362***	-0,122***	0,068***	0,161***
<i>Cladosporium</i>	0,321***	0,025***	-0,210***	-0,076***	0,012	0,050***

Níveis de significância: * $0,05 \geq p > 0,01$; ** $0,01 \geq p > 0,001$; *** $p \leq 0,001$

4.4. Discussão

Os esporos de *Alternaria* e de *Cladosporium* são classificados como esporos de “ar seco” por se encontrarem na atmosfera em níveis elevados quando o clima é quente e seco (Oliveira *et al.*, 2009).

Neste estudo, verificou-se um claro efeito dos parâmetros meteorológicos sobre as concentrações atmosféricas de *Cladosporium* e *Alternaria*. Os esporos de *Alternaria* e de *Cladosporium* apresentaram uma correlação positiva, estatisticamente significativa com a temperatura e insolação. Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira, *et al.*, (2005) na cidade do Porto, assim como, em estudos em várias outras cidades mediterrâneas, como em Lugo, Santiago, Ourense, Vigo, Amares, Alcalá, Madrid, Mérida, Cartagena, Sevilha e em Málaga (Aira M. J., *et al.*, 2012), em Granada (Sabariego *et al.*, 2000) e Valladolid, (Reyes, *et al.*, 2009), e em Thessaloniki na Grécia (Damialis & Gioulekas, 2006).

Sabariego e seus colaboradores (2000) referem que a temperatura ótima para o desenvolvimento dos esporos de *Alternaria* está compreendida entre os 22 e os 29°C e também, segundo Linares, *et al.*, (2010), climas húmidos e amenos. No caso do tipo *Cladosporium*, as temperaturas ótimas são ligeiramente inferiores às de *Alternaria*, variam entre 13 e 21 °C (Sabariego, *et al.*, 2000). Quando as temperaturas são inferiores ou superiores às, anteriormente, descritas, o desenvolvimento, esporulação, libertação e dispersão destes esporos são inibidos (Rodríguez-Rajo, *et al.*, 2005; Maya-Manzano, *et al.*, 2012; Grinn-Gofron & Bosiacka, 2015). Em Beja, as temperaturas, durante a primavera e o outono, são amenas e, por conseguinte, de acordo com Oliveira *et al.* (2005) são propícias ao desenvolvimento dos esporos justificando-se assim as concentrações registadas nestes períodos do ano. Por outro lado, nos meses do inverno, quando a temperatura média é próxima de 10°C, e no verão, quando se registam temperaturas superiores a 30°C, os níveis de esporos presentes no ar atmosférico de Beja diminuem. Associado ao desenvolvimento da vegetação envolvente, entre as quais se encontram culturas de cereais, as condições são propícias para a esporulação, libertação, e dispersão dos esporos de fungos (Oliveira, *et al.*, 2005; Herrero, *et al.*,

2006; Abu-Dieyeh, *et al.*, 2010;). O aumento dos níveis atmosféricos que se observou no outono (final de setembro-outubro) poderá dever-se ao aumento da matéria morta, provocada por exemplo, pela queda das folhas e pelas ervas secas do verão, que são um substrato ótimo para o desenvolvimento de fungos e são muito características desta época do ano (Oliveira, *et al.*, 2005; Oliveira, *et al.*, 2007).

Os níveis atmosféricos de *Alternaria* apresentaram uma correlação positiva estatisticamente significativa com o parâmetro vento, velocidade e direção do vento. No caso, dos esporos de *Cladosporium*, verificou-se somente a existência de uma correlação positiva estatisticamente significativa com a direção do vento. No caso da relação positiva com a direção do vento poderá significar que as fontes de produção estarão distribuídas em determinado(s) quadrante(s); já a relação positiva com a velocidade do vento, no caso da *Alternaria*, que as fontes de produção não se encontram nas proximidades do coletor mas longínquas. A precipitação apresentou uma correlação negativa estatisticamente significativa nos níveis de *Alternaria* e *Cladosporium*. Resultados semelhantes foram obtidos em estudos realizados no Porto (Oliveira, *et al.*, 2007), Amares (Oliveira, *et al.*, 2009), Santiago, Corunha, Viveiro, Lugo, Vigo, Ourense, Verín e Trives (Aira, *et al.*, 2008). A precipitação promove a sedimentação dos esporos de fungos e conseqüentemente, a diminuição dos seus níveis atmosféricos (Aira M. J., *et al.*, 2012).

A humidade relativa apresentou uma correlação negativa estatisticamente significativa sobre os os níveis de *Alternaria* e *Cladosporium* tal como descrito por Oliveira e os seu colaboradores (2009) no Porto e Amares. As concentrações atmosféricas de esporos de *Alternaria* e *Cladosporium* aumentam quando as temperaturas são amenas e a humidade relativa é baixa. Herrero, *et al.*, (1996) descreve valores de temperatura de 25°C e de humidade relativa entre 50-60% como as condições meteorológicas ideais para o desenvolvimento destes fungos. Valores de humidade muito baixos ou superiores a 80% dificultam o seu crescimento. Neste estudo, os valores atmosféricos de esporos de *Alternaria* e *Cladosporium* foram máximos na primavera e no outono, com humidades relativas médias de aproximadamente 60% (Rodríguez-Rajo, *et al.*, 2005).

As dificuldades em perceber de forma clara a relação estabelecida entre os níveis atmosféricos de esporos de fungos e as condições meteorológicas poderão relacionar-se com pequenas variações dos vários parâmetros meteorológicos que ocorrem ao longo do dia. As condições meteorológicas influenciaram os níveis atmosféricos de esporos fúngicos direta e/ou indiretamente, e não é fácil analisar separadamente diferentes fatores meteorológicos, uma vez que todos eles em simultâneo influenciam o desenvolvimento fúngico e os processos de libertação, dispersão e transporte dos esporos de fungos no ar (Rodríguez-Rajo, *et al.*, 2005; Grinn-Gofron & Bosiacka, 2015). Segundo Damialis & Gioulekas (2006) e outros investigadores (Hjelmroos, 1993; Kurkela, 1997), estudos que utilizam médias diárias estarão sujeitos a desvios provocados por condições meteorológicas intermitentes. Por conseguinte, neste estudo, no sentido de clarificar os resultados obtidos, optou-se pelo uso de valores horários das variáveis nas análises de correlação.

4.5. Conclusão

Neste estudo, pôde-se concluir que as condições meteorológicas exercem uma clara influência sobre as concentrações atmosféricas dos esporos de fungos *Alternaria* e *Cladosporium*; a temperatura, a insolação, a velocidade e a direção do vento exercem uma influência positiva enquanto a humidade relativa e precipitação exercem uma influência negativa.

4.6. Bibliografia

- ABU-DIEYEH, M., BARHAM, R., ABU-ELTEEN, K., AL-RASHIDI, R., & SHAHEEN, I. (2010). Seasonal variation of fungal spore populations in the atmosphere of Zarqa area, Jordan. *Aerobiologia*, 26, 263-276.
- AIRA, M. J., RODRÍGUEZ-RAJO, F., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M., SEIJO, C., ELVIRA-RENDUELES, B., GUTIÉRREZ-BUSTILLO, M., *ET AL.*, (2012). Cladosporium airborne spore incidence in the environmental quality of the Iberian Peninsula. *Grana*; 51: 293-304.
- AIRA, M., RODRÍGUEZ-RAJO, F., & JATO, V. (2008). 47 Annual records of allergenic fungi spore: predictive models from the NW Iberian Peninsula. *Ann Agric Environ Med*; 15: 91-98.
- DAMIALIS, A., & GIOULEKAS, D. (2006). Airborne allergenic fungal spores and meteorological factors in Greece: Forecasting possibilities. *Grana*; 45: 122-129.
- ERKARA, I., ASAN, A., YILMAZ, V., PEHLIVAN, S., & OKTEN, S. (2008). Airborne Alternaria and Cladosporium species and relationship with meteorological conditions in Eskisehir City, Turkey. *Environ Monit Assess*; 144: 31-41.
- FERNANDES, F. M., MOLINA, R. T., & CARVALHO, L. M. (2010). Estudo aerobiológico de Beja (Sul de Portugal). *Rev Port Imunoalergologia*; 18 (5): 419 - 429.

- GRINN-GOFRON, A., & B, B. (2014). Effects of meteorological factors on the composition of selected fungal spores in the air. *Aerobiologia*; 31(1): 63-72.
- HELMROOS, M. (1993). Relationship between airborne fungal spore presence and weather variables: Cladosporium and Alternaria. *Grana*, 32, 40-47.
- HERRERO, A. D., RUIZ, S. S., BUSTILLO, M. G., & MORALES, P. C. (2006). Study of airborne fungal spores in Madrid, Spain. *Aerobiologia*, 22, 135-142.
- HERRERO, B., FOMBELLA-BLANCO, M. A., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, D., & VALENCIA BARRERA, R. (1996). The role of meteorological factors in determining the annual variation of Alternaria and Cladosporium spores in the atmosphere of Palencia, 1990-1992. *Int J Biometeorol*, 39, 139-142.
- IANOVICI, N., MARIA, C., RADUTOIU, M., HANIS, A., & TUDORICA, D. (2013). Variation in Airborne Fungal Spore Concentrations in Four Different Microclimate Regions in Romania. *Not Bot Horti Agrobi*, 41(2), 450-457.
- KURKELA, T. (1997). The number of Cladosporium conidia in the air in different weather conditions. 36, 54-61.
- LINARES, C., BELMONTE, J., CANELA, M., GUARDIA, C. D., ALBA-SANCHEZ, F., SABARIEG, S., & ALONSO-PÉREZ, S. (2010). Dispersal patterns of Alternaria conidia in Spain. *Agricultural and Forest Meteorology*; 150: 1491-1500.
- MAYA-MANZANO, J. M., FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, S., HERNÁNDEZ-TREJO, F., DÍAZ-PÉREZ, G., GONZALO-GARIJO, A., SILVA-PALACIOS, I., & ET AL. (2012). Seasonal Mediterranean pattern for airborne spores of Alternaria. *Aerobiologia*.

- NUNES, C., CÂMARA, I., FERREIRA, M., ALMEIDA, M., GASPAR, Â., LOUREIRO, C., *ET AL.*, (2008). Fungos na atmosfera de Portugal. *Rev Port Imunoalergologia*; 16(4): 377-394.
- OLIVEIRA, M., ABREU, I., RIBEIRO, H., & DELGADO, L. (2007). Esporos fúngicos na atmosfera da cidade do Porto e suas implicações alergológicas. *Rev Port Imunoalergologia*; 15(1): 61-85.
- OLIVEIRA, M., RIBEIRO, H., & ABREU, I. (2005). Annual variation of fungal spores in a atmosphere of Porto: 2003. *Ann Agric Environ Med*; 12(2): 309-315.
- OLIVEIRA, M., RIBEIRO, H., DELGADO, J., & ABREU, I. (2009). The effects of meteorological factors on airborne fungal spore concentration in two areas differing in urbanisation level. *Int J Biometeorol*; 53: 61-73.
- REYES, E., CRUZ, D., MERINO, E., & SÁNCHEZ, J. (2009). Meteorological and agricultural effects on airborne *Alternaria* and *Cladosporium* spores and clinical aspects in Valladolid (Spain). *Ann Agric Environ Med*; 16: 53-61.
- RODRÍGUEZ-RAJO, F., IGLESIAS, I., & JATO, V. (2005). Variation assessment of airborne *Alternaria* and *Cladosporium* spores at different bioclimatical conditions. *Mycol Res*; 109(4): 497-507.
- SABARIEGO, S., GUARDIA, C. D., & ALBA, F. (2000). The effect of meteorological factors on the daily variation of airborne fungal spores in Granada (southern Spain). *Int J Biometeorol*; 44: 1-5.
- SANTOS, H. P. (2011). *Espectro de esporos de fungos alergisantes na atmosfera de Lisboa*. Lisboa: Dissertação de Mestrado Engenharia Florestal e dos Recursos Naturais, Instituto Superior de Agronomia Universidade Técnica de Lisboa.

Capítulo V

Sensibilizações alérgicas na população de Beja



Figura 5.1. Fotografia da área envolvente da cidade de Beja

5.1. Introdução

5.1.1. Resposta alérgica

A nomenclatura de alergia provem do grego *allos* “outro”, e *ergon* “ação”, foi introduzido por um médico austríaco de nome Clemens von Pirquet em 1906. Designava a capacidade de um organismo reagir de uma maneira específica e anormal contra um elemento estranho (Bousquet & Michel, 1995).

Atualmente, alergia é uma reação exagerada e inapropriada do sistema imunitário contra determinados antigénios, que neste caso são denominados de alérgenos. É uma resposta de hipersensibilidade que alguns indivíduos manifestam quando expostos a estímulos que para a maioria são inofensivos e bem tolerados. Na maioria dos casos resulta na produção aumentada de imunoglobulinas do tipo E (IgE) específica para alérgenos mas em casos menos frequentes, a alergia pode ser mediada por outras imunoglobulinas, por exemplo do tipo G (IgG) (Figura 5.2.)(Arosa, *et al.*, 2007).

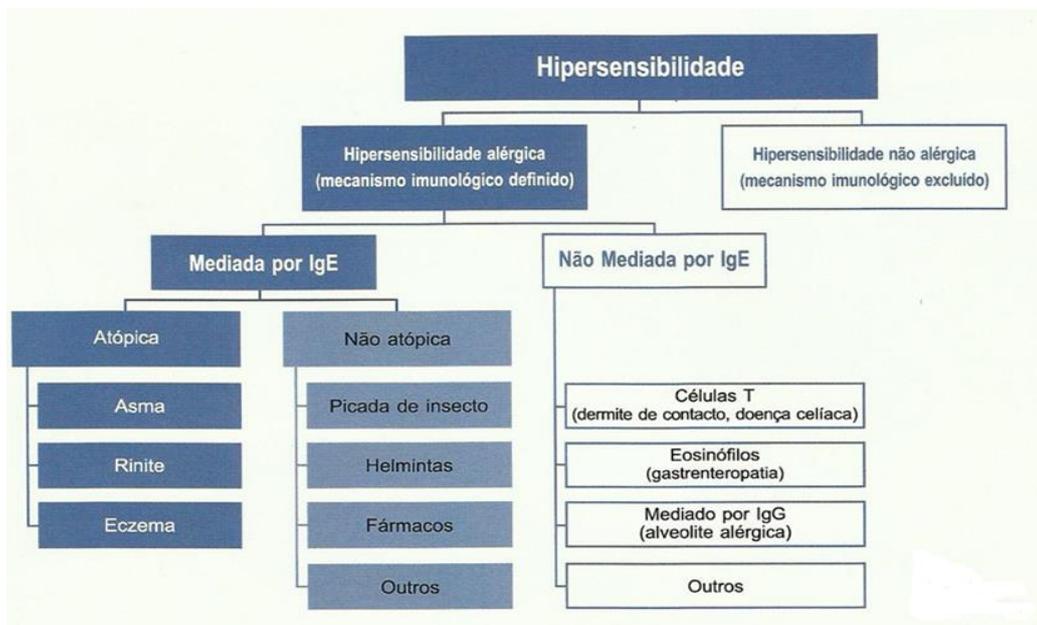


Figura 5.2. Reações de hipersensibilidade. (Johansson, *et al.*, 2001).

Gell e Coombs classificaram as respostas imunológicas em quatro tipos (Figura 5.3.) de acordo com as moléculas geradas e pelo tempo decorrido até aos sintomas. Três tipos ocorrem pela via humoral e são mediadas por anticorpos ou complexos antígeno-anticorpo: tipo 1- mediado por IgE, tipo 2- mediadas por anticorpos anti antígenos membranares, tipo 3- mediadas por complexos imunes e tipo 4- depende de resposta mediada por células e por isso com início de ação mais tardio, razão pela qual é denominado de retardada. Neste trabalho vamos aprofundar apenas as reações de tipo I (Kindt, *et al.*, 2008).

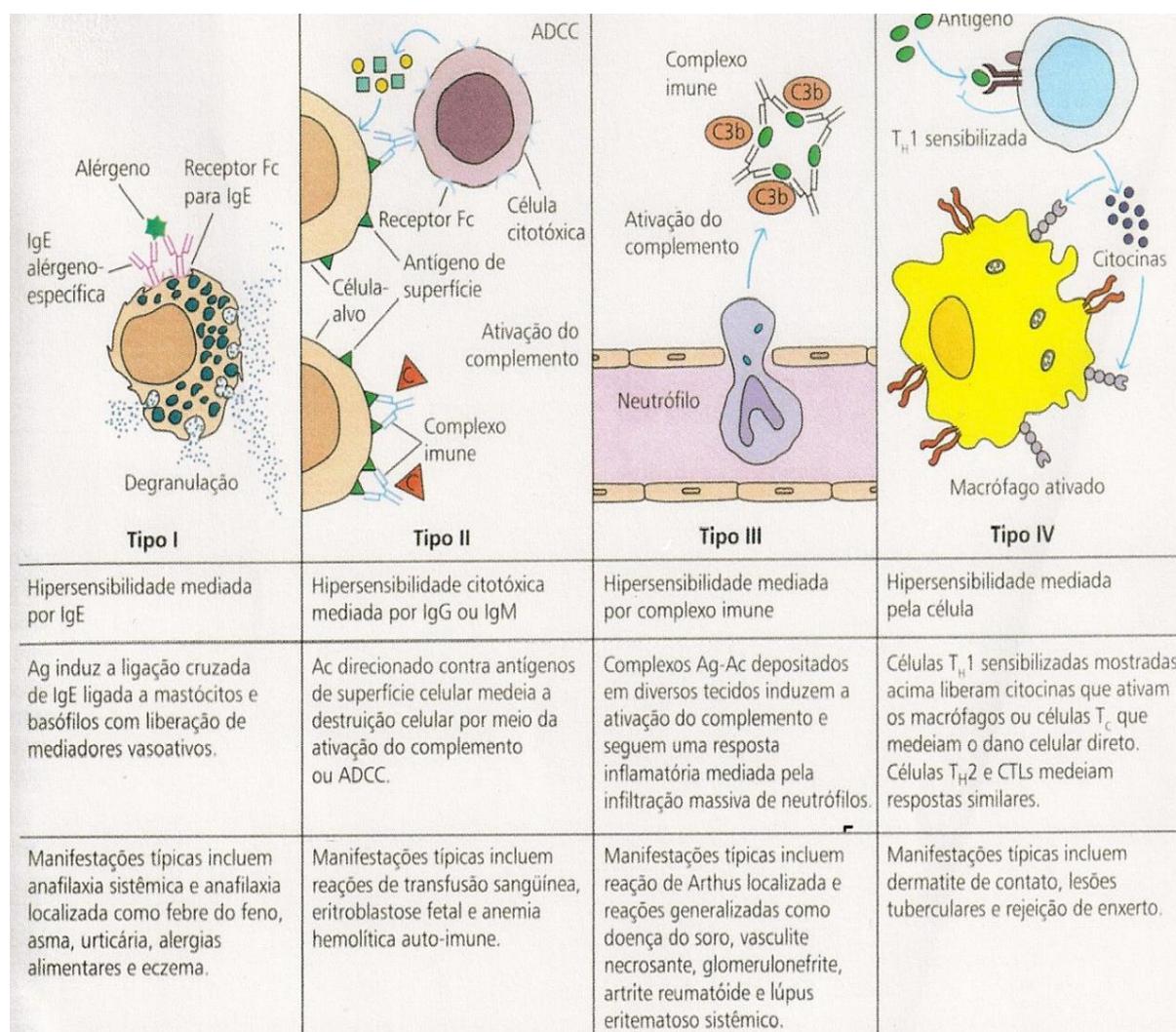


Figura 5.3. Classificação de Gell e Coombs das reações alérgicas. Adaptado e modificado de Kindt, *et al.*, (2008).

A resposta alérgica caracteriza-se por uma fase de sensibilização alérgica e posteriormente, num contacto subsequente, por uma resposta de hipersensibilidade imediata (alguns minutos após a exposição) e tardia (4 a 12 horas depois). Na primeira exposição ou sensibilização a este alérgénio é apresentado pelas células dendríticas aos linfócitos Th₂ que por sua vez vão estimular os linfócitos B e produzir IgE. A IgE circulante vai ligar-se aos recetores de alta afinidade existentes nos mastócitos e basófilos. Nas exposições seguintes, o alérgénio ligar-se-á diretamente à IgE específica da superfície dos mastócitos, ativando-os e provocando a sua desgranulação. Em resposta, os mastócitos libertam mediadores preformados, como a histamina, provocando sintomatologia. São também libertadas durante este processo citocinas e outras quimiocinas responsáveis por recrutar células inflamatórias como os eosinófilos e neutrófilos perpetuando o processo inflamatório (Figura 5.4.) (Rodrigues, *et al.*, 2009).

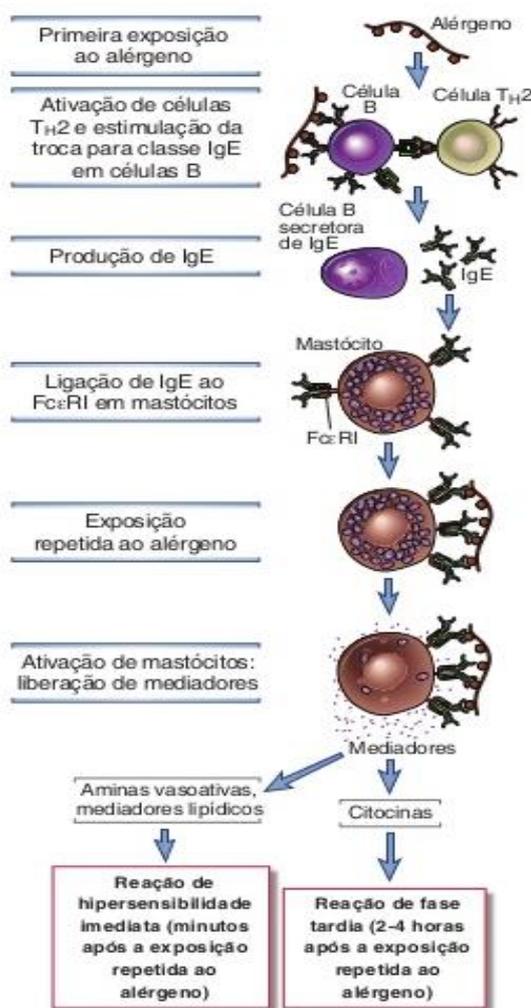


Figura 5.4. Sequência de eventos nas reações de hipersensibilidade de tipo I. Adaptado de Abbas, *et al.*, (2012).

As manifestações clínicas podem ser muito variadas. De uma forma resumida e generalista os sintomas podem ser respiratórios (dificuldade em respirar por envolvimento brônquico ou nasal), oculares (prurido, congestão e lacrimejo), cutâneos (lesões de eczema e/ou urticaria) ou digestivos (náuseas, vômitos e diarreias).

5.1.2. Fatores de risco na doença alérgica

A epidemiologia destas doenças é muito complexa. O aumento da doença num mundo cada vez mais industrializado resultará da conjugação de várias variáveis. Afeta a população de forma transversal desde as crianças com poucos meses até os idosos de idade avançada.

A predisposição genética, industrialização, fatores ambientais, e fatores inerentes ao próprio individuo como a idade serão decisivos na prevalência da patologia (Figura 5.5).

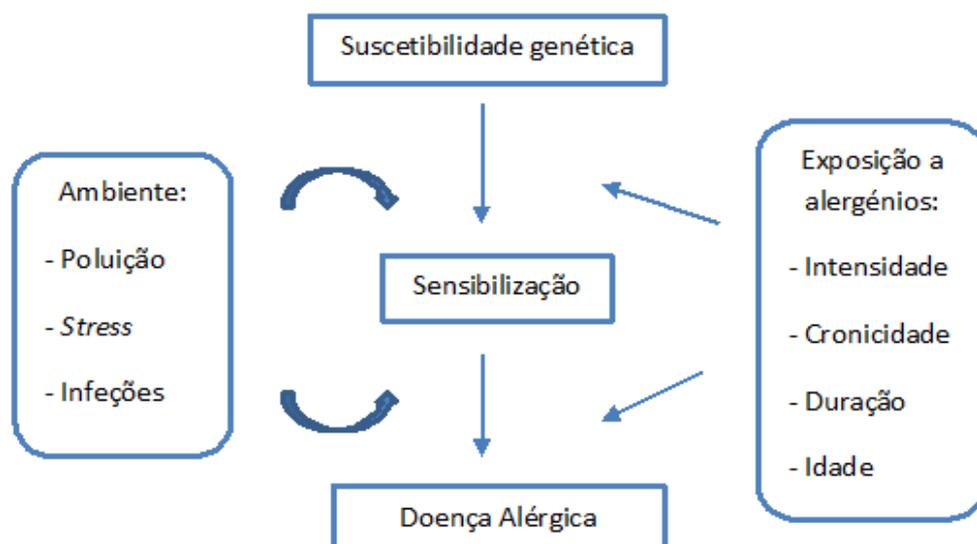


Figura 5.5. Fatores genéticos e ambientais na doença alérgica. Modificado e adaptado de Bartra, *et al.*, (2007).

Várias teorias tentam explicar os valores atuais da doença alérgica:

1- Alguns autores entendem que a predisposição genética é uma condicionante incontronável. Os indivíduos serão geneticamente condicionados para esta hiperssensibilidade e os pais com doença terão grande probabilidade de a transmitir aos descendentes. Alguns autores referem que eventos ocorridos no período pré-natal podem influenciar na sintomatologia alérgica (Correa & Zuliani, 2001). Os cromossomas 5,6,12 e 13 foram associados à doença (Arosa, *et al.*, 2007) e a resposta à terapia também pode estar condicionada geneticamente (Koster, *et al.*, 2010). Atopia é o termo utilizado para uma tendência pessoal ou hereditária familiar para produzir imunoglobulinas do tipo E em excesso, em resposta a um alérgeno. A história familiar de atopia aumenta o risco de desenvolver a doença em 48%, enquanto que sem antecedentes familiares este risco é de apenas 15% (Inácio, 1998). Estes valores aumentam em crianças (50 a 80%) (Vasconcelos, *et al.*, 2011), dependendo se ambos os progenitores sofrerem da doença, ou se a mãe é portadora em vez do pai (Cardoso, 2011). Num estudo realizado no Hospital do Espírito Santo em Évora com 32 crianças alérgicas de idades inferiores a 8 anos, 81% apresentava antecedentes familiares em pelo menos um progenitor (Diamantino, *et al.*, 2006).

2- Outros autores defendem que os alérgenos são a causa principal de sensibilização. A continuidade da exposição, a dose e também a alergenicidade da partícula são responsáveis pela sensibilização dos indivíduos (Damialis, *et al.*, 2007; Matyasovszky, *et al.*, 2012).

3- Outra teoria muito conhecida, é a hipótese de higienização. A valorização de limpeza e a preocupação em proteger os bebés promove uma redução de infeções que condiciona o sistema imunitário para uma resposta Th₂ que aumenta a produção de IgE, atopia e doenças alérgicas (Pinto & Todo-Bom, 2004). O desequilíbrio da resposta Th₁/Th₂ justifica o aumento de doenças crónicas e alérgicas em países desenvolvidos. As melhores condições de higiene, uso frequente de antibióticos, a vacinação obrigatória e menor contacto com o meio rural limitam o contacto das crianças com agentes patogénicos e impedem a manifestação de patologias infecciosas agudas na primeira infância, inibindo a ação de linfócitos Th₁ e favorecendo a ativação de linfócitos Th₂, responsáveis

pelas manifestações alérgicas crónicas (Vasconcelos, *et al.*, 2011). A proteção contra agentes microbianos e infecciosos em crianças, associado à ocidentalização são factores que promovem a gravidade e o aumento de prevalência de doenças alérgicas (Pegas, *et al.*, 2011).

4- Mais recentemente a “hipótese da imunotolerância” defende que a exposição precoce aos alérgenos reduz o risco de doença alérgica por apresentar capacidade de regular o sistema imunitário (Pegas, *et al.*, 2011).

5- O aumento da doença alérgica em países industrializados aponta para a poluição como um fator fulcral na patologia. As partículas poluentes transportam alérgenos (Epstein, 2012) e os derivados de combustíveis fósseis provocam lesões nas mucosas e na pele, tornando-as mais suscetíveis. Alguns autores defendem que são mesmo responsáveis por alterar a capacidade alérgica das proteínas (Cecchi, *et al.*, 2010). O aumento dos níveis de ozono (O₃), monóxido de carbono (CO), dióxido de nitrogénio (NO₂), e dióxido de enxofre (SO₂) além de serem prejudiciais para as vias respiratórias também influenciam pelo aquecimento global o ciclo de vida das plantas, provocando, períodos polínicos mais longos e intensos. Associado ao estilo de vida urbano atual cada vez mais confinado a espaços interiores, pouco arejados e poluídos com fumo de tabaco, ao *stress* e uma alimentação descuidada podem justificar os elevados valores da doença alérgica mundial. (Bartra, *et al.*, 2007; Vasconcelos, *et al.*, 2011; Matyasovszky, *et al.*, 2012).

6- Outros autores defendem que os valores de doenças alérgicas sempre foram elevados. O diagnóstico moderno mais eficaz, mais sensível e acessível e o maior o conhecimento e experiência por parte de clínicos, especialistas na área da Imunoalergologia é que melhoraram (Bartra, *et al.*, 2007).

5.1.3. Alergénios mais importantes

Os sintomas dependem da natureza do alergénio, dosagem e porta de entrada no organismo. A via inalatória (aeroalergénios), alimentar, via injetável (picada de abelha ou vespa) ou fármacos ou até por contacto com a pele são as formas mais comuns de contacto com alergénios.

A maioria dos alergénios são proteínas, glicoproteínas, lipoproteínas, e protéases ou enzimas de armazenamento. Os mais comuns são os ácaros, grãos de pólen, esporos fúngicos, pelos de animais e alimentos variados (Tabela 5.1.) (Ferreira, 2011).

Tabela 5.1. Principais alergénios em Portugal (Ferreira, 2011).

Aeroalergénios	Trofoalergénios
Ácaros do pó doméstico (os géneros <i>Dermatophagoides</i> e <i>Euroglyphus</i> são os mais importantes)	De origem animal: Leite de vaca Ovos Peixes e Crustáceos Moluscos Carne (só muito raramente)
Ácaros de armazenamento (os géneros <i>Acarus</i> , <i>Lepidoglyphus</i> , <i>Tyrophagus</i> , <i>Glyphagus</i> e <i>Blomia</i> são relevantes)	
Pólen de gramíneas (vários tipos de plantas que incluem, por exemplo, os vários cereais – gramíneas cultivadas – ou plantas como o feno, grama, lólio ou espiguiilha – gramíneas selvagens)	De origem vegetal: Frutos secos Frutas frescas Leguminosas (amendoim, grão, feijão, soja, ervilhas,...) Cereais (trigo e outros) Vegetais vários (couve, tomate, aipo, cenoura, alface, alho, cebola, espinafres, batata, ...) Sementes (sésamo, girassol, ...) Cacau e especiarias
Pólen de ervas , como por ex. a erva parietária (alfavaca de cobra) ou o plantago (tanchagem)	
Pólen de oliveira e pólen de outras árvores como o cipreste, plátano, pinheiro ou acácia	
Epitélio (pelo) de gato, de cão , ou de outros animais (cavalos, roedores, aves)	
Fungos (bolores) (vários tipos de fungos quer de exterior quer de interior (ex. os géneros <i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus</i> ou <i>Cladosporium</i>)	
Látex aerossolizado	
	Aditivos alimentares (vários...)

Uma sensibilização precoce a alergénios inalantes ou alimentares como o leite de vaca e ovos em crianças de poucos meses de vida é preditiva de doenças alérgicas mais graves no adulto, como asma ou rinite. É a chamada marcha alérgica (Wickman, 2005). Níveis elevados de anticorpos IgE para alergénios alimentares na infância estão associados à sensibilização a alergénios inalantes tardios (Figura 5.6.).

Nem todas as crianças sensibilizadas seguem a marcha alérgica mas o risco de doença em idade adulta é maior nestes casos.

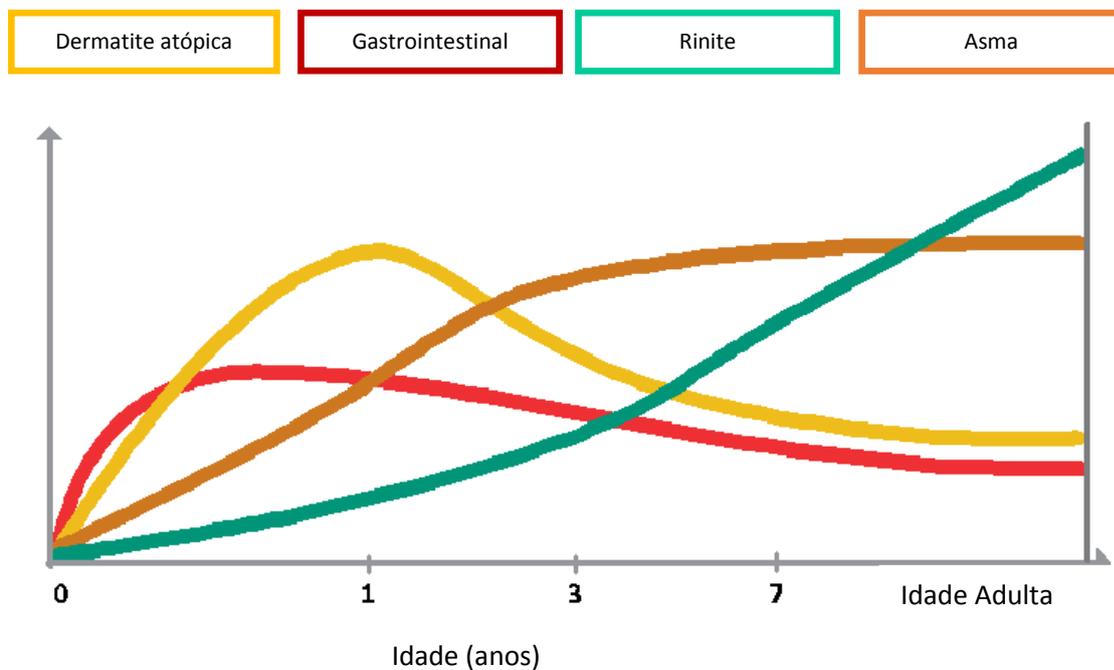


Figura 5.6. Marcha alérgica. Adaptado e modificado de Scientific.Inc, (2013).

5.1.4. Principais doenças alérgica

5.1.4.1. Rinite alérgica

A rinite alérgica é uma doença nasal sintomática, determinada por um processo inflamatório mediado por imunoglobulinas do tipo E (IgE), após exposição a alérgenos. Estes libertam mediadores ativos que causam vasodilatação localizada e aumento da permeabilidade vascular. Os sintomas incluem prurido, rinorreia, obstrução nasal, espirros e tosse, e são reversíveis espontaneamente ou após tratamento (Rodrigues, *et al.*, 2009). É a doença atópica mais comum em Portugal e afeta entre 30 a 40 % das crianças e 20 a 30% nos adultos (Viana, *et al.*, 2014).

Os grãos de pólen e os ácaros são os alérgenos mais comuns nesta patologia. É classificada de acordo com a duração dos sintomas em persistente ou intermitente. Persistente, se os sintomas duram mais de 4 dias por semana ou 4 semanas por ano, e intermitente se tal não se verifica. Classifica-se também em ligeira ou moderada/grave de acordo com a gravidade das manifestações. Para ser considerada de moderada/grave pelo menos um dos seguintes itens tem de se verificar: 1) Sono anormal; 2) interferência com atividades diárias, desportivas e de lazer; 3) Dificuldades na escola ou trabalho (Rodrigues, *et al.*, 2009). Frequentemente resulta do contato com grãos de pólen mais característicos da primavera e neste caso é denominada de sazonal, também conhecida como febre do feno (Rodrigues, *et al.*, 2009; Cardoso, 2011).

A rinite alérgica afeta o desempenho profissional e escolar e pode provocar irritabilidade e cansaço por interferência na qualidade do sono.

Afeta 500 milhões de indivíduos e muitas vezes coexiste com outras patologias. Aproximadamente 80% dos asmáticos tem rinite alérgica e 40% dos doentes com rinite sofrem de asma. Mas pode também coexistir com conjuntivite, sinusite, polipose nasal, otite, faringite e laringite (Rodrigues, *et al.*, 2009).

5.1.4.2. Asma

A primeira descrição de asma remonta a antiguidade clássica e a sua patogenia foi descrita no séc. XVII por Van Helmont. Os vários estudos científicos desde então permitiram um conhecimento patogénico e terapêutico que facilita o diagnóstico e controlo da doença proporcionando melhor qualidade de vida aos doentes. Acomete pessoas de todas as idades, afetando preferencialmente crianças, de vários níveis sociais e culturais com diferentes graus de severidade.

Mas o conceito de asma continua a ser problemático. Segundo o Projeto GINA (*Global Initiative for Asthma*): asma é uma doença heterogénea inflamatória crónica das vias aéreas. Os sintomas respiratórios como sibilância, dispneia, aperto no peito e tosse podem variar de intensidade ao longo do tempo, tal como o fluxo aéreo expiratório (FitzGerald, *et al.*, 2015).

A asma é uma doença inflamatória crónica das vias aéreas respiratórias inferiores, provocada principalmente por alérgenos presentes na atmosfera como os grãos de pólen e ácaros. O exercício físico ou o frio, também são frequentemente associados a crises nesta patologia. É uma doença multifatorial com características genéticas, incapacitante e potencialmente fatal. A desgranulação dos mastócitos e a libertação de mediadores e o envolvimento de células inflamatórias, como os eosinófilos e neutrófilos recrutados para a região são capazes de causar lesões nos tecidos pela libertação de aminas vasoativas, radicais de oxigénio e citocinas. A oclusão do lúmen com muco, proteínas e fragmentos celulares, destruição de epitélios e edema, a hipertrofia do músculo liso brônquico, e a eventual formação de um tampão mucoso origina dificuldade respiratória. Nem sempre é alérgica, 10 a 30 % dos asmáticos não são alérgicos (Sales, 2010). A asma é limitante a nível pessoal e social mas também económico. Em Portugal no ano de 1999 estimou-se que os doentes com asma custaram 160 milhões de euros em cuidados de saúde (Nunes & Ladeira, 2012).

5.1.5. Doença alérgica em Portugal e no Mundo

As doenças alérgicas são um grave problema de Saúde Pública. Afetam grande parte da população mundial, tendo aumentado a prevalência, nos últimos anos em países industrializados e desenvolvidos. A incidência geral de alergia na população é de 1 caso por cada 3 pessoas, ou seja 30%, no entanto o valor aumenta até aos 54,2% se a população for apenas de crianças (Vasconcelos, *et al.*, 2011).

Aproximadamente 10 a 40% da população mundial sofre de rinite alérgica e estima-se que ainda há muitos doentes subdiagnosticados (Cheng-yao, *et al.*, 2010). Frequentemente está associada com outras patologias como a rinoconjuntivite, e são mais prevalentes na primavera, especialmente entre abril e junho devido ao aumento de grãos de pólen (Nunes & Ladeira, 2012). Em Portugal, esta é uma causa importante de rinite, estima-se que afete 10 a 70% da população dependendo do local e população abrangida. É uma doença crónica comum nos Estados Unidos, na Europa, em vários países entre os quais Portugal. Atinge prevalência de 30 a 40% em crianças e 20 a 30% em adultos (Viana, *et al.*, 2014). Frequentemente coexiste com outras patologias como a asma. Neste caso é um factor de gravidade e de mau prognóstico na resposta à terapia (Todo-Bom, *et al.*, 2012).

A asma é uma doença crónica muito frequente a nível mundial, afecta segundo a Organização Mundial de Saúde mais de 300 milhões de pessoas em todo Mundo e provoca a morte a 250 mil pessoas anualmente. Apesar da elevada prevalência, pensa-se que a doença permanece subdiagnosticada e consequentemente subtratada, estima-se que 5% não tenham a doença controlada. Nos países desenvolvidos o crescimento da prevalencia e incidência é inequivoco.

Observa-se uma grande variabilidade geográfica, a Oceânia, Reino Unido, América Latina e do Norte apresentam valores muito elevados, ao contrário, o continente Asiático tem o menor percentual da população asmática (Figura 5.7.).

As previsões mundiais para 2025 prevêem um aumento de mais de 100 milhões de doentes asmáticos. Na Europa 20% da população sofre da doença (Matyasovszky, *et al.*, 2012) e 1 em cada 5 crianças é alérgica (Wickman, 2005). O país Europeu com mais doentes diagnosticados é o Reino Unido (10-13%) e com menor é a Geórgia com apenas 0,28%.

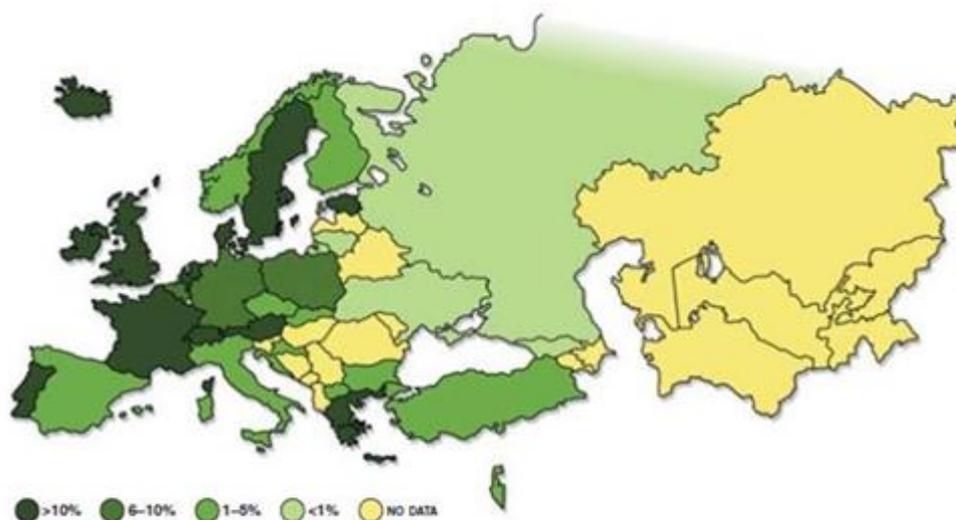


Figura 5.7. Distribuição de taxas de prevalência de asma na população adulta na Europa. Adaptado de Sales, (2010).

Em Portugal há uma prevalência de mais de 600 mil asmáticos, 9,4 % do grupo etário dos 6-7 anos, 14,7% entre os 13 e 14 e 4,5 % entre os 20 e 44 anos. Alguns estudos apontam para 10% da população com asma (Sales, 2010). Segundo o Observatório Nacional das Doenças Respiratórias, em média 3000 pessoas são internadas por esta patologia.

Segundo “*European Allergy White Paper*” no ano 2000 os custos anuais com doenças alérgicas foram estimados em 29 biliões de euros. Os custos diretos incluem as consultas médicas, idas ao serviço de emergência, hospitalizações, terapias, e exames complementares de diagnóstico. Os custos indiretos serão os custos relacionados incapacidade de ir trabalhar quer por doença quer para acompanhar familiares, redução da capacidade de trabalho, reformas antecipadas, falecimento prematuro, e perda de atividade social por ansiedade, depressão, dor e tristeza. A asma e rinite alérgica são as mais frequentes embora com uma mortalidade baixa, perturbam a qualidade de vida dos doentes e

familiares (Cardoso, 2011). Nos Estados Unidos a asma é a principal causa de admissão de crianças no Serviço de Urgência (Koster, *et al.*, 2010).

5.1.6. Meios complementares de diagnóstico

O diagnóstico destas patologias nem sempre é fácil. A história clínica pessoal e familiar completa e identificação de sintomatologia sugestiva são o primeiro passo. Os alérgenos capazes de sensibilização são muitos e é necessário ser criterioso na escolha dos testes a realizar. Caso contrário o custo e desconforto serão elevados e o risco de não diagnóstico ou diagnóstico incorreto também.

5.1.6.1. Testes cutâneos por picada

O estudo alergológico pode realizar-se através de testes cutâneos de alergia, ou seja testes de picada de hipersensibilidade imediata, conhecidos como *Skin Prick test*. É considerado o principal método para confirmar sensibilização alérgica (Daher, *et al.*, 2009). Neste rastreio utilizam-se extratos alérgicos padronizados que ao contactar com a pele, normalmente do antebraço, interagem com as IgE ligadas aos mastócitos, causando libertação de histamina e outros mediadores e consequentemente reação de pápula e eritema. Permitem avaliar de uma forma rápida e económica um conjunto de alérgenos, num processo mediado por IgE. No entanto são testes de provocação com o próprio alérgeno e devem ser realizados por profissionais especializados e com vigilância médica, podem provocar reações fortes e até choque anafilático em casos mais raros e severos. Têm também a desvantagem de implicar a suspensão da medicação e de ser especialmente difícil em crianças pequenas e em casos mais raros, sensibilizar a alérgenos testados (Kindt, *et al.*, 2008).

5.1.6.2. Doseamento de IgE total e específica

O doseamento de IgE total é uma ferramenta atual muito importante. O aumento dos níveis de IgE total no soro do paciente poderá indicar uma reação alérgica e fornecer informações relevantes ao clínico. Numerosos fatores contribuem para os valores séricos de IgE, e é importante ter em consideração quando se interpreta um resultado analítico. Desde logo a predisposição genética, a exposição a alérgenos, infeções, idade, sexo, poluição e tabagismo. Apesar disto, valores séricos elevados são observados na maioria das doenças alérgicas: dermatites, eczema atópico, asma alérgica e rinite mas também noutras patologias como parasitoses e doenças monoclonais. Outro teste muito utilizado no diagnóstico é a determinação de IgE alérgico específicas. Estas são anticorpos desenvolvidos pelo sistema imunitário contra um determinado alérgico. Indicam sensibilização a esse alérgico e os seus níveis são fundamentais no diagnóstico e acompanhamento do doente alérgico. A sua eficácia e sensibilidade é frequentemente comparada com os testes cutâneos de diagnóstico imediato (Daher, *et al.*, 2009). É um método mais caro e moroso mas muito sensível e os resultados são independentes da medicação e não têm efeitos secundários. Os resultados dependem do substrato utilizado e é frequente a resposta cruzada entre vários alérgenos. No entanto, nem todas as alergias são mediadas por IgE o que limita este método (Kindt, *et al.*, 2008).

5.1.6.3. Testes moleculares

É frequente, doentes sensibilizados a um grande painel de alérgenos, no entanto alguns desses resultados devem-se a uma reatividade cruzada proveniente de sequências comuns a vários alérgenos ou famílias. A análise molecular é, nestes casos, uma ferramenta de diagnóstico poderosa e por vezes é a única forma de diagnosticar corretamente o paciente. O teste mais conhecido denomina-se de ISAC e permite determinar de uma só vez aproximadamente 100

proteínas de várias fontes alérgicas diferentes (alimentares, respiratórias ou outras). Permite identificar também qual é o alérgeno primário provável responsável pela sintomatologia, em situações de reatividade cruzada. Tem o inconveniente de ser dispendioso e não estar disponível em todos os serviços. Devido à sua grande especificidade e custo apenas é utilizada em casos complicados em que as outras formas de diagnóstico não foram conclusivas.

5.1.6.4. Eosinofilia

Os valores de eosinofilia no sangue periférico são também um indicador de patologia alérgica. No entanto, também se verifica em várias outras patologias como infeções parasitárias e alguns linfomas. Nem todas as reações alérgicas provocam eosinofilia, dependem da gravidade e do órgão afetado (Rodrigues, *et al.*, 2009).

5.1.6.5. Testes de provocação

Os testes de provocação com alérgenos não são uma prática clínica comum. Utilizam o próprio alérgeno para testar *in vivo* a reação do doente ao estímulo. Os alérgenos devem ser modificados para que o doente não os reconheça e assim evitar enviesamentos o que nem sempre é conseguido. São testes qualitativos e que envolvem risco para o paciente e por isso só podem ser realizados por profissionais. São utilizados mais no âmbito da investigação e em centros muito especializados.

5.1.7. Estratégias de tratamento

5.1.7.1. Evicção de alergénios

Em muitos casos evitar por completo os alergénios identificados como problemáticos é impossível, mas consegue-se reduzir a incidência e a gravidade da doença, diminuindo a exposição ao alergénio responsável pelo aparecimento ou agravamento dos sintomas.

O controlo ambiental tem como objetivo minimizar o contacto entre o doente e a fonte alergénica. A principal estratégia é a prevenção. A remoção de animais de estimação domésticos é relativamente fácil. O controlo de poeiras domésticas é especialmente importante nos quartos, nas almofadas, tapetes, cortinados, cobertores, e peluches, estes devem ser aspirados com frequência e reduzidos ao menor número possível. É também importante assegurar o ambiente interior com humidade baixa para evitar o desenvolvimento de esporos fúngicos e ácaros. No caso dos grãos de pólen a evicção é mais complicada, apesar de só se encontrarem na atmosfera durante um período no ano. No sentido de reduzir a exposição aos níveis de pólen atmosférico são várias as medidas a adotar pelo doente, entre estas a programação de atividades ao ar livre, e ter as janelas fechadas, entre muitas outras. A evicção alimentar é difícil quando a restrição inclui muitos alimentos, deve ser acompanhado por profissionais para prevenir carências nutricionais. A adição de componentes proteicos em alimentos processados dificulta o sucesso (Kindt, *et al.*, 2008).

5.1.7.2. Terapêutica Farmacológica

Estão disponíveis alguns medicamentos que aliviam a sintomatologia de doenças alérgicas. Os mais conhecidos e comercializados são os anti-histamínicos que são eficazes no alívio dos sintomas como prurido, espirros e rinorreia e nem tanto no tratamento de obstrução nasal. Os corticoides intranasais ao contrário são mais eficientes na diminuição da inflamação e obstrução nasal e

também em sintomatologia ocular. Os descongestionantes intranasais ou orais são agonistas dos recetores adrenérgicos alfa que causam vasoconstrição, descongestionamento nasal mas tem um uso de duração limitado (Rodrigues, *et al.*, 2009).

5.1.7.3. Imunoterapia alergénica

Em alguns casos a imunoterapia pode ser uma boa opção. Consiste na administração de extratos alergénicos purificados e padronizados por via subcutânea ou sublingual com o objetivo de dessensibilizar e modificar a resposta imunológica no futuro. Está indicada para doentes com doença alérgica significativa não controlada e em que a sensibilização se deve a um único alergénio ou um pequeno grupo. No entanto há algum risco de reações adversas que são minimizadas pela escolha dos extratos, seleção adequada de doentes e permanente vigilância (Rodrigues, *et al.*, 2009).

5.2. Métodos

5.2.1 População com sintomatologia alérgica

Foram estudados 2477 indivíduos que apresentaram sintomatologia de doença alérgica. Representam 11% da população da cidade de Beja.

Estes doentes apresentaram sintomatologia sugestiva de doença alérgica de acordo com observação médica realizada no Hospital José Joaquim Fernandes em Beja [Unidade Local de Saúde do Baixo Alentejo, EPE (ULSBA)], entre janeiro de 2010 até janeiro de 2015. Os exames realizados foram selecionados de acordo com o histórico e sintomatologia do doente avaliado pelo médico assistente, e por isso são distintos entre doentes. As colheitas foram realizadas após consulta médica e as datas correspondem a períodos sintomáticos no contexto clínico específico e não foram realizadas com o propósito de participar neste estudo. O sistema de gestão laboratorial Clinidata®XXI permitiu o acesso retrospectivo aos resultados de doseamentos de IgE totais e específicas determinadas pelo analisador automático Phadia® 250 comercializado pela Thermo Fisher Scientific.

5.2.2. Venda de medicação antialérgica

A maioria dos doentes alérgicos consegue controlar a sintomatologia pelo uso de medicação em ambulatório. A medicação mais comum pertence há classe dos anti-histamínicos H1. No sentido de se analisar a existência de uma relação entre sintomatologia de polinose e as contagens de pólen atmosférico utilizaram-se os dados das vendas de embalagens de medicamentos antialérgicos das farmácias da cidade de Beja, dos três anos consecutivos 2012 a 2014. A relação entre as variáveis foi analisada através das análises estatísticas de correlação de *Spearman* (Microsoft Office Excel 2007 e IBM SPSS Statistics 21.0).

5.3. Resultados

5.3.1. Caracterização da amostra de doentes

Dos 23 000 habitantes da cidade de Beja foram estudados 2477 (11%). Na população analisada, 867 doentes que correspondem a 35% dos doentes pertencentes ao estudo foram confirmados como tendo doença alérgica mediada por IgE. A maioria dos doentes eram polisensibilizados (Tabela 5.2.).

Tabela 5. 2. População do concelho de Beja estudada, entre os anos 2010 e 2015.

	População da Cidade de Beja	Indivíduos Analisados	Positivos	Negativos
Total de Indivíduos	23 000	2477	867	1610
(%)	100	11	4	7

A distribuição entre o sexo feminino e masculino é muito semelhante. 52% dos doentes pertencia ao sexo masculino e 48% ao sexo feminino (Figura 5.8.).

Em termos de idade, os indivíduos da amostra encontravam-se entre 2 semanas de idade e os 90 anos, com uma média de idade de 31 anos.



Figura 5.8. Gráfico da distribuição do género dos doentes comprovadamente alérgicos.

A maioria dos doentes eram adultos (59%). Os adolescentes representaram 19% do total. E o grupo de crianças entre os 5 e 8 anos e o com menos de 4 anos representaram, cada um, 11% (Figura 5.9.).

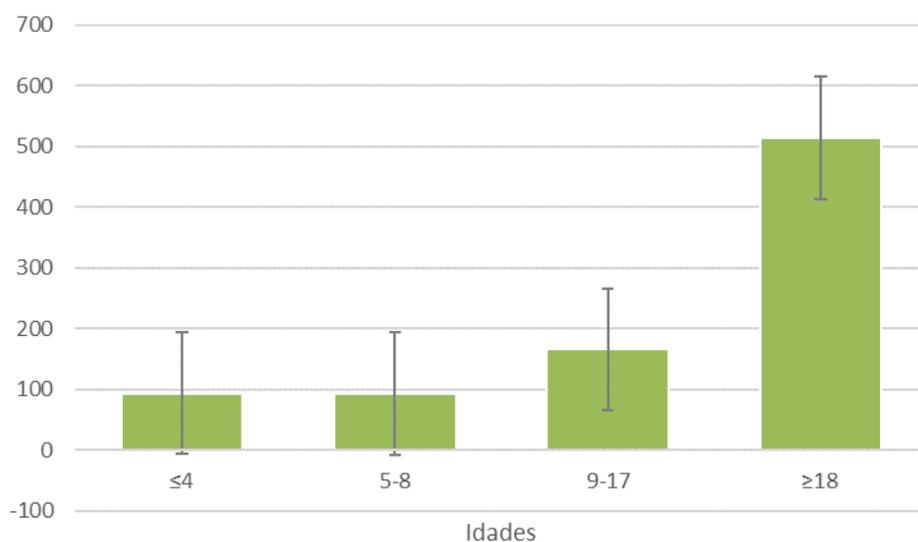


Figura 5.9. Gráfico da distribuição etária.

Observou-se uma distribuição contínua de colheitas de amostras de sangue ao longo do ano. Apesar disso o mês de maio apresentou valores máximos seguido pelo mês de setembro (Figura 5.10.).

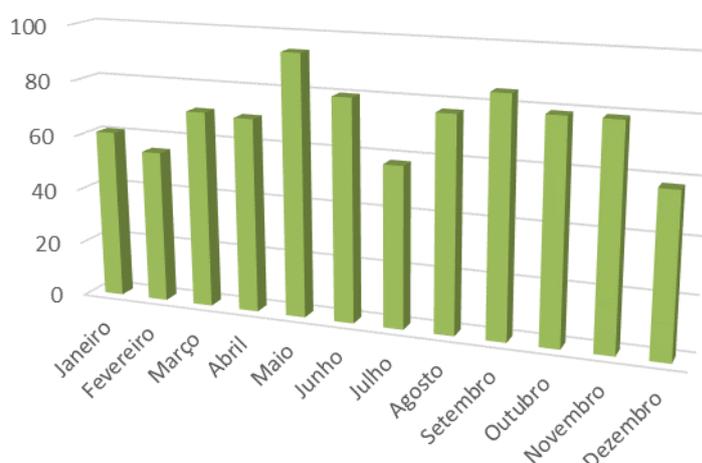


Figura 5.10. Gráfico da distribuição dos resultados positivos ao longo do ano.

5.3.2. Análise dos principais alergénios sensibilizantes

O diagnóstico de doença alérgica não é um processo fácil. Na amostra de doentes analisada os grãos de pólen foram os principais alergénios sensibilizantes, seguidos pelos ácaros. Os alimentos e os alergénios relacionados com animais domésticos foram também comuns. Os fungos foram os alergénios que apresentaram a menor taxa de sensibilização (Figura 5.11.).

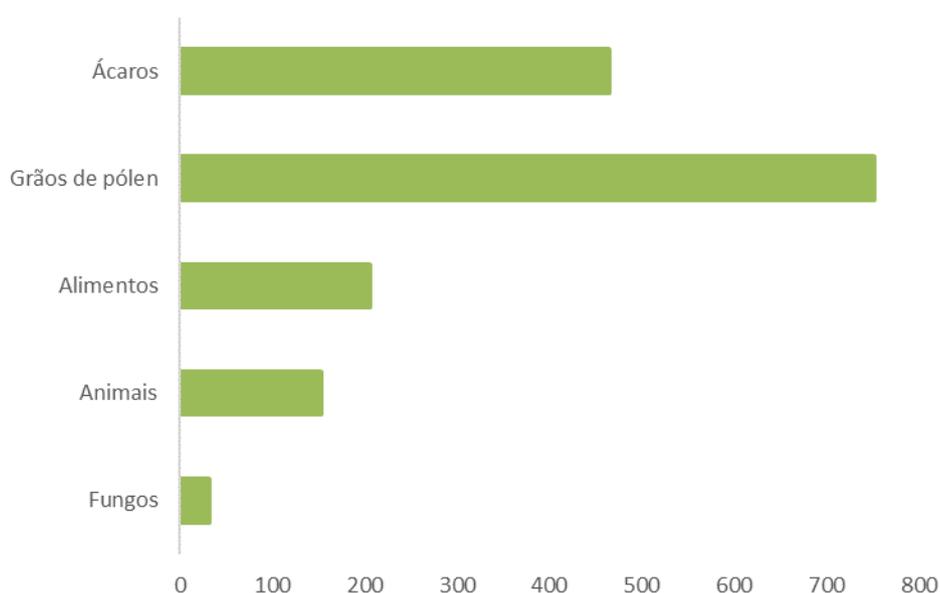


Figura 5.11. Distribuição dos doentes segundo a sua sensibilização aos vários alergénios.

5.3.3. Análise das sensibilizações segundo as classes etárias

Os alergénios predominantes encontrados em cada classe etária são ligeiramente diferentes. As crianças com menos de 4 anos apresentaram uma elevada sensibilização a alimentos. (Figura 5.12.).

		Total
Alimentos	fx5 (Leite, clara de ovo, bacalhau, trigo, amendoim, soja)	19
	Amendoim	2
	Clara de ovo	8
	Grão de soja	2
	B-lactoglobulina	10
	Leite vaca	28
	Bacalhau	1
	Trigo	2
	Gema ovo	4
	A-lactoalbumina	7
	Caseína	12
	fx2 (atum, bacalhau, camarão, mexilhão, salmão)	1
	fx1 (coco, amêndoa, amendoim, avelã, noz do brasil)	3
Grãos de pólen	gx1 (panasco, sargasso bravo, azevém, rabo de gato, erva de febra)	12
	Aveia	2
	Trigo	3
	Cevada	1
	Panasco	4
	Azevém	4
	wx1 (erva de santiago, artemísia verdadeira, corrijó, pé de ganso, barrilha espinhosa)	8
	<i>Parietária judaica</i>	2
	tx1 (Plátano bastardo, vidoeiro, sobreiro, ulmeiro, nogueira)	7
	Sobreiro	1
Oliveira	4	
Ácaros	<i>D. pteronyssinus</i>	20
	<i>D. farinae</i>	19
Animais	ex1 (caspa de gato, cavalo, vaca e cão)	4
	Caspa gato	8
	Caspa cão	1
Fungos	mx1 (<i>Peniillium notatum</i> , <i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Alternaria alternata</i>)	2

Figura 5.12. Distribuição dos doentes na classe etária ≤4 anos segundo a sua sensibilização alergénica

No grupo de crianças entre os 5 e 8 anos de idade, a sensibilização a alimentos tende a diminuir. Os grãos de pólen são os principais alérgenos a causar sensibilização assim como os ácaros (Figura 5.13.).

Sensibilizações em idades 5-8 Anos		Total	
Alimentos	fx5 (Leite, clara de ovo, bacalhau, trigo, amendoim, soja)	11	28
	Clara de ovo	2	
	Amendoim	1	
	Morango	1	
	B-lactoglobulina	1	
	Leite vaca	3	
	Trigo	3	
	Centeio	1	
	A-lactoalbumina	2	
	fx1 (coco, amêndoa, amendoim, avelã, noz do brasil)	3	
Grãos de pólen	gx1 (panasco, sargasso bravo, azevém, rabo de gato, erva de febra)	39	221
	Aveia	15	
	Trigo	13	
	Cevada	11	
	Panasco	18	
	Grama	5	
	Erva de Santiago	6	
	Artemisia	5	
	Sargasso bravo	3	
	Centeio	13	
	Azevém	16	
	wx1 (erva de santiago, artemisia verdadeira, corrijó, pé de ganso, barrilha espinhosa)	22	
	<i>Parietaria officinalis</i>	6	
	Urtiga	4	
	<i>Parietaria judaica</i>	5	
	tx1 (Plátano bastardo, vidoeiro, sobreiro, ulmeiro, nogueira)	14	
	Plátano	3	
Sobreiro	9		
Oliveira	14		
Ácaros	<i>D. pteronyssinus</i>	49	99
	<i>D. farinae</i>	50	
Animais	ex1 (caspa de gato, cavalo, vaca e cão)	8	27
	Caspa gato	10	
	Caspa cão	9	
Fungos	mx1 (<i>Penillium notatum</i> , <i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Alternaria alternata</i>)	4	6
	<i>Candida albicans</i>	1	
	<i>Alternaria alternata</i>	1	

Figura 5.13. Distribuição dos doentes na classe etária 5-8 anos segundo a sua sensibilização alérgica.

No grupo de indivíduos de classes etárias entre os 9 anos e os 17 anos, os alergénios sensibilizantes mantêm-se. Os ácaros e os grãos de pólen de gramíneas, principalmente o teste de rastreio (gx1- sargasso bravo, panasco, azevém, rabo de gato, caniço e erva de febra) foram os alergénios mais frequentes (Figura 5.14.).

Sensibilizações em idades 9-17 Anos		Total	
Alimentos	fx5 (Leite, clara de ovo, bacalhau, trigo, amendoim, soja)	11	42
	Clara de ovo	2	
	Amendoim	2	
	Morango	1	
	B-lactoglobulina	1	
	Leite vaca	1	
	Trigo	4	
	Gema ovo	1	
	Centeio	13	
	fx2 (atum, bacalhau, camarão, mexilhão, salmão)	4	
fx1 (coco, amêndoa, amendoim, avelã, noz do brasil)	2		
Grãos de pólen	gx1 (panasco, sargasso bravo, azevém, rabo de gato, erva de febra)	64	240
	Aveia	12	
	Trigo	21	
	Cevada	7	
	Panasco	15	
	Gramma	4	
	Erva de Santiago	2	
	Artemísia	1	
	Centeio	1	
	Azevém	18	
	wx1 (erva de santiago, artemísia verdadeira, corrijó, pé de ganso, barrilha espinhosa)	28	
	<i>Parietaria officinalis</i>	3	
	<i>Parietaria judaica</i>	3	
	tx1 (Plátano bastardo, vidoeiro, sobreiro, ulmeiro, nogueira)	25	
	Plátano	1	
Sobreiro	9		
Oliveira	26		
Ácaros	<i>D. pteronyssinus</i>	79	152
	<i>D. farinae</i>	73	
Animais	ex1 (caspa de gato, cavalo, vaca e cão)	17	52
	Caspa gato	20	
	Caspa cão	15	
Fungos	mx1 (<i>Penillium notatum</i> , <i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Alternaria alternata</i>)	10	11
	<i>Alternaria alternata</i>	1	

Figura 5.14. Distribuição dos doentes na classe etária 9-17 anos segundo a sua sensibilização alergénica.

Nos adultos, indivíduos com 18 ou mais anos, os grãos de pólen foram os principais sensibilizadores, especialmente o multi-alergénio das gramíneas gx1- (Figura 5.15.).

		Total
Alimentos	fx5 (Leite, clara de ovo, bacalhau, trigo, amendoim, soja)	4
	Amendoim	4
	Morango	2
	Grão de soja	2
	Leite vaca	1
	Trigo	9
	Laranja	1
	Centeio	7
	fx2 (atum, bacalhau, camarão, mexilhão, salmão)	18
	fx1 (coco, amêndoa, amendoim, avelã, noz do brasil)	4
Grãos de pólen	gx1 (panasco, sargasso bravo, azevém, rabo de gato, erva de febra)	82
	Aveia	8
	Trigo	27
	Cevada	8
	Panasco	5
	Gramma	1
	Erva de Santiago	1
	Centeio	2
	Azevém	5
	wx1 (erva de santiago, artemísia verdadeira, corrijó, pé de ganso, barrilha espinhosa)	50
	Urtiga	1
	<i>Parietaria officinalis</i>	7
	<i>Parietaria judaica</i>	4
	tx1 (Plátano bastardo, videeiro, sobreiro, ulmeiro, noqueira)	34
	Plátano	2
	Sobreiro	6
Oliveira	16	
Ácaros	<i>D. pteronyssinus</i>	93
	<i>D. farinae</i>	82
Animais	ex1 (caspa de gato, cavalo, vaca e cão)	7
	Caspa gato	31
	Caspa cão	23
Fungos	mx1 (<i>Penicillium notatum</i> , <i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Alternaria alternata</i>)	12
		52
		259
		175
		61
		12

Figura 5.15. Distribuição dos doentes na classe etária ≥18 anos segundo a sua sensibilização alérgica.

5.3.4. Análise do consumo de medicação Antialérgica e sua relação com os níveis de pólen e esporos de fungos atmosféricos

A Figura 5.16 representa o número de embalagens vendidas de medicamentos antialérgicos ao longo dos anos de estudo (2012 a 2014) durante a primavera, período do ano em que os níveis polínicos são elevados.

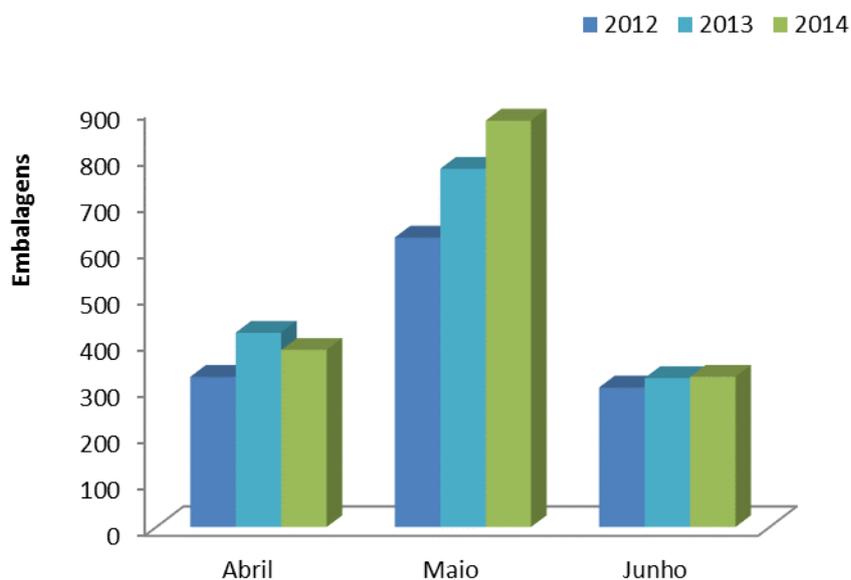


Figura 5.16. Número de embalagens de antialérgicos vendidos durante o período da Primavera nos anos em estudo (2012, 2013 e 2014).

5.3.4.1. Ano de 2012

Durante o ano de 2012 verificou-se um aumento significativo das vendas de antialérgicos durante o mês de maio, coincidente com um aumento dos níveis polínicos (Figura 5.17.).

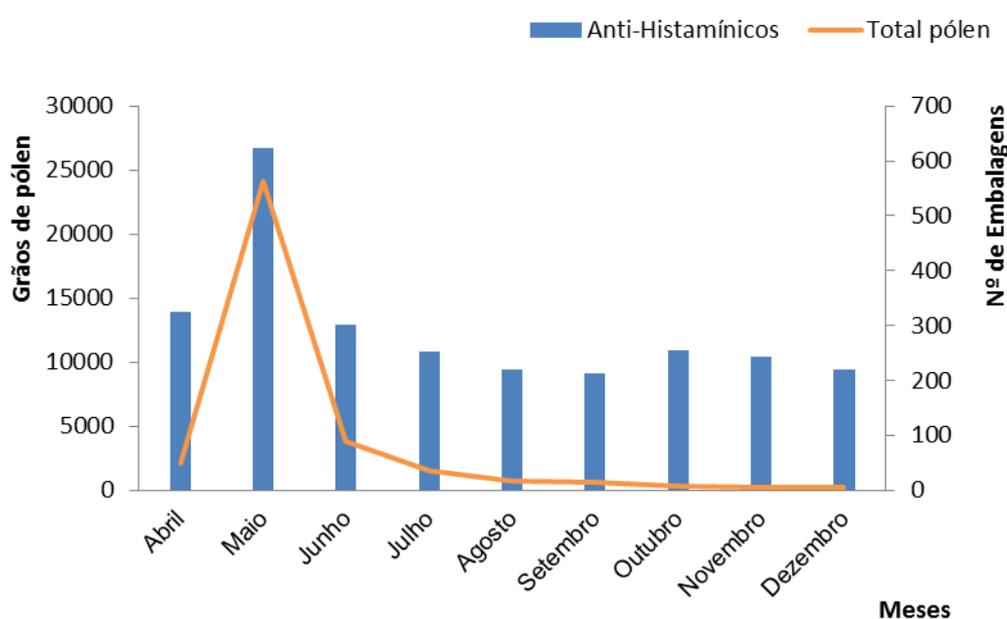


Figura 5.17. Número de embalagens de antialérgicos vendidos e os níveis polínicos durante o ano de 2012.

Ao correlacionar os níveis polínicos mensais com a venda de medicação verificou-se que existia uma correlação positiva estatisticamente significativa entre cada tipo polínico e pelo menos um medicamento. Para alguns tipos polínicos verificou-se a existência de uma correlação com vários medicamentos. Apenas não foi possível estabelecer qualquer tipo de relação com os níveis de pólen de *Platanus*. O total de vendas de antialérgicos, também se correlacionou com a maioria dos tipos polínicos. Em alguns casos a correlação foi na ordem dos 99,9% (Tabela 5.3.).

Tabela 5. 3. Coeficientes de correlação de Ró de *Spearman* (ρ) entre as contagens dos vários tipos polínicos e as vendas de medicação antialérgica no ano 2012.

	Desloratadina	Ebastina	Cloridrato de fexofenadina	Diclororidrato de Levocetirizina	Dicloridrato de Cetirizina	Totais antialérgicos vendidos
<i>Platanus</i>	0,512	0,670	0,676	0,630	0,626	0,709
<i>Urticaceae</i>	0,000	0,812**	0,778*	0,900**	0,639	0,583
<i>Asteraceae</i>	0,117	0,711*	0,854**	0,833**	0,361	0,583
<i>Salix</i>	1,000**	0,800	0,800	0,400	0,800	0,800
<i>Rumex</i>	0,455	0,627	0,777*	0,778*	0,813*	0,719*
<i>Betulaceae</i>	0,943**	0,429	0,486	0,314	0,348	0,771
<i>Amaranthaceae</i>	0,067	0,592	0,689*	0,661	0,376	0,385
<i>Poaceae</i>	0,317	0,678*	0,937***	0,867**	0,529	0,750*
<i>Quercus</i>	0,100	0,711*	0,803**	0,850**	0,655	0,567
<i>Plantago</i>	0,200	0,661	0,921***	0,883**	0,504	0,700*
<i>Pinaceae</i>	0,536	0,786*	0,847*	0,786*	0,739	0,750
<i>Cupressaceae</i>	0,862**	0,235	0,567	0,435	0,426	0,803**
<i>Oleaceae</i>	-0,200	0,569	0,561	0,700*	0,504	0,267
<i>Myrtaceae</i>	0,464	0,523	0,964***	0,964***	0,523	0,857*
Total de pólen	0,250	0,736*	0,904**	0,883**	0,605	0,717*

Níveis de significância: * $0,05 \geq p > 0,01$; ** $0,01 \geq p > 0,001$; *** $p \leq 0,001$

5.3.4.2. Ano de 2013

No ano de 2013, tal como no ano anterior, observou-se um pico acentuado no mês de maio, quer no número de embalagens de medicamentos antialérgicos vendidas, quer nos níveis polínicos (Figura 5.18.).

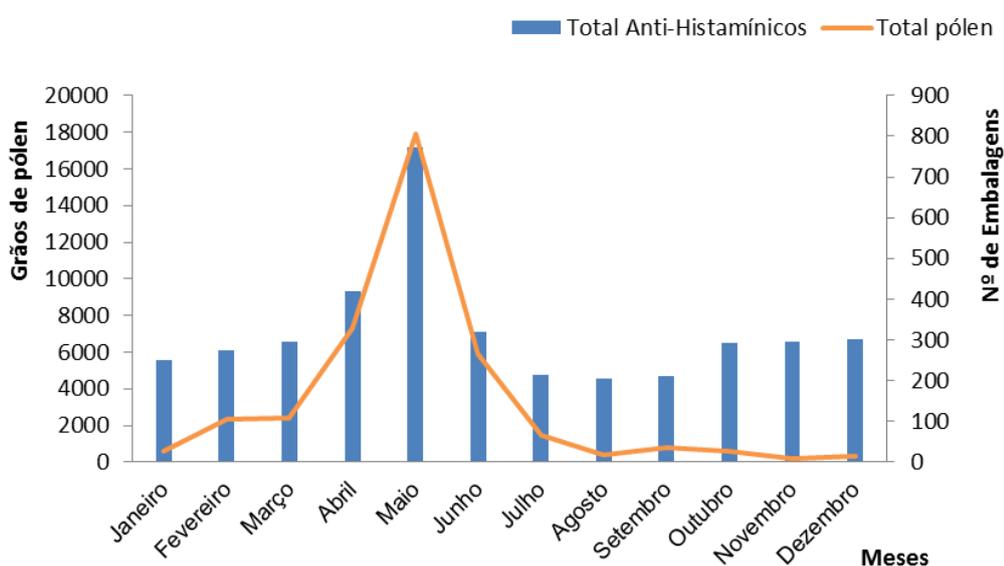


Figura 5.18. Número de embalagens de antialérgicos vendidos e curvas de níveis polínicos durante o período ano de 2013.

Os níveis polínicos mensais de *Platanus*, *Asteraceae*, *Rumex*, *Salix*, *Betulaceae*, *Quercus* e *Urticaceae* apresentaram uma correlação positiva estatisticamente significativa com a venda de medicação durante o ano de 2013. Alguns tipos polínicos apresentaram uma correlação com mais de um medicamento. Não foi possível estabelecer qualquer tipo de correlação com os níveis dos tipos polínicos *Oleaceae*, *Pinaceae*, *Cupressaceae*, *Poaceae*, *Myrtaceae*, *Amaranthaceae* e *Plantago*. O total de pólen também se correlacionou de forma positiva com as vendas dos medicamentos Ebastina e Diclororidrato de Levocetirizina (Tabela 5.4.).

Tabela 5.4. Coeficientes de correlação de Ró de Spearman (ρ) entre as contagens dos vários tipos polínicos e as vendas de medicação antialérgica no ano 2013.

	Desloratadina	Ebastina	Cloridrato de fexofenadina	Diclororidrato de Levocetirizina	Dicloridrato de Cetirizina	Totais antialérgicos vendidos
<i>Platanus</i>	0,490	0,663*	0,684*	0,675*	0,522	0,746**
<i>Asteraceae</i>	-0,256	0,369	0,701*	0,102	0,305	0,133
<i>Salix</i>	0,303	0,561	0,413	0,373	0,817**	0,541
<i>Rumex</i>	0,497	0,544	0,200	0,655*	0,533	0,568
<i>Poaceae</i>	-0,007	0,497	0,515	0,439	0,406	0,308
<i>Betulaceae</i>	0,588*	0,186	0,067	0,576*	-0,081	0,357
<i>Urticaceae</i>	0,413	0,476	0,140	0,691*	0,455	0,462
<i>Amaranthaceae</i>	-0,207	0,040	0,144	0,383	-0,228	-0,144
<i>Plantago</i>	0,203	0,424	0,459	0,523	0,399	0,420
<i>Cupressaceae</i>	0,161	-0,032	-0,471	0,229	-0,088	-0,004
<i>Pinaceae</i>	0,350	0,418	0,346	0,499	0,448	0,480
<i>Myrtaceae</i>	-0,306	0,423	0,534	0,094	0,197	-0,014
<i>Oleaceae</i>	-0,074	0,156	0,525	0,076	0,109	0,175
<i>Quercus</i>	0,399	0,543	0,560	0,344	0,748**	0,678*
Total de pólen	0,336	0,613*	0,452	0,761**	0,441	0,538

Níveis de significância: * $0,05 \geq p > 0,01$; ** $0,01 \geq p > 0,001$; *** $p \leq 0,001$

5.3.4.3. Ano de 2014

Os níveis polínicos e as vendas de antialérgicos mantiveram valores diminutos no início do ano e aumentaram, especialmente, durante o mês de maio. Nos meses seguintes os valores de ambos sofrem uma redução (Figura 5.19.).

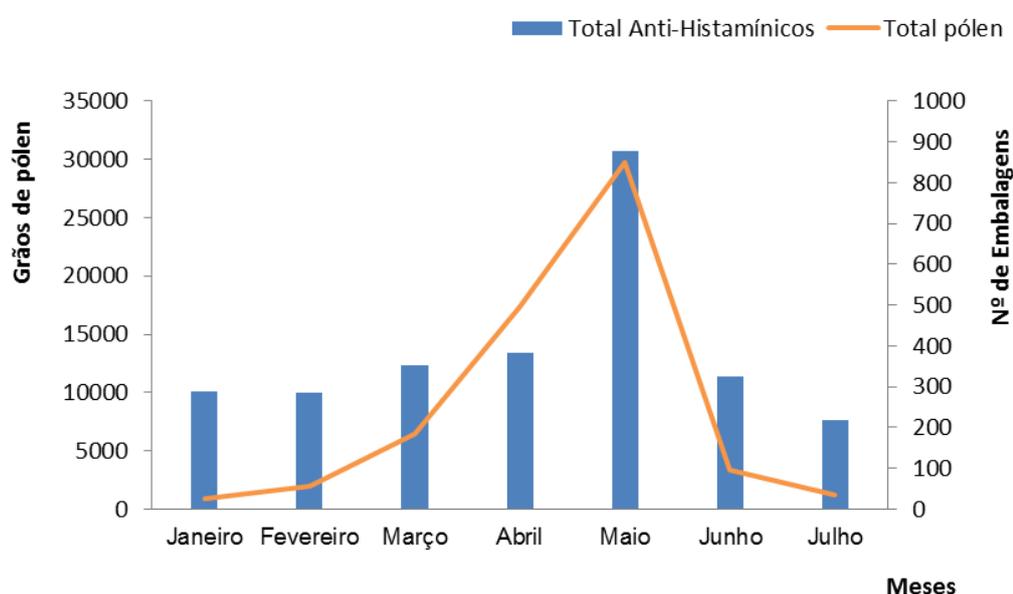


Figura 5.19. Número de embalagens de antialérgicos vendidos e curvas de níveis polínicos durante o período ano de 2014.

Os níveis polínicos mensais de *Asteraceae*, *Rumex*, *Amaranthaceae*, *Plantago*, *Pinaceae*, *Oleaceae*, *Quercus* e *Poaceae* apresentam uma relação positiva estatisticamente significativa com a venda de medicação durante o ano de 2014. Em vários tipos polínicos a relação verifica-se com mais de um medicamento. Não foi possível estabelecer qualquer tipo de relação com os níveis de pólen de *Urticaceae*, *Platanus*, *Betulaceae*, *Cupressaceae*, *Myrtaceae* e *Salix*.

O total de pólen também se relaciona fortemente com as vendas de medicação (Tabela 5.5.).

Tabela 5.5. Coeficientes de correlação de Ró de *Spearman* (ρ) entre as contagens dos vários tipos polínicos e as vendas de medicação antialérgica no ano 2014.

	Desloratadina	Ebastina	Cloridrato de fexofenadina	Diclororidrato de Levocetirizina	Dicloridrato de Cetirizina	Totais antialérgicos vendidos
<i>Urticaceae</i>	0,607	0,464	0,270	0,071	0,321	0,607
<i>Platanus</i>	0,203	0,058	0,088	-0,406	-0,261	0,145
<i>Asteraceae</i>	0,257	0,943**	0,986***	0,543	0,829*	0,600
<i>Rumex</i>	0,571	0,786*	0,757*	0,357	0,607	0,821*
<i>Betulaceae</i>	0,600	-0,429	-0,200	0,086	-0,600	0,143
<i>Amaranthaceae</i>	0,300	0,900*	0,975**	0,900*	0,900*	0,500
<i>Plantago</i>	0,357	0,786*	0,955**	0,607	0,643	0,714
<i>Pinaceae</i>	0,571	0,786*	0,757*	0,357	0,607	0,821*
<i>Cupressaceae</i>	0,321	-0,250	-0,577	-0,357	-0,143	0,036
<i>Oleaceae</i>	0,429	0,893**	0,991***	0,500	0,750	0,786*
<i>Myrtaceae</i>	-0,257	0,429	0,551	0,086	0,143	-0,029
<i>Quercus</i>	0,667	0,703	0,773*	0,487	0,559	0,901**
<i>Poaceae</i>	0,250	0,821*	0,991***	0,536	0,679	0,643
<i>Salix</i>	0,316	0,105	-0,211	-0,949	-0,105	-0,211
Total de pólen	0,714	0,893**	0,739	0,429	0,786*	0,893**

Níveis de significância: * $0,05 \geq p > 0,01$; ** $0,01 \geq p > 0,001$; *** $p \leq 0,001$

5.3.4.4. Efeitos dos níveis de esporos fúngicos na venda de medicação antialérgica

A sensibilização a esporos de fúngicos foi muito baixa, tal como o número de solicitações destes testes.

Graficamente é difícil perceber se existiu uma relação entre os níveis atmosféricos (Figura 5.20., Figura 5.21. e Figura 5.22.) e a venda de antialérgicos apesar de estatisticamente ser significativa (Anexo IV). O valor máximo quer de vendas de antialérgicos quer de esporos de fungos registou-se no mês de maio. No mês de outubro, observou-se um segundo pico das vendas, bastante mais reduzido que o primeiro pico, que coincidiu com o segundo pico mais elevado de esporos de fungos na atmosfera.

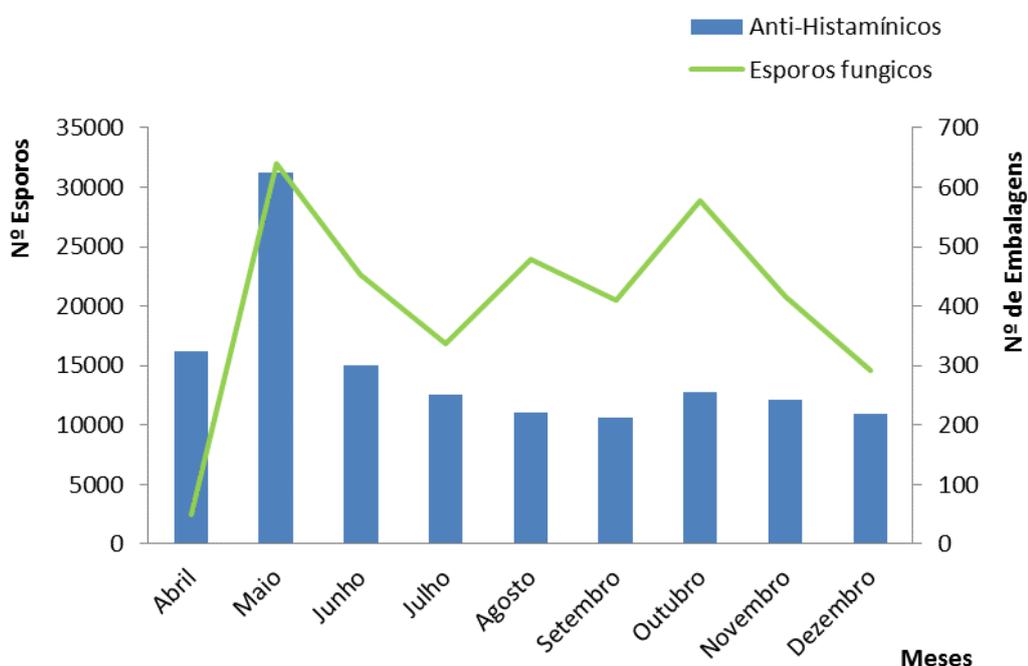


Figura 5.20. Número de embalagens de antialérgicos vendidos e os níveis fúngicos durante o ano de 2012.

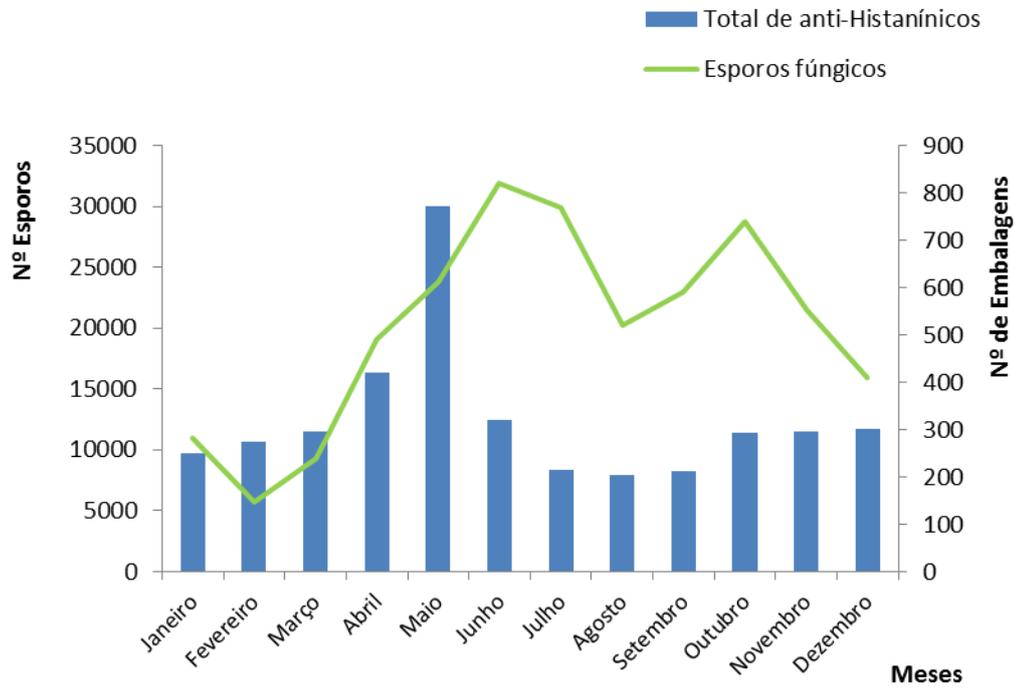


Figura 5.21. Número de embalagens de antialérgicos vendidos e os níveis fúngicos durante o ano de 2013.

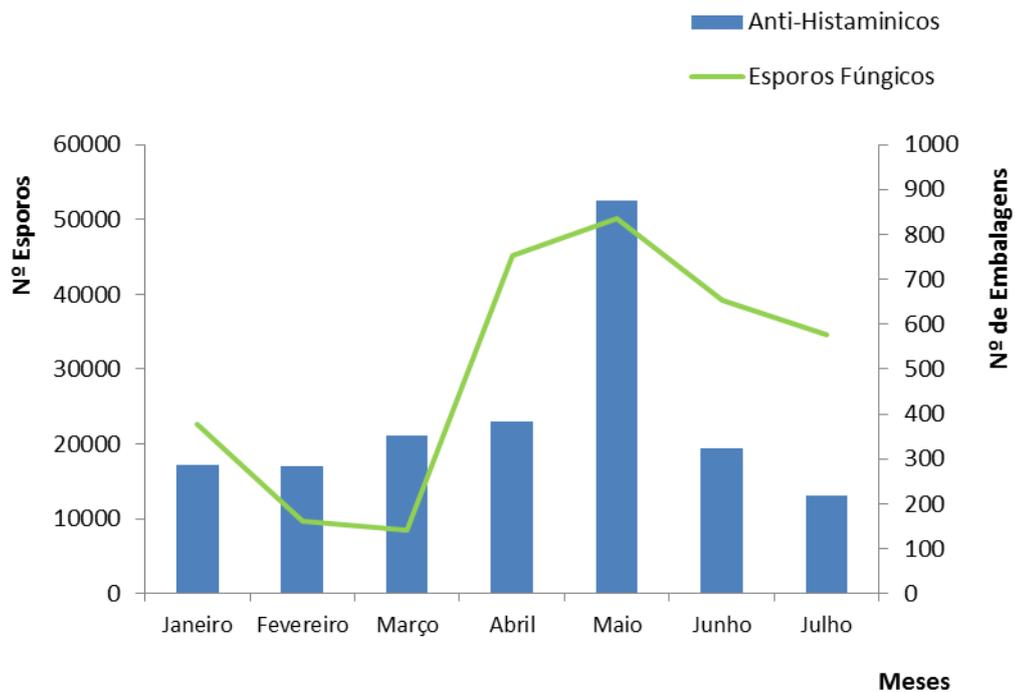


Figura 5.22. Número de embalagens de antialérgicos vendidos e os níveis fúngicos durante o ano de 2014.

5.3.5. Efeitos dos aeroalergénios na saúde da população - Necessidade de recorrer ao Serviço de Urgência Hospitalar

Os doentes com alergia recorreram ao serviço de urgência durante todo o ano. Porém, foi nos meses de fevereiro, março e, principalmente, no mês de maio que a afluência foi maior. Apesar disto não foi possível estabelecer uma relação com significado estatístico entre os níveis polínicos e os níveis fúngicos de *Alternaria* e *Cladosporium* e o acesso ao Serviço de Emergência Médica (Anexo VI).

5.4. Discussão

A doença alérgica é um grave e atual problema de Saúde Pública, tendo-se verificado um aumento da sua prevalência, nos últimos anos nos países industrializados e desenvolvidos (Bartra, *et al.*, 2007). A incidência na população é preocupante, é de 30%, e em crianças, é ainda mais preocupante, é de 54,2% (Vasconcelos, *et al.*, 2011). Em Portugal a incidência nas diversas áreas geográficas é muito díspar. As divergências de prevalência da doença alérgica entre cidades podem ser explicadas pela tipologia climática, níveis de poluição e contacto com alergénios. Os estudos aerobiológicos e alergológicos são por isso uma ajuda preciosa para perceber e combater este problema (Pegas, *et al.*, 2011).

Neste trabalho analisaram-se os resultados obtidos no Serviço de Patologia Clínica do Hospital José Joaquim Fernandes durante os últimos cinco anos (2010 a 2015). Estudaram-se no total 2477 indivíduos que apresentaram sintomatologia sugestiva de doença alérgica, o que corresponde a 11% da população da cidade de Beja. Não se fez qualquer distinção quanto ao tipo de sintomas, foram considerados problemas gastrointestinais, respiratórios ou cutâneos e os testes realizados foram os considerados clinicamente relevantes para o médico assistente. A maioria dos doentes eram polisensibilizados, tal como o descrito na bibliografia. Este é um dos grandes problemas do diagnóstico e tratamento das doenças alérgicas (Todo-Bom, *et al.*, 2012).

Foram considerados como doentes comprovadamente alérgicos aqueles que apresentavam valores de IgE total superior a 120 KU/l e/ou pelo menos uma IgE específica com valores superiores a 0.7 KUA/l. A bibliografia considera valores superiores a 0.35 KUA/l como positivos (Wickman, 2005), no entanto para eliminar pequenas interferências, apenas valores iguais ou superiores à classe 2 (valores entre 0.7 e 3.5 KUA/l) foram considerados (Daher, *et al.*, 2009). Dos pacientes com suspeita de sintomatologia alérgica, 867 doentes, que representam 35% da população estudada foram confirmados como tendo doença alérgica mediada por IgE. Não significa que os restantes não sejam alérgicos, apenas não

foi possível prová-lo. Alguns doentes podem apresentar doença alérgica medida por outros anticorpos, como por exemplo IgG, embora sejam bastante mais raros.

A distribuição entre o género feminino e masculino foi muito semelhante, contudo observou-se uma ligeira predominância dos indivíduos do sexo masculino (52%) na amostra analisada. Na bibliografia, em particular, na mais antiga verifica-se um predomínio de doentes do sexo masculino (Pegas, *et al.*, 2011). Neste estudo, a maior parte dos doentes eram adultos, com mais de 18 anos (59%) e a média de idades foi de 31 anos, variando entre 2 semanas e os 90 anos. A doença alérgica inicia-se frequentemente em idades jovens, e pode mantêm-se durante toda a vida, razão pela qual foi estudada em todas as faixas etária. A bibliografia recente apresenta valores relevantes e incapacitantes em idosos contrariando alguns estudos anteriores (Todo-Bom, *et al.*, 2012).

Em termos de sensibilização aos vários alergénios testados observaram-se diferenças entre os vários grupos de classes etárias. As crianças com idades inferiores a 4 anos apresentaram uma maior sensibilização a alergénios alimentares, especialmente às proteínas do leite de vaca e ao ovo. Segundo Todo-Bom, *et al.*, (2013), aproximadamente 3 a 6% das crianças na primeira infância são sensibilizadas a leite de vaca que são as primeiras proteínas estranhas a ser introduzidas na dieta dos latentes. Pegas, *et al.*, (2011) provou a existência de uma relação entre o consumo frequente de ovos e o aumento de risco de sintomatologia respiratória entre as crianças em idade escolar. Também Wickman, (2005) relaciona a sensibilização positiva a phadiatop (multi-alergénio respiratório) e a um multi- alimentar infantil (fx5) como factor de risco para o desenvolvimento de asma e rinite alérgica na idade adulta. A amamentação confere alguma proteção a bebés que não se verifica na alimentação convencional com leite de vaca. O leite é o alimento mais implicado como causa de anafilaxia, em crianças com menos de 2 anos (Gaspar, *et al.*, 2014). A introdução de uma dieta mais variada reflete-se nas sensibilizações aos alergénios do ovo, farinhas, frutos secos, peixes e mariscos, frequentes também nos adultos.

Nos restantes grupos etários e, em particular, na população adulta, a sensibilização foi maioritariamente a aeroalergénios. Os alergénios dos pólenes

de gramíneas, oliveira e ervas infestantes, dos ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus* (d1) e *Dermatophagoides farinae* (d2), seguidos dos alergénios característicos de interior, tal como as caspas de animais domésticos apresentaram valores positivos em muitos doentes. Belver, *et al.*, (2007) descreve os grãos de pólen como a principal causa de polinose no Sul da Europa. Na região do Alentejo os elevados níveis de grãos de pólen de gramíneas e de oliveira poderão justificar estes resultados. A sensibilização a aeroalergénios, está relacionada, entre outros fatores, com o estilo de vida atual (estilo de vida dos países industrializados), mais confinado a espaços fechados e com a convivência com animais domésticos (Bartra, *et al.*, 2007; Horner, 2010).

Os valores de sensibilização a esporos fúngicos obtidos foram baixos, ao contrário do descrito na bibliografia, especialmente para esporos de *Alternaria* (Kim, *et al.*, 2010). Tal poderá estar relacionado com o baixo número de solicitações destes testes e não com uma verdadeira diminuição dos valores de sensibilização (Mahesh, *et al.*, 2010).

Os níveis de grãos de pólen presentes no ar são frequentemente associados a sintomas alérgicos respiratórios na bibliografia. Apesar disto não foi possível estabelecer uma relação com significado estatístico significativo entre os níveis polínicos e fúngicos e a necessidade de recorrer ao Serviço de Urgência Hospitalar. Esta pesquisa teve por base o diagnóstico de entrada na área da triagem, apenas asma e rinite anteriormente diagnosticada foram tidas em consideração. A maioria dos doentes é medicada pelo médico de família ou Imunoalergologista e consegue manter a doença estável em ambulatório. Apenas casos mais graves recorrem ao serviço de urgência, daí a impossibilidade de relacionar com os níveis atmosféricos de pólen e esporos fúngicos.

Deste modo, procedeu-se à análise das vendas de medicação antialérgica, análise indireta de sintomatologia. Foi possível estabelecer relações positivas com significado estatístico entre as vendas de medicamentos antialérgicos e a grande maioria dos tipos polínicos nos 3 anos analisados. Também os índices polínicos mensais se relacionam com pelo menos um tipo de medicação. Provou-se desta forma que realmente os grãos de pólen são uma causa importante de doença alérgica na região. Analisou-se também o efeito que os esporos fúngicos

atmosféricos poderiam exercer na venda de antialérgicos. Neste caso, as conclusões não foram muito claras. Apesar de estatisticamente os resultados serem significativos para ambos os tipos fúngicos, quase não foram descritos doentes sensibilizados nos últimos cinco anos. Também o número de suspeitas de sensibilizações por fungos foi muito reduzido e refletiu-se na baixa de solicitações destas análises, o subdiagnóstico da alergia causada por fungos, em particular por *Cladosporium* e *Alternaria*. As vendas de antialérgicos apresentam máximos na primavera, que coincidem com os máximos de esporos fúngicos mas também com os picos polínicos. Oliveira e seu colaboradores (2007) relacionam esta coincidência de níveis elevados de grãos de pólen e esporos fungicos com as condições meteorológicas coincidentes favorais ao desenvolvimento de ambos. Detetou-se um segundo máximo, mais reduzido, em outubro de ambas as variáveis. O desenvolvimento da vegetação na primavera e também a elevada matéria morta característica do outono fornecem ótimo substrato ao desenvolvimento de fungos, pelo que é possível que desempenhem um papel codjuvante no desenvolvimento ou agravamento de sintomatologia alérgica. A Organização Mundial de Saúde, no ano de 2000, reconheceu que o contato com esporos de fungos pode provocar problemas graves de saúde e ser um fator de risco e mau prognóstico em doentes com outras patologias pulmonares tais como asma, DPOC e carcinomas. Vários autores encontraram relações entre estas doenças e a sensibilização a *Alternaria*. Em Espanha, 6% dos doentes com rinoconjuntivite eram sensibilizados e pensa-se que 8,5% da asma neste país é induzida por contato com esporos fúngicos. Em Portugal, esta realidade também se observa em 3% dos casos (Santos, *et al.*, 2009; Aira M. , *et al.*, 2013). Apesar de não ser possível, neste estudo, concluir que os níveis de esporos fúngicos induziram a sintomatologia nos doentes alérgicos e/ou sensibilizados, estes poderão ter contribuído para o agravamento da patologia, tal como sugerido também por outros autores (Oliveira, *et al.*, 2005; Oliveira, *et al.*, 2007) e como os resultados da análise indirecta, vendas de antialérgicos e níveis esporos de fungos, deste estudo sugerem.

5.5. Conclusão

A doença alérgica é um grave problema de saúde pública que tem vindo a aumentar nos últimos anos. É provocada por variadíssimos alergénios e atinge toda a população especialmente crianças, que são afetadas desde muito cedo.

Neste trabalho analisou-se a população alérgica de Beja nos últimos cinco anos e conclui-se que a maioria dos doentes são adultos e polisensibilizados. Os grãos de pólen, ácaros, alergénios alimentares e alergénios “*indoor*” são os responsáveis pela maioria das sensibilizações.

A sintomatologia é incapacitante a todos os níveis e reflete-se na vida laboral, económica e social dos doentes. Neste estudo, demonstrou-se, de uma forma indireta, que existe uma clara relação entre os níveis elevados de grãos de pólen e a sintomatologia dos doentes. Níveis elevados de pólen exercem um efeito negativo na saúde dos pacientes.

Neste estudo, não foi possível concluir que os níveis de esporos fúngicos induziram a sintomatologia nos doentes alérgicos e/ou sensibilizados, mas os resultados encontrados sugerem que tal possa ter ocorrido. Recomenda-se uma maior procura clínica para a realização destes testes de diagnóstico. Atualmente, e apesar da alergenicidade dos fungos estar provada, a sua importância na doença alérgica é ainda subestimada (Santos, *et al.*, 2009; Damialis, *et al.*, 2015), e por conseguinte, subdiagnosticada e subtratada, tal como este estudo demonstra.

5.6. Bibliografia

- ABBAS, A. K., LICHTMAN, A. H., & PILLAI, S. (2012). *Imunologia Celular e Moleclar*. Elsevier.
- AIRA, M., RODRÍGUEZ-RAJO, F., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M., SEIJO, C., ELVIRA-RENDUELES, B., ABREU, I., ET AL., (2013). Spatial and temporal distribution of *Alternaria* spores in the Iberian Peninsula atmosphere, and meteorological relationships: 1993-2009. *Int J Biometeorol*; 57: 265-274.
- AROSA, F., CARDOSO, E. P., & PACHECO, F. C. (2007). *Fundamentos de Imunologia*. Lisboa: Lidel.
- BARTRA, J., MULLOL, J., CUVILLO, A., DÁVILA, I., FERRER, M., JÁUREGUI, I., ET AL., (2007). Air pollution and allergens. *J Investigl Allergol Clin Immunol*; 17(2): 3-8.
- BELVER, M., CABALLERO, M., CONTRERAS, J., CABAÑAS, R., SIERRA, E., MADERO, R., & SERRANO, M. L. (2007). Associations Among Pollen Sensitizations From Different Botanical Species in Patients Living in the Northern Area of Madrid. *J Investig Allergol Clin Immunol*; 17(3): 157-159.
- BOUSQUET, J., & MICHEL, F. (1995). *As alergias*. Lisboa.
- CARDOSO, L. (2011). *Estandarização do Estudo da Atopia no Serviço de Patologia Clínica do Hospital Dr. Nélio Mendonça*. Funchal, Portugal: Dissertação de Mestrado em Bioquímica Aplicada.
- CECCHI, L., D'AMATO, G., AYRES, J., GALAN, C., FORASTIERE, F., FORSBERG, B., ET AL., (2010). Projections of the effects of climate change on allergic asthma: the contribution of aerobiology. *Allergy*; 65(9): 1073-1081.
- CHENG-YAO, L., YUAN, Z., DE-MIN, H., & LOU, Z. (2010). Evaluation of serum specific IgE for the diagnosis of allergic rhinitis with multi-allergens. *Chin Med J*; 123(20): 2836-2841.

- CORREA, J. M., & ZULIANI, A. (2001). Imunidade relacionada à resposta alérgica no início da vida. *Journal de Pediatria*; 77(6): 441-446.
- DAHER, S., GALVÃO, C., ABE, A., & COCCO, R. (2009). Diagnóstico em Doenças Alérgicas Mediadas por IgE. *Rev Bras Alerg Immunopatol*; 33(1): 32, 3-8.
- DAMIALIS, A., HALLEY, J., GIOULEKAS, D., & VOKOU, D. (2007). Long-term trends in atmospheric pollen levels in the city of Thessaloniki, Greece. *Atmospheric Environment*; 41: 7011-7021.
- DAMIALIS, A., VOKOU, D., GIOULEKAS, D., & HALLEY, J. M. (2015). Long-term trends in airborne fungal-spore concentrations: a comparison with pollen. *Fungal Ecology*; 13: 150-156.
- DIAMANTINO, C., CAEIRO, E., MARTINS, L., ALMEIDA, F., & LOPES, M. L. (2006). Sensibilização aos pólenes em crianças com idade inferior a 8 anos. *Rev Port Imunoalergologia*; 14(3): 245-249.
- EPSTEIN, P. (2012). Climate Change and Human Health. *N Engl J Med*; 353(14): 1433-1436.
- FERREIRA, M. (2011). *Aspectos Básicos Clínicos das Alergias*. Lisboa: Publicações Ciência e Vida.
- FITZGERALD, J., BATEMAN, E., BAULET, L., CRUZ, A., HAAHTELA, T., LEVY, M., ET AL., (2015). Global strategy for asthma management and prevention (update 2015).
- GASPAR, A., SANTOS, N., PIEDADE, S., SANTA-MARTA, C., PIRES, G., SAMPAIO, G., ET AL., (2014). Registo anual de anafilaxia em idade pediátrica num centro de Imunoalergologia. *Rev Port Imunoalergologia*; 22(1): 43-54.
- HORNER, A. (2010). Regulation of Aeroallergen Immunity by the Innate System: Laboratory Evidence for a New Paradigm. *J Innate Immun*; 2(2):107-113.
- INÁCIO, F. (1998). Atopy and Immunogenetics. Pollinosis. The Genetic Basis of IgE Response. *Rev Port Imunoalergologia*; 6(2): 91-93.

- JOHASSON, S., HOURIHANE, J., BOUSQUET, J., BRUIJNZEEL- KOOMEN, C., DREBORG, S., HAAHTET, T., *Et al.*, (2001). A revised nomenclature for allergy - An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*; 56(9): 813-824.
- KIM, B., JIN, H., KIN, H., LEE, S., KIN, J., KWON, J., *Et al.*, (2010). Airway Hyperresponsiveness Is Associated With Total Serum Immunoglobulin E and Sensitization to Aeroallergens in Korean Adolescents. *Pediatric Pulmonology*; 45: 1220-1227.
- KINDT, T., GOLDSBY, R., & OSBORNE, B. (2008). *Imunologia de Kuby*. São Paulo: Artmed .
- KOSTER, E. S., ZEE, A. M., VIJVERBERG, J. H., VAN DER ENT, C. K., & RAAIJMAKERS, J. A. (2010). Pharmacogenetics of Anti-Inflammatory Therapy in Asthma: Corticosteroids and Leukotriene Antagonists. *Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*; 267-275.
- MAHESH, P., KUMMELING, I., AMRUTHA, D., & VEDANTHAN, P. K. (2010). Effect of residence on patterns of aeroallergen sensitization in atopic patients. *American Journal of Rhinology & Allergy*; 24(5): e98-e103.
- MATYASOVSKY, I., MAKRA, L., & CSÉPE, Z. (2012). Associations between weather conditions and ragweed pollen variations in Szeged, Hungary. *Arh Hig Rada Toksikol*; 63: 311-320.
- NUNES, C., & LADEIRA, S. (2012). Avaliação do benefício a longo prazo da imunoterapia específica na rinoconjuntivite polínica. *Rev Port Imunoalergologia*; 20(4): 253-261.
- OLIVEIRA, M., RIBEIRO, H., & ABREU, I. (2005). Annual variation of fungal spores in a atmosphere of Porto: 2003. *Ann Agric Environ Med*; 12(2): 309-315.
- OLIVEIRA, M., ABREU, I., RIBEIRO, H., & DELGADO, L. (2007). Esporos fúngicos na atmosfera da cidade do Porto e suas implicações alérgicas. *Rev Port Imunoalergologia*; 15(1): 61-85.

- PEGAS, P., ALVES, C., SCOTT, M., EVTYUGINA, M., PIO, C., & FREITAS, M. (2011). Factores de risco e prevalência de asma e rinite em crianças em idade escolar em Lisboa. *Rev Port Pneumo*; 17(3): 109-116.
- PINTO, A., & TODO-BOM, A. (2004). FLora Microbiana, Sistema Imunitário e Atopia. *Rev Port Imunoalergologia*; 12:199-208.
- RODRIGUES, C., SANTIS, M., & ARROBAS, A. (2009). Rinite alérgica e doenças associadas. *Rev Port Pneumol*; 15(5): 891-898.
- SALES, A. (2010). *Controlo da Asma em Pacientes Acompanhados nos Cuidados de Saúde Primários- Estudo Transversal no Distrito de Bragança*. Santiago de Compostela: Dissertação de Doutoramento de Investigação Aplicada em Medicina Preventiva, Saúde Pública e Cirurgia da Universidade de Santiago de Compostela.
- SANTOS, A., CARRAPATOSO, I., RODRIGUES, F., GERALDES, L., LOUREIRO, C., & CHIEIRA, C. (2009). Padrão clínico e laboratorial de sensibilização a fungos. *Rev Port Imunoalergologia*; 17(3): 225-241.
- SCIENTIFIC.INC, T. F. (2013). *DECODing*. Uppsala.
- TODO-BOM, A., LOUREIRO, C., RODRIGUES, V., BURNEY, P., & PINTO, A. M. (2012). Epidemiologia da asma e rinossinusite no Centro de Portugal. Contributo da Alergia. *Rev Port Imunoalergologia*; 20(3): 193-200.
- TODO-BOM, A., CARRAPATOSO, I., LOUREIRO, C., & PINTO, A. M. (2013). *Alergia Alimentar*. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra.
- VASCONCELOS, A., ROSA, G., MASSA, P., & PINTO, J. (2011). Prevalência de fatores associados a doenças alérgicas em crianças e adolescentes com relação à Hipótese da Higiene. *Rev Bras Alerg Immunopatol* 34(2): 49-54.
- VIANA, J., GOMES, R., LOUREIRO, C., & TODO-BOM, A. (2014). Peak nasal inspiratory flow e testes de odores na rinite. *Rev Port Imunoalergologia*; 22(4): 267-277.
- WICKMAN. (2005). When allergies complicate allergies. *Allergy*; 60(79): 14-18.

Capítulo VI

Sensibilização a aeroalergénios

moleculares de pólen de

gramíneas e de fungos na

população de Beja



Figura 6.1. Fotografia das culturas tradicionais da região de Beja.

6.1. Introdução

6.1.1. Alergénios moleculares

A crescente prevalência da doença alérgica nos países desenvolvidos torna-a um grave problema de saúde pública e acentua a necessidade de otimizar o diagnóstico e consequentemente tornar o tratamento mais eficaz. A descoberta da Imunoglobulina E (IgE) e a sua relação com a resposta alérgica tornou-a na base do diagnóstico das situações de hipersensibilidade do tipo I da classificação de Gell e Combs. Assenta na utilização de extratos obtidos de fontes naturais alergénicas constituídas por misturas: alergénios principais e secundários, componentes biológicas inativas, tais como outras proteínas, glicoproteínas e hidratos de carbono. Esta constituição complexa dificulta a determinação exata da composição, da quantidade de alergénio presente, e também a standardização, apresenta ainda possibilidade de contaminação de extratos e resultados falsos positivos. Assim, o diagnóstico baseado neste método convencional identifica apenas a fonte não revelando quais as moléculas alergénicas responsáveis pela sensibilização/reacção. Não discrimina entre doentes polisensibilizados com fontes alergénicas relacionadas por reatividade cruzada, por exemplo, em doentes alérgicos a grãos de pólen frequentemente sensibilizados por diversas fontes (Santos, *et al.*, 2014; Pavão, 2015).

A existência de reatividade cruzada entre alergénios é reconhecida desde 1970 (Rosa, *et al.*, 2006). Nos últimos anos com os avanços tecnológicos de biologia molecular, clonagem e sequenciação é possível obter moléculas alergénicas perfeitamente caracterizadas, purificadas e fáceis de standardizar que possibilitam o diagnóstico baseado em componentes moleculares (Ferreira & Barbosa, 2015). Os epitopos de péptidos em proteínas nativas podem ser muito variáveis dependendo das sequências e conformações estruturais das moléculas. A reatividade cruzada entre proteínas não relacionadas ou similares de espécies relacionadas mas filogeneticamente muito afastadas é pouco provável (Hed, J., 2010). Um alergénio recombinante é uma molécula produzida por técnicas biotecnológicas que permitem a identificação e posterior reprodução de proteínas

específicas a partir de um extrato alergénico. Além disso, apresentam facilidade em ligar-se às IgE e boa reprodutividade em testes de diagnóstico “*in vitro*” e “*in vivo*” (Pavão, 2015). A alergologia molecular mede a sensibilização aos componentes individuais dos alergénios, o que oferece um quadro detalhado do perfil dos anticorpos IgE específicos em moléculas de um alergénio único e puro. Desta forma é possível avaliar o risco da alergia e explicar sintomas devidos à reatividade cruzada (Figura 6.2.) (Thermo Fisher Scientific, 2016).

O perfil molecular na alergia respiratória é importante em quatro principais vertentes:

- 1- Caracterização do perfil de risco do doente;
- 2- Determinação da sensibilização primária;
- 3- Contribui para a seleção de candidatos à imunoterapia com alergénios;
- 4- Otimização da composição da Imunoterapia (Thermo Fisher Scientific, 2014).

Um alergénio principal ou “*major*” é responsável por 50% ou mais de sensibilização de uma determinada fonte. Pelo contrário, um alergénio secundário ou “*minor*” é menos prevalente a desencadear resposta alérgica e encontra-se frequentemente associado a reatividade cruzada devido à homologia entre as estruturas (Thermo Fisher Scientific Inc., 2014). Grande número de doentes com doença alérgica respiratória são polisensibilizados, os valores variam entre 27,5% a 73,5%, dependendo dos alergénios envolvidos (Santos, *et al.*, 2014).

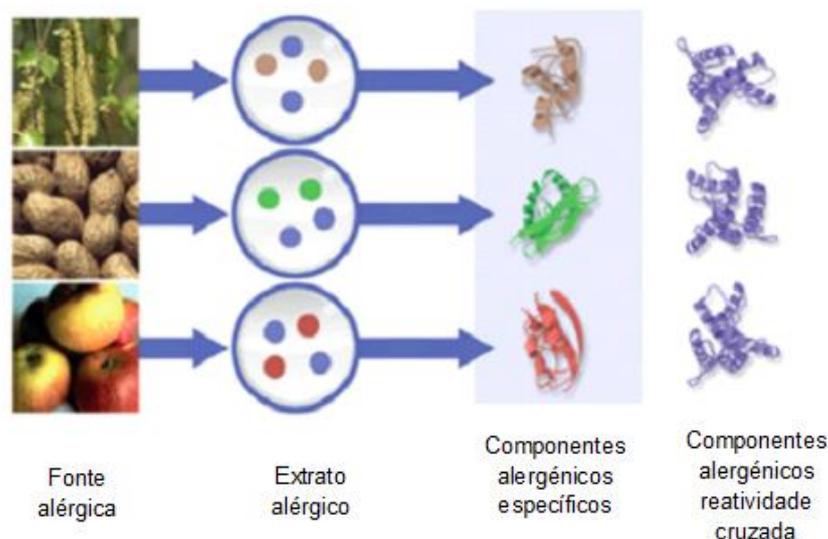


Figura 6.2. Figura representativa dos diferentes componentes alérgicos. Modificado e adaptado de Thermo Fisher Scientific (2016).

6.1.1.1. Principais constituintes moleculares

Os componentes de alergénios, com base na semelhança estrutural, são agrupados em diferentes famílias. Dependendo das suas propriedades, a sensibilização aos componentes individuais leva a diferentes consequências para o doente. As características naturais do alergénio, como por exemplo as propriedades bioquímicas, estabilidade e resistência à temperatura e digestão são fundamentais para a resposta à exposição (Arruda, *et al.*, 2013). Estão descritas, várias síndromes de alergias alimentares, por exemplo entre pólen /frutos e vegetais, relacionados com sensibilização múltipla entre alergénios de diferentes famílias. A gravidade e o risco associado depende das moléculas implicadas (Figura 6.3.) (Ferreira & Barbosa, 2015):

- Proteínas de armazenamento – Representam risco elevado, são capazes de provocar reações sistémicas, sendo resistentes ao calor e digestão. No entanto, não é frequente serem encontradas em reações cruzadas. Estão presentes em leguminosas e frutos de casca rígida como a soja e o amendoim.

- Proteínas de transferência lipídica (ns-LTPs) – São resistentes ao calor e digestão e representam risco elevado. Estão descritas como alergénios de reatividade cruzada entre frutos, vegetais, latex e grãos de pólen.

- Proteínas homólogas de Bet v1 (PR-10) – Representam risco sistémico moderado. São sensíveis ao calor e digestão e normalmente estão associados a síndromes de alergia oral, apesar de em alguns casos provocarem reações graves. Originam reações cruzadas em vegetais e grãos de pólen, nomeadamente de Bétula.

- Profilinas – São alergénios comuns em reações cruzadas, mas não provocam habitualmente sintomas significativos. Estão descritos como responsáveis por sintomatologia ligeira associados a citrinos, banana e tomate, e alguns casos mais graves relacionados com melão e líchia. Os grãos de pólen e latex apresentam estruturas similares (Thermo Fisher Scientific, 2014).

- Polcalcina – São alergénios encontrados em arbustos, árvores e grãos de pólen de gramíneas. Não se encontram em alimentos. Estão frequentemente descritos em reações cruzadas entre polenes (Arruda, Moreno, & Ferreira, 2013).

- Determinantes dos carboidratos (CCDs) – São alergénios comuns em grãos de pólen, vegetais e venenos mas não costumam originar sintomas alérgicos graves. São frequentemente associados a reatividade cruzada (Thermo Fisher Scientific, 2014).

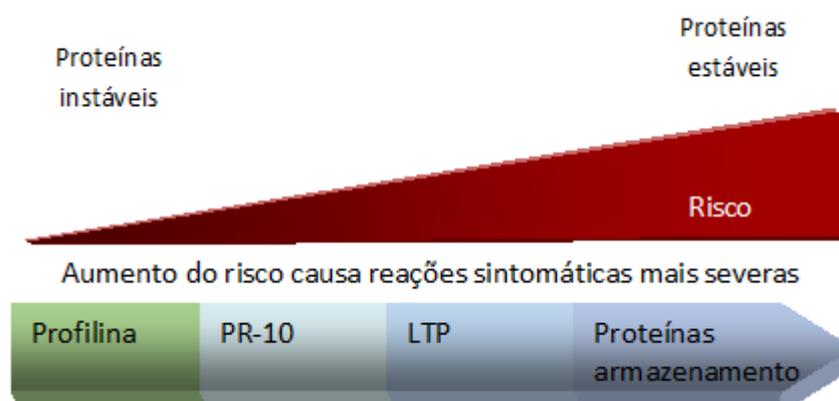


Figura 6.3. Ilustração do nível de risco alérgico em diferentes famílias de alergénios. Modificado e adaptado de Thermo Fisher Scientific (2014).

Estão descritas outras famílias como a Tropomiosina, Lipocalina, Parvalbumina e Albumina sérica. A Tropomiosina é frequente nos crustáceos, ácaros e barata. A Lipocalina está muito relacionada com os animais. A Parvalbumina, por sua vez, é um marcador importante nos peixes e anfíbios. A Albumina sérica pode encontrar-se no leite, carne de vaca, ovos e galinha e também como marcador de reatividade cruzada entre diferentes espécies de animais. Apesar de importantes, não costumam ser associados a reações alérgicas provocadas por grãos de pólen e esporos de fungos, principal área de estudo deste estudo, razão pela qual não serão analisadas em pormenor (Arruda, *et al.*, 2013).

6.1.1.2. Alergénios do pólen de gramíneas

As gramíneas em termos taxonómicos são uma família de plantas angiospérmicas amplamente distribuídas por áreas geográficas com clima ameno. O pólen de gramíneas é a principal causa de grande parte das patologias alérgicas respiratórias (Barber, 2003). Em Portugal, os tipos polínicos mais implicados na alergia respiratória são gramíneas, oliveira e parietária. A sensibilização aos grãos de pólen tem vindo a aumentar muito devido a sensibilizações provocadas pela profilina e polcalcina, pelo que o conhecimento dos alergénios envolvidos pode ser um contributo no conhecimento e tratamento da patologia (Santos, *et al.*, 2014). Atualmente são conhecidos 12 grupos de alergénios da família das gramíneas. O *Phleum pratense* (rabo de gato, nome comum) é um alergénio bastante estudado e os seus marcadores são comuns há maioria das espécies desta família:

Phl p1- É um alergénio do grupo 1 das gramíneas. Os alergénios deste grupo são glicoproteínas com peso molecular entre 27 e 35 kDa. É um marcador específico do *Phleum pratense* e também de outras gramíneas. Aproximadamente 90% dos doentes sensibilizados as gramíneas apresentam positividade para este alergénio, é por isso um alergénio “major” (Barber, 2003; Cases, *et al.*, 2014; Thermo Fisher Scientific, 2016).

Phl p2- Pertence ao grupo 2 das gramíneas. Tal como o anterior, é um alérgénio específico mas a prevalência de sensibilização é bastante menor. É um alérgénio “*minor*”.

Phl p4- É um alérgénio do grupo 4 das gramíneas. É um marcador específico do *Phleum pratense* e também de outras gramíneas. É um alérgénio “*major*” e apresenta positividade em 80% dos doentes alérgicos a pólen. Na sua constituição tem determinantes dos carboidratos (CCD).

Phl p5 - É um alérgénio do grupo 5 das gramíneas. Os alérgénios do grupo 5 apresentam actividade RNase e pensa-se que estão relacionados com funções de defesa. Este grupo apresenta isoformas; Phl p5a e o Phl p5b com pesos moleculares de 31 e 28 kDa respectivamente. São marcadores específicos do *Phleum pratense* e de outras gramíneas. Aproximadamente 65-85 % dos doentes sensibilizados a gramíneas apresentam positividade para estes alérgénio, é por isso que são alérgénios “*major*”. A prevalencia de sensibilização é semelhante entre as duas isoformas (Barber, 2003; Cases, *et al.*, 2014; Thermo Fisher Scientific, 2016).

Phl p6- É um alérgénio do grupo 6 das gramíneas associado a proteínas que ligam iões de cálcio (Cases, *et al.*, 2014). É sequencialmente muito semelhante com Phl 5 e por isso apresentam reactividade cruzada entre eles. É um alérgénio “*major*” do *Phleum pratense* mas encontra-se num número reduzido de espécies de gramíneas, por isso não é considerado um verdadeiro marcador desta família. Há poucos casos descritos de positividade exclusiva a este marcador.

Phl p7- É uma Polcalcina. Alérgénio de reactividade cruzada presente no pólen de gramíneas, árvores e ervas daninhas. É um alérgénio “*minor*” responsável por aproximadamente 10% de sensibilizações em doentes alérgicos a gramíneas.

Phl p11- É um alérgénio “*minor*” pertencente ao grupo 11 das gramíneas.

Phl p12- É uma Profilina com 12-15 kDa (Tavares, *et al.*, 2008), a sua função está relacionada com a regulação dos filamentos de actina. Alérgénio de reactividade cruzada presente no pólen, vegetais e no latex. O grau de

semelhança entre espécies é elevado. É um alergénio “*minor*” responsável por 15-30% de sensibilizações em doentes alérgicos a polen (Barber, 2003; Tavares, *et al.*, 2008; Thermo Scientific, 2016).

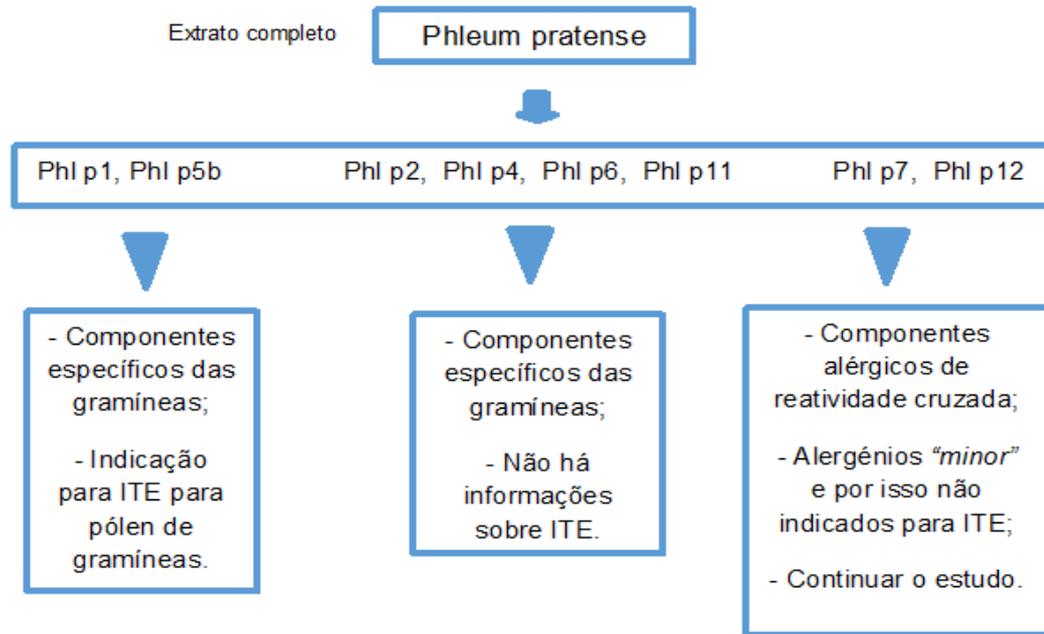


Figura 6.4. Ilustração dos perfis recomendados para Imunoterapia Específica. Modificado e adaptado de Thermo Scientific (2016).

Os componentes do *Phleum pratense* (Rabo de gato) apresentam grande semelhança com outras gramíneas, como por exemplo, *Cynodon* (grama), *Avena* (aveia), *Dactylis* (panasco), *Lolium* (azevém), *Poa pratensis* (erva febra), *Secale* (centeio), entre outros, pelo que são utilizados como marcadores da família Poaceae. A frequência de sensibilização a grãos de pólen depende da exposição e difere de região para região (Tavares, *et al.*, 2008).

6.1.1.3. Alergénios dos fungos

Esta família apresenta uma grande variabilidade. O número de espécies estimado é de aproximadamente 1 milhão. Alguns géneros de esporos como a *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium* estão distribuídos por todo o mundo e são conhecidas várias espécies associadas a sintomas respiratórios alérgicos (Simon-Nobbe, *et al.*, 2008).

A *Alternaria* desenvolve-se em vários substratos: plantações, compostagem, alimentos e materiais em decomposição mas também em ambientes “*in door*”. O seu desenvolvimento é favorecido por climas temperados e humidades relativas elevadas e os níveis são elevados em quintas e locais de transformações de cereais. O estudo de extratos de *A. alternata* é dificultado pela grande variabilidade que apresenta. Em culturas consecutivas os perfis podem sofrer pequenas variações e a presença dos principais alergénios depende das condições para o seu desenvolvimento. No entanto a biologia molecular permitiu uma melhor compreensão da relação destes alergénios com a doença (Thermo Fisher Scientific, 2016). São conhecidos vários alergénios relacionados com *Alternaria*, mas Alt a1 é um alergénio “*major*” com 29,2-31 kDa e o principal alergénio de *Alternaria* conhecido. É estavel a temperaturas elevadas.

6.1.2. A Imunoterapia

O conhecimento molecular é não só uma importante contribuição para o diagnóstico, mas também para o tratamento, nomeadamente através de imunoterapia. Possibilita a seleção de extratos direcionados para padrões de sensibilização individuais. A imunoterapia com alergénios específicos e adequados é o único tratamento que apresenta efeitos benéficos mesmo após do seu término (Figura 6.4.) (Tripodi, *et al.*, 2011).

A imunoterapia alérgica consta na administração de extratos alérgicos em doses crescentes sendo presentemente utilizadas as vias subcutânea ou sublingual. O extrato utilizado deve ser relacionado com a sintomatologia apresentada, de forma a induzir tolerância imunitária ao alérgico. Esta técnica é eficaz para o alérgico utilizado na vacina e trata-se de um procedimento complexo que envolve mecanismos imunológicos humorais e celulares (Ferreira & Barbosa, 2015). A administração do alérgico provoca uma tolerância ao alérgico administrado e redução na reatividade e melhorias nos sintomas clínicos (Pastorello, *et al.*, 2013). Para obter a eficácia máxima, o diagnóstico deverá ser o mais preciso possível e a vacina adaptada ao doente (Ferreira & Barbosa, 2015).

Tradicionalmente, por exemplo, nas alergias a grãos de pólen quando é impossível identificar a estação polínica, ou por sobreposição, ou por história clínica inconclusiva, o diagnóstico clássico por determinação de IgE específica ao extrato total pode ser insuficiente. O elevado número de doentes polisensibilizados dificulta a escolha adequada dos extratos (Tripodi, *et al.*, 2011). O uso destas novas metodologias tem revelado a necessidade de reformular e otimizar a terapia em 50% dos doentes (Sastre, *et al.*, 2012; Pastorello, *et al.*, 2013; Santos, *et al.*, 2014).

6.2. Métodos

Para a análise da sensibilização a alergénios moleculares de pólen gramíneas selecionaram-se, ao acaso, 45 doentes que reuniam os critérios previamente estabelecidos.

6.2.1. Critérios de inclusão

- a) doentes sensibilizados a gramíneas (gx1); e
- b) doentes que viviam na cidade do Baixo Alentejo ou no máximo num raio de 10Km.

6.2.2. Critério de exclusão

Os doentes que realizaram imunoterapia nos últimos 3 anos.

6.2.3. População no grupo de estudo sobre fungos

Para a análise da sensibilização ao alergénio molecular “*major*” do fungo *Alternaria* selecionaram-se 16 doentes cujo critério de inclusão era o doente apresentar sensibilização a esporos fúngicos (mx1). Dado que o número de doentes sensibilizados a mx1 foi reduzido, não foi estabelecido qualquer critério de exclusão.

6.2.4. Determinação de alergénios moleculares

Para a determinação da sensibilização aos aeroalergénios moleculares utilizou-se a tecnologia *singleplex* ImmunoCAP (monocomponentes). Fizeram-se determinações dos alergénios g205 (Phl p1); g215 (Phl p5b); g210 (Phl p7) e g212 (Phl p12) e ainda de m229 (Alt a1). O equipamento automático Phadia 250[®] Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Sweden, utiliza uma fase sólida de um polímero hidrofílico ativado onde o alergénio está covalentemente ligado, incorporado numa cápsula que servirá de recipiente para o ensaio. É um imunoensaio fluoroenzimático (FEIA) em sanduiche. O alergénio purificado reagiu com as IgE específicas presentes na amostra de soro do doente. Após a lavagem para retirar compostos não ligados. Adicionaram-se anticorpos marcados por uma enzima (fluoróforo) contra a IgE específicas e formam-se complexos. Após incubação, o complexo formado, enzima-anti-IgE foi incubado com o substrato. Por fim a reação foi interrompida com uma solução “*stop*” e mediu-se a fluorescência do eluído (Figura 6.5.). A fluorescência foi diretamente proporcional à presença de IgE específico na amostra (Pavão, 2015; Thermo Fisher Scientific, 2016).

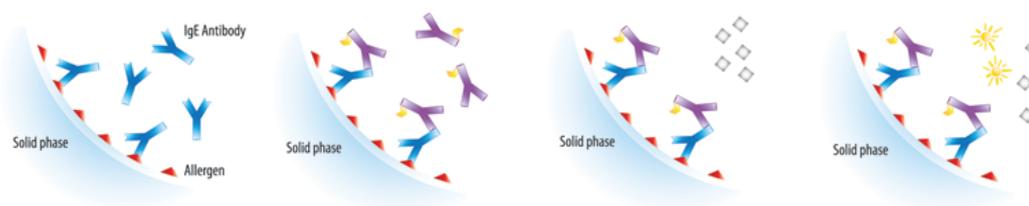


Figura 6.5. Esquema representativo da metodologia ImmunoCAP[®], imunoensaio fluoroenzimático, Thermo Fisher Scientific. Modificado e adaptado de Thermo Fisher Scientific, (2016).

Seguiram-se todas as recomendações do fabricante, as curvas de calibração, controlos da curva e controlos de qualidade interno, permitiram a validação e aceitação dos valores obtidos. Foram considerados os valores de referência recomendados para esta tecnologia:

- Nível de IgE <0.10 KU_A/L foram considerados indetetáveis e devem considerar-se outras causas para a explicação dos sintomas;

- Níveis entre 0,10-0,35 KU_A/L foram considerados negativos;

- Níveis entre 0,36-0,69 KU_A/L foram interpretados como baixos (fracamente positivos) e a sua relação com a sintomatologia pode ser pouco marcada;

- Níveis aumentados de IgE entre 0,70-3,49 KU_A/L foram considerados moderados;

- Níveis entre 3,50-49,0 KU_A/L foram interpretados como altos;

- Valores superiores a 50.0 KU_A/L foram considerados muito altos.

6.3. Resultados

6.3.1. Caracterização da amostra de doentes sensíveis ao pólen de gramíneas

No grupo de doentes sensibilizados ao multi-alergénio gx1, a maioria era do sexo masculino (32 doentes), com idades compreendidas entre os 3 e 77 anos de idade, sendo a média de 25 anos e a maioria (28 doentes) maior de idade (≥ 18 anos).

Os alergénios “*major*” são os mais frequentes nos doentes sensibilizados a gramíneas. Dos 45 doentes, 91% (41/45) apresentavam reatividade a Phl p1 e 42% (19/45) a Phl p5b. O alergénio Phl p7 foi positivo apenas em 4 doentes (9%), e Phl p12 em 5 doentes (11%) (Tabela 6.1.).

Tabela 6.1. Distribuição de doentes com reatividade a alergénios específicos.

	Frequência	%
Phl p1+	41	91
Phl p5b+	19	42
Phl p12+	5	11
Phl p7+	4	9

A distribuição da sensibilização aos aeroalergénios moleculares do pólen de *Phleum* variou consoante a idade e o sexo dos doentes. Observou-se um maior número de doentes com teste positivo (representados a vermelho) aos alergénios “*major*”, especialmente ao alergénio Phl p1, quando comparados com os negativos (representados a verde). Verificou-se que, para estes alergénios e

nesta população, os doentes do sexo masculino e os adultos foram os que apresentaram uma maior sensibilização (Figura 6.6.).

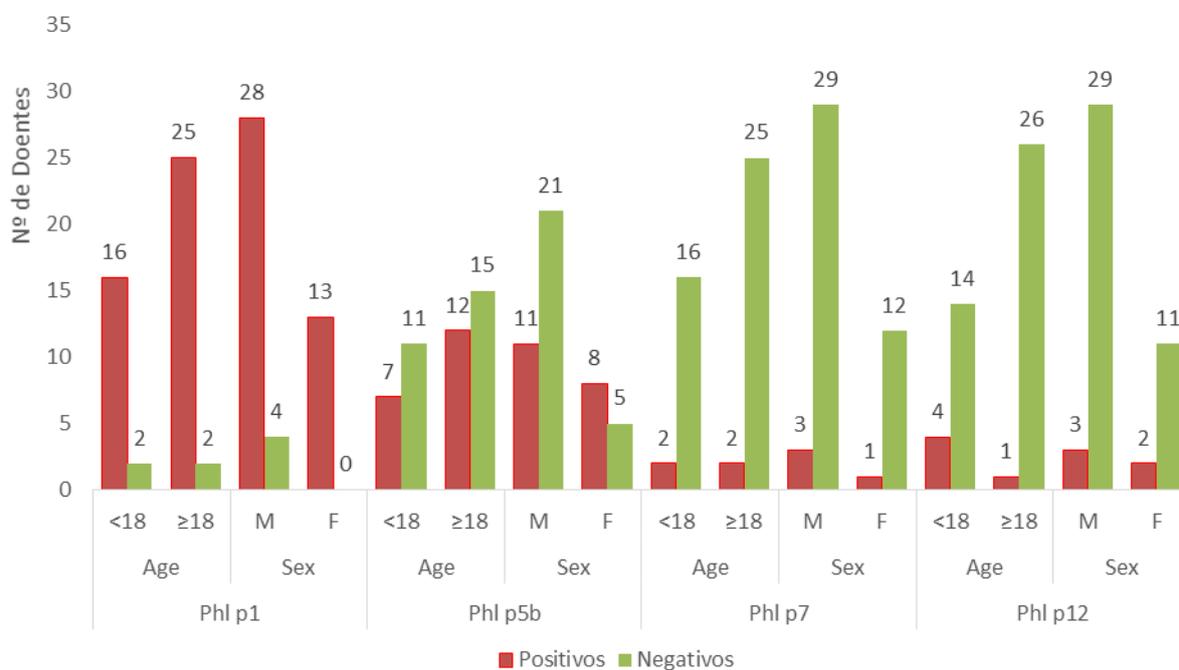


Figura 6.6. Distribuição de sensibilizações dos diferentes alergénios por idades e género.

A maioria dos doentes (44%) apresentou sensibilização exclusivamente a Phl p1; 27% aos alergénios Phl p1 e Phl p5b que são alergénios “*major*”; 9% aos alergénios Phl p1, Phl p5b e Phl p12. Os outros perfis encontrados registaram-se com frequências inferiores e 9% não apresentou reatividade para nenhum dos quatro alergénios moleculares investigados (Tabela 6.2.).

Tabela 6.2. Distribuição da população sensibilizada a pólen de gramíneas por alergénios moleculares do pólen de *Phleum*.

Perfil de sensibilização	Frequência	%
Phl p1 +/Phl p5b -/Phl p7-/Phl p12-	20	44
Phl p1 +/Phl p5b +/Phl p7-/Phl p12-	12	27
Phl p1 +/Phl p5b +/Phl p7-/Phl p12+	4	9
Phl p1 -/Phl p5b -/Phl p7-/Phl p12-	4	9
Phl p1 +/Phl p5b +/Phl p7+/Phl p12-	3	7
Phl p1 +/Phl p5b -/Phl p7+/Phl p12-	1	2
Phl p1 +/Phl p5b -/Phl p7-/Phl p12+	1	2

6.3.2. Caracterização da amostra de doentes sensíveis a fungos

No grupo de doentes sensibilizados a mx1, a maioria era do sexo masculino (10/16), com idades entre 5 e 58 anos e uma média de idades de 23 anos. 13 doentes (81%) apresentavam sensibilização para o alergénio Alt a1 (Tabela 6.3.).

Tabela 6.3. Distribuição da população sensibilizada ao alergénio Alt a1.

	Frequência	%
Positivos	13	81
Negativos	3	19

Pela análise da Figura 6.7. observou-se que o maior número de pacientes sensibilizados (representados a vermelho) foram do sexo masculino e menores de 18 anos.



Figura 6.7. Distribuição de sensibilização para o alergénio Alt a1 por idades e género.

6.4. Discussão

As gramíneas são a principal causa de doença alérgica respiratória na região Mediterrânea (Tavares, *et al.*, 2008; Tripodi, *et al.*, 2011) Na cidade de Beja, são um elemento dominante da vegetação herbácea e os níveis polínicos atmosféricos deste tipo são elevados. Representaram, no ano de 2013, 28% do especto polínico e foram a maior fonte de pólen na atmosfera de Beja. Um número elevado de doentes adultos com sintomatologia alérgica apresentou testes de sensibilização positivos ao pólen de gramíneas (Barber, 2003; Tavares, *et al.*, 2008; Chambel, *et al.*, 2012).

O alergénio Phl p1 foi o alergénio molecular com maior frequência de sensibilização na população estudada, 91% dos doentes apresentaram sensibilização a Phl p1, seguindo-se da sensibilização ao Phl p5 que foi responsável por 42% das sensibilizações. Estes alergénios são habitualmente associados a sintomatologia mais severa (Cases, *et al.*, 2014). O alergénio Phl p12 foi reativo em 11% dos doentes e o Phl p7 apenas em 9%. Vários autores descrevem resultados concordantes com os obtidos neste estudo (Tripodi, *et al.*, 2011; Scaparrotta, *et al.*, 2013).

O alergénio Phl p12 foi reativo em 11% tal como num estudo realizado na região centro de Portugal. Os valores de sensibilização para este alergénio são influenciados pelas características do grupo, por exemplo o sexo masculino é descrito como mais susceptível, e os resultados positivos são mais frequentes com o aumento da idade, também a localização geográfica afecta os resultados (Tavares, *et al.*, 2008; Scaparrotta, *et al.*, 2013; Asero, *et al.*, 2015). Estes doentes apresentam sintomatologia pouco relevante clinicamente mas como este alergénio têm sequências homologas com várias famílias de proteínas a probabilidade de reactividade cruzada com legumes e frutos é elevada (Rosa, *et al.*, 2006; Asero, *et al.*, 2015).

Apenas o tratamento por Imunoterapia alérgica específica modifica positivamente a história natural da doença. No entanto, a eficácia depende da seleção dos alergénios a administrar (Tripodi, *et al.*, 2011; Chambel, *et al.*, 2012; Sastre, *et al.*, 2012; Pastorello, *et al.*, 2013). Os doentes com perfis com Phl

p1+/Phl p5b+ e com Phl p7-/Phl p12-, ou seja com os alergénios “*major*” característicos da família das gramíneas positivas, e sem sensibilização aos alergénios característicos de reatividade cruzada, são descritos na bibliografia como mais suscetíveis ao tratamento por imunoterapia (Tripodi, *et al.*, 2011; Pastorello, *et al.*, 2013). Estes doentes são comprovadamente alérgicos a alergénios próprios das gramíneas. Neste trabalho de investigação 71% dos doentes apresentaram estes perfis e seriam bons candidatos ao tratamento. Pelo contrário, doentes com sensibilização a alergénios de atividade cruzada (Phl p7/Phl p12) que identificam alergénios de outras fontes e apresentam resposta menos satisfatória aos tratamentos. O alergénio Phl p7 (polcalcina) é uma sequência proteica conservada com função de ligação de iões de cálcio. Apresenta reatividade cruzada, por exemplo, com os alergénios de *Bétula verrucosa*, *Cynodon dactylon* ou *Chenopodium álbum* e *Olea europae*, estes últimos muito frequentes na região. Por esta razão, estes constituintes podem erradamente ser incluídos nos extratos utilizados na terapia, condicionando a sua eficácia (Thermo Fisher Scientific, 2016). Tal, também se verifica com o alergénio Phl p12 (profilina) que são proteínas ligadas às funções da actina. Os grãos de pólen de *Olea europae*, *Cynodon dactylon* e *Parietaria judaica*, por exemplo, apresentam estruturas homólogas, que além disso, podem também estão presentes em alimentos como a banana e o ananás (Chambel, *et al.*, 2012; Thermo Fisher Scientific, 2016).

Neste estudo, encontraram-se alguns doentes sem sensibilização aos alergénios moleculares testados (n=4 doentes), apesar do teste de rastreio positivo. Outros alergénios pertencentes ao pólen de *Phleum* podem estar envolvidos nestas sensibilizações, como por exemplo, os alergénios Phl p2, p4, p6 ou p11 menos estudados neste tipo de trabalhos (Chambel, *et al.*, 2012; Scaparrotta, *et al.*, 2013) ou outros alergénios moleculares de grãos de pólen provenientes de plantas de outras espécies de gramíneas.

Quanto ao grupo de doentes com sensibilização a fungos, o critério de seleção foi a reatividade ao multi-alergénio mx1 que contem alergénios dos fungos alergológicos mais importantes: *Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus* e *Alternaria alternata*. O número de doentes sensíveis a esporos fúngicos variou entre 2 a 44%. Contudo, em doentes

asmáticos os valores de sensibilização aumentam, podem atingir os 70-80% (Simon-Nobbe, *et al.*, 2008). Neste estudo, optou-se por pesquisar o alergénio Alt a1 em detalhe, por ser o alergénio “major” da *Alternaria alternata*. A *Alternaria* é o principal alergénio fúngico sensibilizante para ambiente exterior (Brito, *et al.*, 2012; Simon-Nobbe, *et al.*, 2008) e >90% dos doentes sensibilizados apresentaram provas reactivas para Alt a1 (Prester & Macan, 2010), a percentagem encontrada neste estudo foi um pouco inferior, cerca de 81%. Segundo a bibliografia a família Pleosporaceae (*Stemphylium botryosum*, *Ulocladium Botrytis* e *Curvularia lunata*) apresenta um alergénio homólogo a Alt a1 e um elevado índice de reactividade cruzada com este alergénio (Brito, *et al.*, 2012).

Neste estudo, o número de participantes foi reduzido e a área de residência não foi tida em consideração, apenas foram estudados 16 doentes. Do grupo testado, 13 doentes (81%) apresentaram sensibilização para o alergénio Alt a1 e apenas 3 (19%) foram não reativos. Os doentes com testes de sensibilização para Alt a1 negativos, apresentaram testes de rastreio (mx1) positivos. Poderão estar envolvidas sensibilizações a outros esporos de fungos ou eventualmente a tratamentos de imunoterapia realizados em consultórios privados.

Alguns autores descrevem a sensibilização a esporos de fungos mais frequente no meio rural (Oliveira, *et al.*, 2009 A; Oliveira, *et al.*, 2009 B; Prester & Macan, 2010). Neste trabalho, foram incluídos doentes residentes em aldeias e quintas afastadas da cidade de Beja, meios rurais, que poderão explicar os elevados níveis de sensibilização aqui determinados.

6.5. Conclusão

Assim, foi possível retirar as seguintes conclusões:

1- Existe uma maior prevalência de sensibilização a aeroalergénios moleculares nos indivíduos do sexo masculino.

2- A maioria dos doentes apresenta provas de sensibilização positivas para os alergénios Phl p1 e Phl p5b, alergénios “*major*”. Por conseguinte, estes doentes são considerados “verdadeiramente” alérgicos ao pólen de gramíneas.

3- 9% dos doentes com sensibilização ao pólen de gramíneas não apresentou reatividades aos alergénios moleculares testados. Certamente apresentam reatividade a outros alergénios moleculares de outras espécies de gramíneas.

4- O tratamento de doentes com sintomatologia alérgica nem sempre é fácil. A imunoterapia é o método de tratamento mais eficaz, no entanto, depende das características do extrato administrado. Quanto mais preciso for o diagnóstico maiores as possibilidades de sucesso. Neste estudo, do total de doentes participantes, 71% apresentam o perfil alergológico recomendável para imunoterapia.

5- Apesar da baixa frequência de doentes com sensibilização a fungos na cidade de Beja, o alergénio Alt a1 apresenta resultados reativos na maioria dos doentes estudados. Desta forma, fica demonstrado que este tipo de sensibilização está presente na região e que a percentagem de doentes sensíveis a fungos registada não representa a percentagem real de sensibilização na região de Beja.

6- Este estudo veio salientar a importância de que quando as técnicas convencionais de diagnóstico não são suficientes, a caracterização molecular é uma importante ferramenta de diagnóstico e de orientação de terapêutica.

6.6. Bibliografia

- ARRUDA, L. K., MORENO, A. S., & FERREIRA, F. (2013). Diagnóstico molecular de alergia: pronto para a prática clínica? *Braz J Allergy Immunol*; 1(4): 187-94.
- ASERO, R., TRIPODI, S., DONDI, A., BUSINCO, A. D., SFIKA, I., BIANCHI, A., & *Et al.*, (2015). Prevalence and Clinical Relevance of IgE Sensitization to Profilin in Childhood: A Multicenter Study. *Int Arch Allergy Immunol*; 168: 25-31.
- BARBER, D. (2003). Gramíneas: alergenos y reactividad cruzada. *Alergol Inmunol Clin*; 18 (extraordinario Núm 3): 12-16.
- BRITO, F. F., ALONSO, A., J., C., MARTÍN-MARTÍN, R., FERNÁNDEZ-CALDAS, E., GALINDO, P., *Et al.*, (2012). Correlation Between Alt a1 Levels and Clinical Symptoms in *Alternaria alternata*- Monosensitized Patients. *J Investig Allergol Clín Immunol*; 22(3): 154-159.
- CASES, B., IBAÑEZ, M. D., TUDELA, J. I., SANCHEZ-GARCIA, S., RIO, P. R., FERNANDEZ, E. A., *ET AL.*, (2014). Immunological cross-reactivity between olive and grass pollen: implication of major and minor allergens. *World Allergy Org J*; 7(1):11.
- CHAMBEL, M., PAIVA, M., PRATES, S., LOUREIRO, V., & PINTO, P. L. (2012). Polissensibilização a pólenes analisada e reinterpretada à luz do método ImmunoCAP ISAC. *Rev Port Imunoalergologia*; 20 (3): 211-219.
- FERREIRA, M. B., & BARBOSA, M. P. (2015). *Manual Imunoterapia com Alergénios* (1ª ed.). (M. B. Ferreira, & M. P. Barbosa, Edits.) Lisboa: Bialaristegui.
- HED, J. (2010). *Cross-reactivity in plant food allergy- Clinical impact of Component Resolved Diagnostics (CRD)*. Sweden: Thermo Scientific.

- OLIVEIRA, M., RIBEIRO, H., DELGADO, J., & ABREU, I. (2009 A). Seasonal and intradiurnal variation of allergenic fungal spores in urban and rural areas of the North of Portugal. *Aerobiologia*; 25(2): 85-98.
- OLIVEIRA, M., RIBEIRO, H., DELGADO, J., & ABREU, I. (2009 B). The effects of meteorological factors on airborne fungal spore concentration in two areas differing in urbanisation level. *Int J Biometeorol*; 53(1): 61-73.
- PASTORELLO, E. A., LOSAPPIO, L., MILANI, S., MANZOTTI, G., FANELLI, V., PRAVETTONI, V., *Et al.*, (2013). 5- grass pollen tablets achieve disease control in patients with seasonal allergic rhinitis unresponsive to drugs: a real-life study. *J Asthma Allergy*; 6: 127-133.
- PAVÃO, C. S. (2015). *Diagnóstico das alergias: O papel do Laboratório de Análises Clínicas*. Lisboa: Monografia de Mestrado em Análises Clínicas - Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia.
- PRESTER, L., & MACAN, J. (2010). Determination of Alt a 1 (*Alternaria alternata*) in poultry farms and a sawmill using ELISA. *Medical Mycology* 48: 298-302.
- ROSA, S., ALVES, R., PIEDADE, S., REIS, R., GERALDES, L., SANTOS, A. F., *Et al.*, (2006). Curso sobre alergia alimentar da EAACI. *Rev Port Imunoalergologia*; 14(2): 157-165.
- SANTOS, A. S., PEDRO, E., FERREIRA, M. B., COSTA, C., DELGADO, L., & SANTOS, M. C. (2014). Curso de alergénios e imunoterapia- Abordagem molecular. *Rev Port Imunoalergologia*; 22(4): 291-301.
- SASTRE, J., LANDIVAR, M. E., RUIZ-GARCÍA, M., ANDREGNETTE-ROSINO, M. V., & MAHILLO, I. (2012). How molecular diagnosis can change allergen-specific immunotherapy prescription in a complex pollen area. *Allergy*; 67(5): 709-711.
- SCAPARROTTA, A., VERINI, M., CONSILVIO, N. P., CINGOLANI, A., RAPINO, D., ATTANASI, M., *Et al.*, (2013). Sensitization to timothy grass pollen allergenic molecules in children. *Multidiscip Respir Med*; 8 (1): 17.

- SIMON-NOBBE, B., DENK, U., PÖLL, V., RID, R., & M., B. (2008). The Spectrum of Fungal Allergy. *Int Arch Allergy Immunol*; 145(1): 58-86.
- TAVARES, B., MACHADO, D., LOUREIRO, G., CEMLYN-JONES, J., & PEREIRA, C. (2008). Sensibilization to profilin in the Central region of Portugal. *Sci Total Environ*; 407(1): 273-278.
- THERMO FISHER SCIENTIFIC INC. (2014). *A Clinical Reference Guide to Molecular allergy. Go Molecular! 2.The Allergen Components*. Thermo Fisher Scientific Inc.
- THERMO FISHER SCIENTIFIC. (2014). *A Clinical Reference Guide to Molecular Allergy. Go Molecular! 1.Molecular Allergy- The Basics*. Thermo Fisher Scientific Inc.
- THERMO FISHER SCIENTIFIC. (2016). *Thermo Fisher Scientific*. Obtido de Thermo Fisher Scientific: www.phadia.com
- THERMO SCIENTIFIC. (2016). *Díptico gramíneas_ES.pt*. Obtido de Díptico gramíneas_ES.pt: www.phadia.com/Global/Market%20/companies/Spain/Pacientes/Díptico%20gramíneas_ES.pdf
- TRIPODI, S., FREDIANI, T., LUCARELLI, S., MACRI, F., PINGITORE, G., BUSINCO, A. D., *ET AL.*, (2011). Molecular profiles of IgE to Phleum Pratense in children with grass pollen allergy: Implications for specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*; 129 (3): 834-839.

3. Discussão, críticas e sugestões futuras

O conhecimento das variações diurnas, sazonais e anuais de pólen e de esporos de fungos atmosféricos em qualquer área geográfica é essencial para o diagnóstico efetivo e tratamento da doença alérgica. Os grãos de pólen como aeroalergénios são objeto de estudos aerobiológicos como este por todo o Mundo comparativamente com os fungos que são bioaerossóis que estão presentes no ar atmosférico em concentrações muito superiores. A informação recolhida neste tipo de estudos são difíceis de analisar. As muitas variáveis envolvidas dificultam o ensaio. Em todos os estudos há limitações e este não foi diferente:

- O concelho de Beja é muito grande, composto pela cidade de Beja e por várias aldeias em redor. A população estudada distribuiu-se pelo meio urbano e rural envolvente. As recolhas aerobiológicas e restantes informações (vendas de medicação, assistência médica urgente, resultados de análises clínicas) representaram bem a cidade mas descoraram a população rural. A morosidade da análise tornou difícil extrapolar conclusões sobre a área envolvente (Gonzalo-Garijo, *et al.*, 2006).
- Os esporos mais pequenos e leves são os mais analisados neste tipo de estudos. São de fácil propagação pelo vento e o seu número elevado pode dever-se a esta facilidade de suspensão. Os esporos mais pesados, ao contrário, tendem a depositar-se perto da fonte dificultando a sua captura por este método. Tal, também se pode verificar nos grãos de pólen. Os mais pesados apresentam dificuldade de dispersão. Neste caso, o coletor esteve colocado a 30 metros de altura e os resultados podem ser influenciados pela elevada altitude. É uma limitação dos estudos aerobiológicos com coletores colocados no topo de edifícios (Sesartic & Dallafior, 2011). Alguns autores utilizam um método de sedimentação em placa para monitorizar esporos fúngicos (Pantoja, *et al.*, 2007). Este método apresenta vantagens mas também algumas limitações: 1) por ser um método de cultura, os esporos de crescimento mais difícil e lento

tendem a ficar desvalorizados; 2) é mais sensível às condições climáticas (Oliveira, *et al.*, 2007). O ideal seria combinar os dois métodos (Nikkels, *et al.*, 1996).

- Outra limitação deste estudo foi não analisar a exposição a alergénios “*indoor*”. Percebeu-se que as sensibilizações a este tipo de alergénios são elevadas, associadas ao estilo de vida moderno. Seria interessante em estudos futuros analisar os níveis de alergénios por exemplo em instituições como infantários, escolas e lares (Mahesh, *et al.*, 2010).
- No que diz respeito às condições meteorológicas, não foi possível comprovar causalidade no efeito das alterações climáticas na vegetação e no início e duração dos períodos polínicos. Alguns autores relacionam por exemplo o aquecimento global com o início precoce da floração e o seu prolongamento no tempo, mas para este tipo de conclusões são necessários períodos de estudo prolongados, de pelo menos 30 anos.
- Uma base de dados mais longa permitiria também concluir sobre o efeito destas alterações nos sintomas de doentes alérgicos e nas condições socioeconómicas da região (Cecchi, *et al.*, 2010).
- A Unidade Local de Saúde do Baixo Alentejo não contempla a especialidade de Imunoalergologia. Os doentes e a informação clínica estão dispersos por outras especialidade, o que dificulta o estudo da doença alérgica e aumenta os custos de acesso e deslocação. A doença alérgica que é crónica na região de Beja, assim como noutras regiões, está subdiagnosticada, subtratada e é desvalorizada.
- Neste projeto pretendia-se recolher inquéritos sintomatológicos diários sobre os sintomas alérgicos e relaciona-los com os níveis polínicos e fúngicos existentes na atmosfera. No entanto, a adesão dos doentes foi pouco significativa e a informação revelou-se inconsistente. Era importante em estudos futuros reestruturar este

procedimento. É bastante utilizado e os resultados costumam ser conclusivos e expressam a influência dos grãos de pólen e esporos fúngicos na doença alérgica respiratória.

- É também indispensável a caracterização molecular da população alérgica. Um correto diagnóstico é fundamental para um tratamento adequado, o que nem sempre se verifica. A reatividade cruzada entre vários alérgenos é a maior dificuldade no diagnóstico deste tipo de patologia. Mas a falta de recursos humanos e financeiros é limitante especialmente nas regiões do Interior.
- Apesar da baixa sensibilização a esporos fúngicos, os doentes estudados apresentaram positividade para alérgenos “*major*” desta família, neste caso Alt a1. Tal, sugere que estes alérgenos são efetivamente responsáveis por doença alérgica respiratória e a sua pesquisa se encontra desvalorizada na região.

4. Conclusão

- Na atmosfera da região de Beja regista-se a presença de grãos de pólen durante todo o ano. Porém, grande parte desse pólen coleta-se em maio (cerca de 70% do total de pólen coletado).

- No espectro polínico da atmosfera de Beja predominam os tipos polínicos Poaceae (28%), *Quercus* (15%), Oleaceae (13%), Urticaceae (7%) e Cupressaceae (5%).

- O Calendário polínico obtido neste estudo para a região, baseado em apenas um ano de estudo, dá a conhecer o período de tempo (EPAP) que os principais tipos de pólen estão presentes na atmosfera e os seus níveis.

- Em termos de distribuição horária ao longo do dia (24 horas), esta varia consoante o tipo de pólen mas os picos polínicos alcançam-se durante a tarde.

- Os esporos de *Cladosporium* sp. encontram-se presentes no ar atmosférico ao longo de todo o ano com níveis mais elevados durante a primavera (abril e maio) e outono (outubro). No período analisado os seus níveis não ultrapassaram o valor limiar de desencadeamento de sintomatologia alérgica.

- Os esporos de fungos *Alternaria* sp. registam-se em concentrações elevadas em maio e junho (primavera) e de setembro a novembro (outono). Nessa altura, há dias em que se registam concentrações de esporos no ar que ultrapassam o valor limiar de alergia.

- Em termos clínicos os indivíduos que compõem a população de Beja que recorrem ao Hospital da Região com queixas respiratórias sugestivas de alergia são maioritariamente adultos e polisensibilizados. Os alérgenos de grãos de pólen, ácaros, alimentos e alérgenos relacionados com animais domésticos são os responsáveis pela maioria das sensibilizações apresentadas pelos doentes.

- Em relação à sensibilização a aeroalergénios moleculares de pólen gramíneas *Phleum* e de *Alternaria* existe uma maior prevalência nos indivíduos do sexo masculino.

- A maioria dos doentes sensíveis ao pólen de *gramíneas* apresenta provas de sensibilização positivas para os alergénios Phl p1 e Phl p5b (alergénios “major”).

- Uma percentagem de doentes, ainda importante, cerca de 9% não apresentou reatividades aos alergénios moleculares de gramíneas testados. Certamente apresentam reatividade a outros alergénios moleculares de outras espécies de gramíneas.

- Neste estudo, do total de doentes participantes, 71% apresentam o perfil alergológico recomendável para imunoterapia ao pólen de gramíneas.

- Relativamente à sensibilização ao alergénio Alt a1 a maioria dos doentes com testes positivos a fungos apresenta reatividade. Por conseguinte, este tipo de sensibilização está presente na região de Beja. Porém, este tipo de sensibilização não é valorizada.

- Este estudo veio salientar a importância de que quando as técnicas convencionais de diagnóstico não são suficientes, a caracterização molecular é uma importante ferramenta de diagnóstico e de orientação de terapêutica.

- A análise dos resultados obtidos neste estudo demonstra que os níveis de partículas quer de grãos de pólen, quer de esporos de fungos, em particular os de *Alternaria*, na região de Beja, têm impacto na saúde dos indivíduos expostos em particular nos indivíduos geneticamente suscetíveis, no sentido de que desencadeiam sintomatologia alérgica. Os níveis atmosféricos destes bioaerossóis apresentam uma variação sazonal e interanual e são influenciados por vários fatores, entre os quais os fatores meteorológicos.

- Em termos gerais, sabe-se que a doença alérgica respiratória se encontra a nível nacional subvalorizada e subdiagnosticada e os resultados deste estudo e toda a informação recolhida para este estudo expressam essa realidade.

5. Bibliografia

- BEJA, N. D. (2008). *Caracterização Socio-económica do Distrito de Beja*. Beja, Beja, Portugal/ Baixo Alentejo.
- BIBLIOTECAS, D.-G. D. (2015). *Rede Nacional de Bibliotecas de Portugal*. Obtido de Governo de Portugal- Secretaria de Estado da Cultura: rcbp.dglib.pt/Bibliotecas/Paginas/default.aspx
- BRANDÃO, R. M. (1996). *Aerobiologia Polínica e Respectivas Aplicações em Estudos Fenológicos e alergológicos: Uma Análise das Interações no Ambiente Mesomediterrânico Português (Alentejo: Sul de Portugal) .* Évora: Dissertação de Doutoramento em Biologia. Universidade de Évora.
- CAEIRO, E. R. (2004). *Estudo Aeropalinológico Comparativo da Atmosfera de Évora e Portimão*. Coimbra: Tese Mestrado. Universidade de Évora.
- CAEIRO, E. R. (2013). *Aerobiologia do Pólen de Poaceae, Olea europaea L. e Platanus hybrida Brot. e Potenciais Repercussões na Doença Alérgica Respiratória no Sul de Portugal*. Évora: Dissertação Doutoramento em Biologia, Universidade de Évora.
- CARMO, S. J. (2004). *Variação Sazonal de Pólen Atmosférico no Alto Alentejo e sua Relação com a Meteorologia e a sintomatologia Atópica Respiratória*. Évora: Tese Mestrado. Universidade de Évora.
- CECCHI, L., D'AMATO, G., AYRES, J., GALAN, C., FORASTIERE, F., FORSBERG, B., *ET AL.*, (2010). Projections of the effects of climate change on allergic asthma: the contribution of aerobiology. *Allergy*; 65: 1073-1081.
- CHENG-YAO, L., YUAN, Z., DE-MIN, H., & LOU, Z. (2010). Evaluation of serum specific IgE for the diagnosis of allergic rhinitis with multi-allergens. *Chinese Medical Journal*; 123(20): 2836-2841.

- COSTA, J. C., AGUIAR, C., CAPELO, J. H., LOUSÃ, M., & NETO, C. (1998). *Biogeografia de Portugal Continental*. Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.
- DOCAMPO, S., RECIO, M., TRIGO, M. M., MELGAR, M., & CABEZUDO, B. (2007). Risk of pollen allergy in Nerja (southern Spain): a pollen calendar. *Aerobiologia*; 23:189-199.
- FERNANDES, F. M., MOLINA, R. T., & CARVALHO, L. M. (2010). Estudo aerobiológico de Beja (Sul de Porugal). *Rev Port Imunoalergologia*; 18(5):419 - 429.
- FORTIN, M. F. (1999). O Processo de Investigação: da concepção à realização. LUSOCIÊNCIA – Edições Técnicas e Científicas, Lda. Loures. 388p.
- GALÁN, C., M., S., M., T., FRENGUELLI, G., OTEROS, J., GEHRIG, R., *ET AL.*, (2014). Pollen monitoring: minimum requirements and reproducibility of analysis. *Aerobiologia*; 30(4): 385-395.
- GALÁN, C., TORNO, R., CUEVAS, J., INFANTE, F., & DOMÍNGUEZ, E. (1991). Theoretical daily variation patterns of airborne pollen in the South-West of Spain. *Grana*; 30: 201-209.
- GONZALO-GARIJO, M. A., TORNO-MOLINA, R., MUNÓZ-RODRIGUEZ, A. F., & SILVA-PALACIOS, I. (2006). Differences in the spatial distribution of airborne pollen concentrations at different urban locations within a city. *J Investig Allergol Clín Immunol*; 16(1): 37-43.
- GOOGLE. (2015). *Google maps*. Obtido de Google maps: www.google.pt/maps
- GUIMARÃES, F., DUQUE, L., RIBEIRO, H., SOUSA, R., & ABREU, I. (2012). Contribution of EPMA to airborne pollen analysis. *Materials Science and Engineering*.
- JATO, V., RODRÍGUEZ-RAJO, F. J., ALCÁZAR, P., DE NUNTIIS, P., GALÁN, C., & MANDRIOLI, P. (2006). May the definition of pollen season influence aerobiological results? *Aerobiologia*; 22: 13-25.

- MAHESH, P., KUMMELING, I., AMRUTHA, D., & VEDANTHAN, P. K. (2010). Effect of residence on patterns of aeroallergen sensitization in atopic patients. *American Journal of Rhinology & Allergy*; 24(5): e98-e103.
- MARSHALL, J. B. (2004). *European Allergy White Paper- Allergic Diseases as a Public Health Problem in Europe*. UCB Institute of Allergy.
- NIKKELS, A., TERSTEGGE, P., & SPIEKSMAN, F. (1996). Ten types of microscopically identifiable airborne fungal spores at Leiden, The Netherlands. *Aerobiologia*; 12: 107-112.
- NILSSON, S., & PERSSON, S. (1981). Tree pollen spectra in the Stockholm region (Sweden), 1973-1980. *Grana*; 20(3): 179-182.
- OLIVEIRA, M., ABREU, I., RIBEIRO, H., & DELGADO, L. (2007). Esporos fúngicos na atmosfera da cidade do Porto e suas implicações alergológicas. *Ver Port Imunoalergologia*; 15(1): 61-85.
- PANTOJA, L., COUTO, M., & PAIXÃO, G. (2007). Diversidade de bioaerossóis presentes em ambientes urbanizados e preservados de um campus universitário. *Biológico*; 69(1): 41-47.
- PÉREZ-BADIA, R., RAPP, A., MORALES, C., SARDINERO, S., GALÁN, C., & GARCÍA-MOZO, H. (2010). Pollen Spectrum and Risk of Pollen Allergy in Central Spain. *Ann Agric Environ Med*; 17: 139-151.
- PÉREZ-BADIA, R., VAQUERO, C., SARDINERO, S., GALÁN, C., & GARCÍA-MOZO, H. (2010). Intradiurnal Variations of Tree Pollen in the Atmosphere of Toledo. *Ann Agric Environ Med*; 17:269-275.
- PINTO, C. A., HENRIQUES, M. O., FIGUEIREDO, J. P., DAVID, J. S., ABREU, F. G., PEREIRA, J. S., ET AL., (2011). Phenology and growth dynamics in Mediterranean evergreen oaks: Effects of environmental conditions and water relations. *Forest Ecology and Management*; 262(3): 500-508.
- PIOTROWSKA, K., & WERYSZKO-CHMIELEWSKA, E. (2003). Pollen count of selected taxa in the atmosphere of Lublin using two monitoring methods. *Ann Agric Environ Med*; 10: 79-85.

- PORTUGUESA, C. D. (2015). *O interior precisa disto*. Obtido de O interior precisa disto: www.emigrecadentro.com/wordpress/index.php/o-q-e/emigre-ca-dentro-2/
- PUNT, W., BLACKMORE, S., NILSSON, S., & THOMAS, A. L. (2014). *Glossary of Pollen and Spore Terminology*. Obtido de Glossary of Pollen and Spore Terminology: <http://www.pollen.mtu.edu/glos-gtx/glos-int.htm>
- PUNT, W., HOEN, P., BLACKMORE, S., NILSSON, S., & LE, T. A. (2007). *Glossary of pollen and spore terminology. Review of Palaeobotany & Palynology*; 143(1-2): 1-81.
- RECIO, M., CABEZUDO, B., TRIGO, M. D., & TORO, F. J. (1998). *Pollen calendar of Malaga (Southern Spain), 1991-1995*. *Aerobiologia*; 14(2-3): 101-107.
- RIBEIRO, H., OLIVEIRA, M., & ABREU, I. (2008). *Variação horária do pólen de Urticaceae e Poaceae na atmosfera do Porto*. *Rev Port Imunoalergologia*; 16: 163-173.
- RPA. (2007-2014). *Rede Portuguesa de Aerobiologia*. Obtido de Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica: www.rpaerobiologia.cm
- SALES, A. (2010). *Controlo da Asma em Pacientes Acompanhados nos Cuidados de Saúde Primários- Estudo Transversal no Distrito de Bragança*. Santiago de Compostela: Dissertação de Doutoramento de Investigação Aplicada em Medicina Preventiva, Saúde Pública e Cirurgia da Universidade de Santiago de Compostela.
- SANTIAGO, A. L., & GARCÍA, Á. C. (2002). *Polinosis- Polen y Alergia (Vol. I)*. (A. L. Santiago, & Á. C. García, Edits.) mra ediciones, S.L.
- SANTOS, H. P. (2011). *Espectro de esporos fr fungos alergisantes na atmosfera de Lisboa*. Lisboa: Dissertação de Mestrado Engenharia Florestal e dos Recurso Naturais, Instituto Superior de Agronomia Uiversidade Técnica de Lisboa.

- SESARTIC, A., & DALLAFIOR, T. (2011). Global fungal spore emissions, review and synthesis of literature data. *Biogeosciences* 1181-1192.
- SOLDEVILLA, C. G., GONZÁLEZ, P. C., TENO, P. A., & VILCHES, E. D. (2007). *Spanish Aerobiology Network (REA): Management and Quality Manual*. Córdoba: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba - Argos Impresores S.L.
- SOUSA, R., RIBEIRO, H., CRUZ, A., DUQUE, L., & ABREU, I. (2014). Pólen de Parietária judaica: Aerobiologia e alergenicidade. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*; 22(2): 81-92.
- SPAIC. (2014). *Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica*. Obtido de Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica: www.spaic.pt
- SULMONT, G., LAINE, C., SULMONT, D., DUPUY, N., LACHASSE, C., & THIBAUDON, M. (s.d.). The Pollen Content of the Air Identification Key. *RNSA- Réseau National de Surveillance Aérobiologique*.
- TODO-BOM, A., LOUREIRO, C., RODRIGUES, V., BURNEY, P., & PINTO, A. M. (2012). Epidemiologia da asma e rinosinusite no Centro de Portugal. Contributo da Alergia. *Rev Port Imunoalergologia*; 20(3): 193-200.
- VASCONCELOS, A., ROSA, G., MASSA, P., & PINTO, J. (2011). Prevalência de fatores associados a doenças alérgicas em crianças e adolescentes com relação à Hipótese da Higiene. *Rev Bras Alerg Imunopatol*; 34(2): 49-54.
- VIANA, J., GOMES, R., LOUREIRO, C., & TODO-BOM, A. (2014). Peak nasal inspiratory flow e testes de odores na rinite. *Rev Port Imunoalergologia*; 22(4): 267-277.

ANEXOS

Anexo I

Tabela 1.1. Informações meteorológicas em falta e respetivos dias e horas.

Precipitação (mm)	23-04-2012 15.00h; 16.00h						
Direção do vento (°)	23-02-2013 10.00h; 11.00h	25-09-2013 11.00h	03-03-2014 19.00h	08-04-2014 09.00h		26-04-2014 19.00h	27-04-2014 06.00h; 18.00h
Velocidade do vento (m/s)	23-02-2013 10.00h; 11.00h	25-09-2013 11.00h	03-03-2014 19.00h	08-04-2014 09.00h		26-04-2014 19.00h	27-04-2014 06.00h; 18.00h
Temperatura (°C)	23-02-2013 10.00h; 11.00h	25-09-2013 11.00h	03-03-2014 19.00h	08-04-2014 09.00h	19-04-2014 08.00h		
Humidade Relativa (%)	23-02-2013 10.00h; 11.00h	25-09-2013 11.00h	03-03-2014 19.00h	08-04-2014 09.00h	19-04-2014 08.00h		

Tabela 1.2. Informações polínicas em falta e respetivos dias e horas.

Todos os tipos polínicos analisados	04-07-2012	05-07-2012
	Entre as 12.00h e as 00.00h	Entre as 00.01h e 16.00h

Tabela 1.3. Informações sobre esporos fúngicos de *Alternaria* e *Cladosporium* em falta e respetivos dias e horas.

Esporos de <i>Alternaria</i> e <i>Cladosporium</i>	04-07-2012	05-07-2012
	Entre as 12.00h e as 00.00h	Entre as 00.01h e 16.00h

Anexo II

Tabela 2.1. Testes de normalidade *Kolmogorov-Smirnov* dos vários tipos polínicos analisados.

Tests of Normality

	Ano	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Statistic	df	Sig.
Betulaceae	2012	,529	6319	,000
	2013	,517	8760	,000
	2014	,530	5052	,000
Amaranthaceae	2012	,503	6319	,000
	2013	,475	8760	,000
	2014	,521	5052	,000
Cupressaceae	2012	,525	6319	,000
	2013	,464	8760	,000
	2014	,418	5052	,000
Myrtaceae	2012	,532	6319	,000
	2013	,525	8760	,000
	2014	,533	5052	,000
Oleaceae	2012	,439	6319	,000
	2013	,439	8760	,000
	2014	,425	5052	,000
Pinaceae	2012	,514	6319	,000
	2013	,525	8760	,000
	2014	,485	5052	,000
<i>Platanus</i>	2012	,520	6319	,000
	2013	,506	8760	,000
	2014	,498	5052	,000
<i>Plantago</i>	2012	,515	6319	,000
	2013	,513	8760	,000
	2014	,469	5052	,000
Poaceae	2012	,396	6319	,000
	2013	,406	8760	,000
	2014	,400	5052	,000
<i>Quercus</i>	2012	,372	6319	,000
	2013	,402	8760	,000
	2014	,409	5052	,000

Asteraceae	2012	,527	6319	,000
	2013	,530	8760	,000
	2014	,525	5052	,000
<i>Rumex</i>	2012	,504	6319	,000
	2013	,521	8760	,000
	2014	,495	5052	,000
<i>Salix</i>	2012	,502	6319	,000
	2013	,525	8760	,000
	2014	,526	5052	,000
Urticaceae	2012	,463	6319	,000
	2013	,410	8760	,000
	2014	,330	5052	,000

a. Lilliefors Significance Correction

Tabela 2.2. Testes de normalidade *Kurtosis* dos vários tipos polínicos analisados.

			Statistic	Std. Error
Betulaceae	2012	Skewness	12,032	0,031
		Kurtosis	209,645	0,062
	2013	Skewness	16,057	0,026
		Kurtosis	344,015	0,052
	2014	Skewness	10,795	0,034
		Kurtosis	143,343	0,069
Amaranthaceae	2012	Skewness	8,014	0,031
		Kurtosis	123,863	0,062
	2013	Skewness	61,296	0,026
		Kurtosis	4332,266	0,052
	2014	Skewness	10,157	0,034
		Kurtosis	166,829	0,069
Cupressaceae	2012	Skewness	19,507	0,031
		Kurtosis	679,194	0,062
	2013	Skewness	18,185	0,026
		Kurtosis	437,901	0,052
	2014	Skewness	12,727	0,034
		Kurtosis	234,117	0,069
Myrtaceae	2012	Skewness	8,665	0,031

		Kurtosis	104,397	0,062
	2013	Skewness	13,21	0,026
		Kurtosis	268,107	0,052
	2014	Skewness	9,255	0,034
		Kurtosis	102,148	0,069
Oleaceae	2012	Skewness	16,254	0,031
		Kurtosis	376,324	0,062
	2013	Skewness	17,061	0,026
		Kurtosis	413,327	0,052
	2014	Skewness	10,552	0,034
		Kurtosis	155,702	0,069
Pinaceae	2012	Skewness	20,776	0,031
		Kurtosis	649,211	0,062
	2013	Skewness	9,86	0,026
		Kurtosis	131,396	0,052
	2014	Skewness	15,419	0,034
		Kurtosis	341,574	0,069
<i>Platanus</i>	2012	Skewness	8,914	0,031
		Kurtosis	96,064	0,062
	2013	Skewness	6,943	0,026
		Kurtosis	64,742	0,052
	2014	Skewness	14,92	0,034
		Kurtosis	285,111	0,069
<i>Plantago</i>	2012	Skewness	5,751	0,031
		Kurtosis	45,826	0,062
	2013	Skewness	8,311	0,026
		Kurtosis	98,535	0,052
	2014	Skewness	8,787	0,034
		Kurtosis	110,276	0,069
Poaceae	2012	Skewness	7,707	0,031
		Kurtosis	76,4	0,062
	2013	Skewness	10,84	0,026
		Kurtosis	171,402	0,052
	2014	Skewness	9,938	0,034
		Kurtosis	156,636	0,069
<i>Quercus</i>	2012	Skewness	5,859	0,031
		Kurtosis	44,959	0,062
	2013	Skewness	10,63	0,026
		Kurtosis	173,166	0,052
	2014	Skewness	11,129	0,034
		Kurtosis	165,533	0,069
Asteraceae	2012	Skewness	9,102	0,031
		Kurtosis	133,31	0,062

	2013	Skewness	10,302	0,026
		Kurtosis	166,113	0,052
	2014	Skewness	8,83	0,034
		Kurtosis	136,587	0,069
<i>Rumex</i>	2012	Skewness	10,887	0,031
		Kurtosis	158,927	0,062
	2013	Skewness	7,404	0,026
		Kurtosis	77,799	0,052
	2014	Skewness	6,579	0,034
		Kurtosis	66,952	0,069
<i>Salix</i>	2012	Skewness	9,276	0,031
		Kurtosis	111,098	0,062
	2013	Skewness	8,704	0,026
		Kurtosis	102,85	0,052
	2014	Skewness	12,904	0,034
		Kurtosis	185,323	0,069
Urticaceae	2012	Skewness	9,481	0,031
		Kurtosis	207,4	0,062
	2013	Skewness	9,134	0,026
		Kurtosis	157,76	0,052
	2014	Skewness	5,067	0,034
		Kurtosis	38,542	0,069

Tabela 2.3. Testes de normalidade *Kolmogorov-Smirnov* dos tipos fúngicos analisados, nomeadamente *Alternaria* e *Cladosporium*.

Tests of Normality				
	Ano	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Statistic	df	Sig.
<i>Alternaria</i>	2012	,296	6319	,000
	2013	,320	8760	,000
	2014	,319	5052	,000
<i>Cladosporium</i>	2012	,161	6319	,000
	2013	,104	8760	,000
	2014	,132	5052	,000

a. Lilliefors Significance Correction

Tabela 2.4. Testes de normalidade *Kurtosis* dos tipos fúngicos analisados, nomeadamente *Alternaria* e *Cladosporium*.

			Statistic	Std. Error
<i>Alternaria</i>	2012	Skewness	3,846	0,031
		Kurtosis	22,373	0,062
	2013	Skewness	6,198	0,026
		Kurtosis	83,311	0,052
	2014	Skewness	6,763	0,034
		Kurtosis	97,864	0,069
<i>Cladosporium</i>	2012	Skewness	2,733	0,031
		Kurtosis	13,773	0,062
	2013	Skewness	1,779	0,026
		Kurtosis	6,571	0,052
	2014	Skewness	2,469	0,034
		Kurtosis	16,835	0,069

Anexo III

Tabela 3.1. Comparação entre as distribuições polínicas e fúngicas dos anos de 2012 e 2013, pelo teste de *Mann-Whitney*.

Hypothesis Test Summary				
	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of Betulaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,057	Retain the null hypothesis.
2	The distribution of Amaranthaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,934	Retain the null hypothesis.
3	The distribution of Cupressaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
4	The distribution of Myrtaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
5	The distribution of Oleaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,002	Reject the null hypothesis.
6	The distribution of Pinaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,007	Reject the null hypothesis.
7	The distribution of Plantago is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,084	Retain the null hypothesis.
8	The distribution of Platanus is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
9	The distribution of Quercus is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
10	The distribution of Poaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,749	Retain the null hypothesis.
11	The distribution of Asteraceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,076	Retain the null hypothesis.
12	The distribution of Rumex is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,446	Retain the null hypothesis.
13	The distribution of Salix is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
14	The distribution of Urticaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
15	The distribution of Alternaria is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
16	The distribution of Cladosporium is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is ,01.

Tabela 3.2. Comparação entre as distribuições polínicas e fúngicas dos anos de 2013 e 2014, pelo teste de Mann-Whitney.

Hypothesis Test Summary				
	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of Betulaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,057	Retain the null hypothesis.
2	The distribution of Amaranthaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,934	Retain the null hypothesis.
3	The distribution of Cupressaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
4	The distribution of Myrtaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
5	The distribution of Oleaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,002	Reject the null hypothesis.
6	The distribution of Pinaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,007	Reject the null hypothesis.
7	The distribution of Plantago is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,084	Retain the null hypothesis.
8	The distribution of Platanus is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
9	The distribution of Quercus is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
10	The distribution of Poaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,749	Retain the null hypothesis.
11	The distribution of Asteraceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,076	Retain the null hypothesis.
12	The distribution of Rumex is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,446	Retain the null hypothesis.
13	The distribution of Salix is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
14	The distribution of Urticaceae is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
15	The distribution of Alternaria is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
16	The distribution of Cladosporium is the same across categories of Ano.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is ,01.

Anexo IV

Tabela 4.1. Relação entre os esporos fúngicos e a venda de medicação antialérgica no ano 2012.

Rô de Spearman						
Correlações de coeficiente						
	Desloratadina	Ebastina	Cloridrato de fexofenadina	Diclororidrato de Levocetirizina	Dicloridrato de Cetirizina	Totais antialérgicos vendidos
<i>Alternaria</i>	0	0,812**	0,778*	0,900**	0,639	0,583
<i>Cladosporium</i>	0,117	0,711*	0,854**	0,833**	0,361	0,583

Níveis de significância: * $0,05 \geq p > 0,01$; ** $0,01 \geq p > 0,001$; *** $p \leq 0,001$

Tabela 4.2. Relação entre os esporos fúngicos e a venda de medicação antialérgica no ano 2013.

Rô de Spearman						
Correlações de coeficiente						
	Desloratadina	Ebastina	Cloridrato de fexofenadina	Diclororidrato de Levocetirizina	Dicloridrato de Cetirizina	Totais antialérgicos vendidos
<i>Alternaria</i>	-0,322	0,382	0,673*	0,189	-0,056	0,056
<i>Cladosporium</i>	-0,427	0,455	0,729**	-0,046	0,112	0,063

Níveis de significância: * $0,05 \geq p > 0,01$; ** $0,01 \geq p > 0,001$; *** $p \leq 0,001$

Tabela 4.3. Relação entre os esporos fúngicos e a venda de medicação antialérgica no ano 2014.

Rô de Spearman						
Correlações de coeficiente						
	Desloratadina	Ebastina	Cloridrato de fexofenadina	Diclororidrato de Levocetirizina	Dicloridrato de Cetirizina	Totais antialérgicos vendidos
<i>Alternaria</i>	-0,071	0,679	0,901**	0,286	0,500	0,357
<i>Cladosporium</i>	0,179	0,643	0,811*	0,821*	0,643	0,536

Níveis de significância: * $0,05 \geq p > 0,01$; ** $0,01 \geq p > 0,001$; *** $p \leq 0,001$

Anexo V

Tabela 5.1. Correlação de Spearman entre os vários tipos polínicos e os esporos fúngicos de *Alternaria* e *Cladosporium*.

	Spearman's rho	
	<i>Alternaria</i>	<i>Cladosporium</i>
Betulaceae	0,037**	0,022**
Amaranthaceae	0,222**	0,137**
Cupressaceae	0-,111**	-0,152**
Myrtaceae	0,103**	0,077**
Oleaceae	0,278**	0,277**
Pinaceae	0,122**	0,084**
<i>Plantago</i>	0,220**	0,200**
<i>Platanus</i>	0,094**	0,040**
Poaceae	0,401**	0,306**
<i>Quercus</i>	0,278**	0,225**
Asteraceae	0,171**	0,147**
<i>Rumex</i>	0,156**	0,126**
<i>Salix</i>	0,128**	0,046**
Urticaceae	0,163**	0,139**

Níveis de significância: * $0,05 \geq p > 0,01$; ** $0,01 \geq p > 0,001$; *** $p \leq 0,001$

Anexo VI

Tabela 6.1. Correlação de *Spearman* entre os vários tipos polínicos e o acesso ao Serviço de Urgência.

	Spearman's rho
	Acesso ao Serviço de Urgência
<i>Platanus</i>	,547
Urticaceae	,252
Asteraceae	-,008
<i>Salix</i>	,400
<i>Rumex</i>	,627
Betulaceae	-,029
Amaranthaceae	-,017
Poaceae	,059
<i>Quercus</i>	,286
<i>Plantago</i>	,101
Pinaceae	,468
Cupressaceae	,333
Oleaceae	,235
Myrtaceae	,342

Níveis de significância: * $0,05 \geq p > 0,01$; ** $0,01 \geq p > 0,001$; *** $p \leq 0,001$

Tabela 6.2. Correlação de *Spearman* entre os níveis de esporos de *Alternaria* e *Cladosporium* e o acesso ao Serviço de Urgência.

	Spearman's rho
	Acesso ao Serviço de Urgência
<i>Alternaria</i>	-,126
<i>Cladosporium</i>	,034

Níveis de significância: * $0,05 \geq p > 0,01$; ** $0,01 \geq p > 0,001$; *** $p \leq 0,001$



UNIVERSIDADE DE ÉVORA
INSTITUTO DE INVESTIGAÇÃO
E FORMAÇÃO AVANÇADA

Contactos:

Universidade de Évora

Instituto de Investigação e Formação Avançada - IIFA

Palácio do Vimioso | Largo Marquês de Marialva, Apart. 94

7002-554 Évora | Portugal

Tel: (+351) 266 706 581