

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. DESENHO DO ESTUDO**

Basicamente, o estudo efectuado tratou-se de um estudo observacional de tipo descritivo-correlacional e também de tipo correlacional. O estudo realizado foi, por um lado, um estudo de tipo descritivo porque consistiu em descrever simplesmente um fenómeno ou um conceito relativo a uma população, de maneira a estabelecer as características da população ou de uma amostra desta (FORTIN, 1999). Mais especificamente, consistiu em caracterizar, numa primeira parte, a aerobiologia de três localidades: Lisboa, Évora e Portimão, a aerobiologia de três tipos polínicos com importantes propriedades alérgicas: *Olea*, *Platanus* e *Poaceae*, e as condições meteorológicas dos anos de estudo. Numa segunda parte, caracterizou-se uma amostra de doentes com sensibilização ao pólen da Consulta Externa do Hospital do Espírito Santo de Évora – E.P.E, a sintomatologia dos doentes registada em inquéritos sintomatológicos por eles preenchidos e a venda de anti-histaminicos nas localidades de estudo (Lisboa, Évora e Portimão). Por outro lado, tratou-se de um estudo de tipo correlacional porque explorou e determinou a existência de relações entre variáveis, com vista a descrever essas relações, bem como a natureza (força e direcção) das relações que existem entre determinadas variáveis (FORTIN, 1999). Mais concretamente, examinou-se a relação entre as contagens polínicas e os parâmetros meteorológicos, a sintomatologia e as contagens polínicas, a venda de anti-histaminicos e as contagens polínicas, por análises de correlação de Spearman e análises de regressão linear múltiplas (MRLM).

Segundo FORTIN (1999) dentro dos estudos descritivos distinguem-se três categorias: os estudos descritivos simples, no qual se insere este estudo como já se indicou anteriormente, os estudos de caso, e os inquéritos. Este estudo também se engloba neste último tipo, mais propriamente nos inquéritos epidemiológicos, uma vez que, parte da actividade de investigação no decurso deste trabalho baseou-se na recolha de dados junto de uma população seleccionada de doentes sensibilizados a pólen. Os inquéritos epidemiológicos também se encontram divididos em categorias “segundo o tempo”: 1) prospectivos, 2) retrospectivos e 3) transversais (FORTIN, 1999). O estudo aqui apresentado é quer do tipo inquérito prospectivo, quer do tipo retrospectivo. É do tipo retrospectivo porque quando as actividades de investigação deste trabalho deram

início já existiam observações que foram registadas no passado (dados clínicos de 2001 a 2005) e é prospectivo porque deu-se continuidade ao registo dessas observações até 2007.

A Figura 3.1 mostra, de uma forma resumida, o esquema do desenho metodológico do estudo.

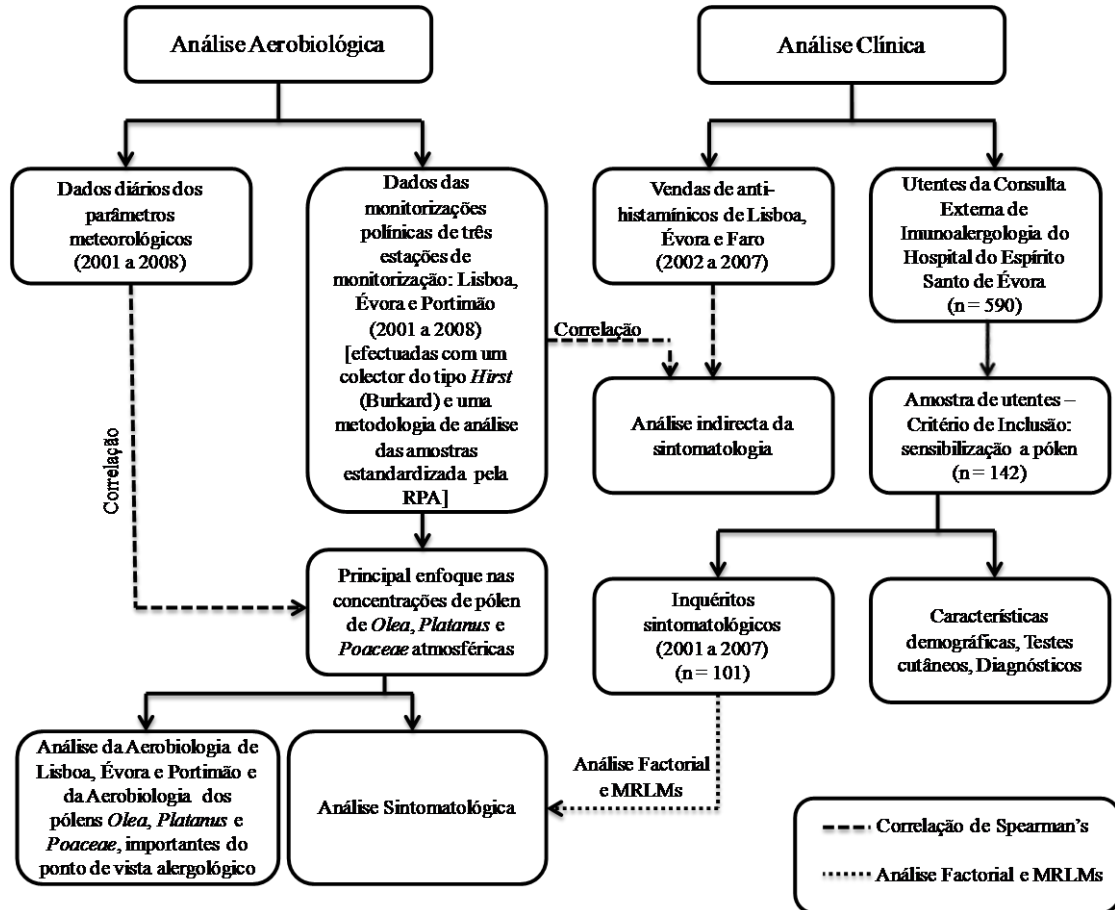


Figura 3.1: Esquema do Desenho Metodológico do Estudo.

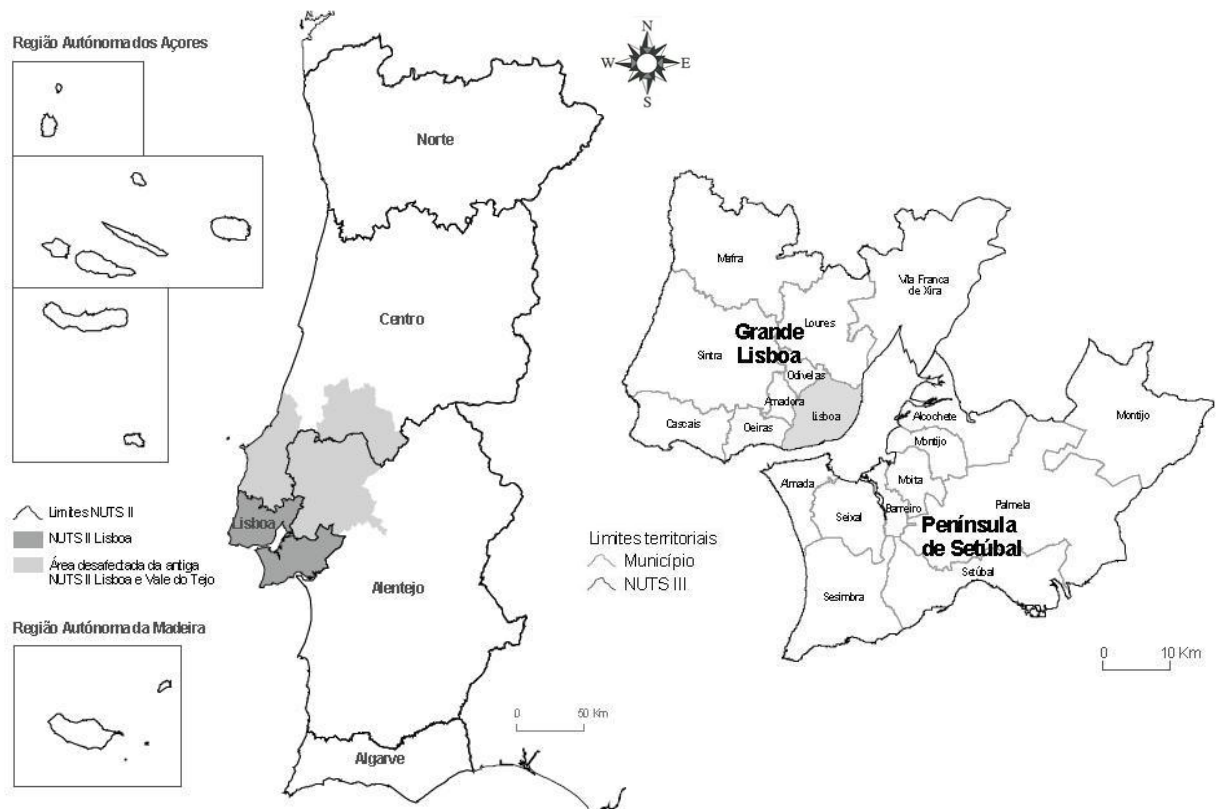
## 3.2. CARACTERIZAÇÃO BIOFÍSICA DAS ÁREAS DE ESTUDO

Neste trabalho as áreas de objecto de estudo foram Lisboa, Évora e Portimão, situadas a Sudoeste (SW) da Península Ibérica, no Sul de Portugal.

### 3.2.1. Área de Estudo de Lisboa

#### 3.2.1.1. Situação geográfica

A cidade de Lisboa localiza-se na região da Estremadura (Figura 3.2) e situa-se a 38° 43' N e 9° 08' W à altitude média de 55 m acima do nível do mar.



**Figura 3.2-** Localização geográfica da área de estudo de Lisboa. Mapa da divisão territorial de Portugal por regiões NUTS II e Mapa da divisão territorial da região NUTS II de Lisboa (Adaptados e modificados da Direcção Regional de Lisboa, 2009 in *Anuário Estatístico da Região Lisboa 2008*, Instituto Nacional de Estatística, Lisboa).

O relevo, na região da Grande Lisboa é muito variado, com zonas de altitudes relativamente elevadas e declives acentuados (ex.: serra de Sintra com 490 m, da

Carregueira com 300 m, e colinas a norte de Loures), em contraste, com zonas baixas e planas (ex.: faixa junto ao Tejo, e baixa de Loures) ou com zonas de “baixo planalto” (ex.: Rio de Mouro, Algueirão, Terrugem, Pêro Pinheiro). Com exceção da Serra de Sintra, as encostas que drenam para o estuário e para o oceano apresentam-se com declives suaves a moderados.

### **3.2.1.2. Bioclimatologia**

Em termos de bioclima, Lisboa, apresenta um Macrobioclima Mediterrânico Pluviestacional – Oceânico que se caracteriza por fracas amplitudes térmicas e pela presença de um período seco bem definido, que corresponde ao Verão, bem como por uma grande irregularidade pluviométrica anual e interanual. Em relação ao piso bioclimático, Lisboa inserem-se no piso Termomediterrânico (Tm) superior de ombroclima sub-húmido (GOMES, 1998; COSTA *et al.*, 1998; RIVAS-MARTINEZ, 1999; RIVAS-MARTÍNEZ *et al.*, 2004).

### **3.2.1.3. Biogeografia**

Lisboa, de acordo com RIVAZ-MARTÍNEZ *et al.* (2004) e COSTA *et al.* (1998) do ponto de vista biogeográfico pertence ao:

REINO HOLÁRTICO

Região Mediterrânica

Sub-região Mediterrânica Ocidental

Superprovíncia Mediterrânica Ibero-Atlântica

Província Gaditano-Onubo-Algarviense

Sector Divisório Português

Subsector Oeste-Estremenho

Superdistrito Olissiponense

### **3.2.1.4. Paisagem**

Na área da Grande Lisboa verifica-se a predominância de espaços urbanos e suburbanos, bem como de equipamentos e infra-estruturas na zona de Lisboa e sua

envolvente, nos locais envolventes existem áreas de florestas mistas de folhosas e resinosas, zonas de floresta degradada, terras com culturas de sequeiro e policultura associada a culturas permanentes, eucaliptais e matos (MAGRO, 2001). Próximo do local de amostragem, encontra-se um jardim, o jardim do Hospital Dona Estefânia, com choupos, eucaliptos, ciprestes, palmeiras, oliveiras, pinheiros, freixos, amoreira, acácia, entre outras árvores ornamentais e com plantas infestantes, tais como, gramíneas, azedas, entre outras. Nos passeios das ruas próximas do Hospital, encontram-se numerosos choupos (*Populus* spp.) e algumas oliveiras.

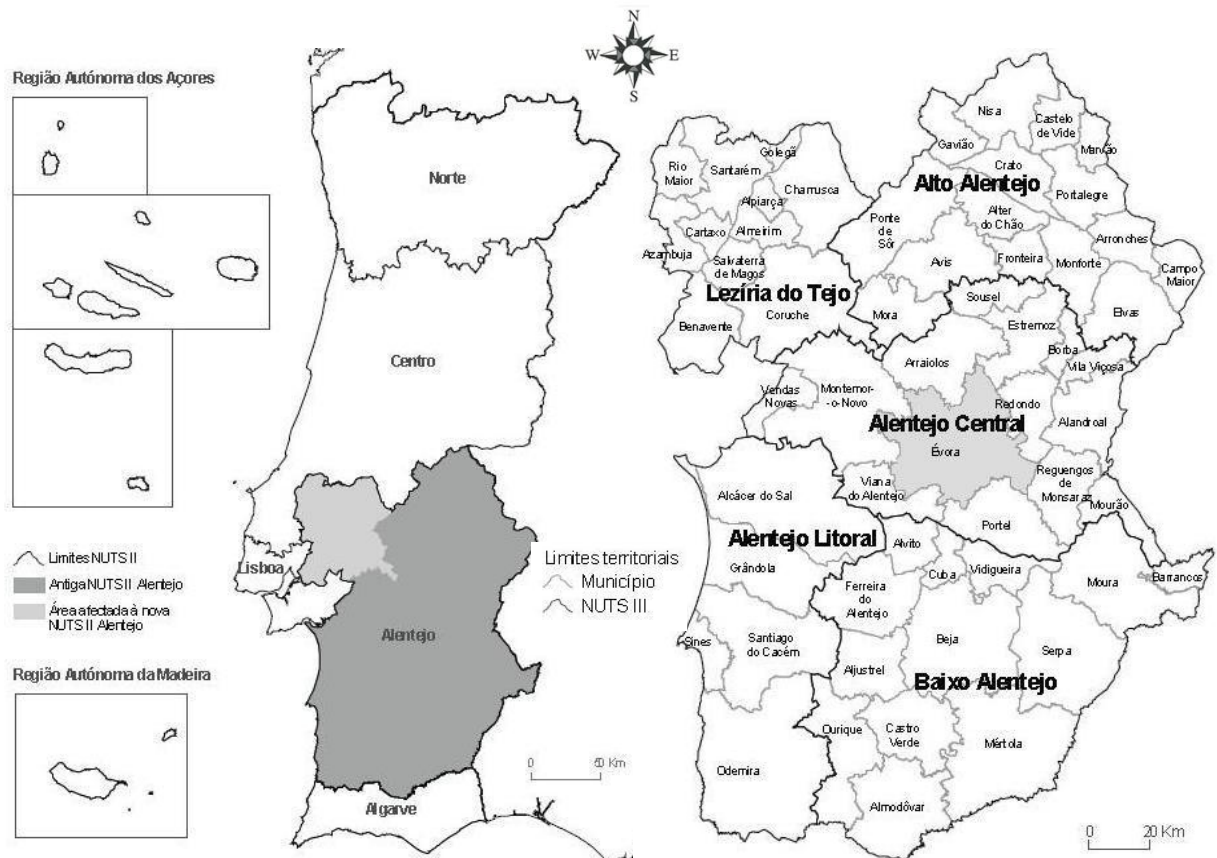
### **3.2.1.5. Climatologia**

O Clima da área de estudo de Lisboa é Temperado Mediterrâneo. De uma maneira geral, o clima, na Área Metropolitana de Lisboa Norte, é ameno, com características marítimas dominantes observando-se uma certa diferenciação, marcada essencialmente pela proximidade ao litoral, na “fachada atlântica”, que sofre uma forte influência das massas de ar oceânico. Por exemplo, na Serra de Sintra observam-se menores temperaturas médias anuais e também menores amplitudes que ao longo da Costa do Sol que são encostas protegidas dos ventos dominantes e com excelente exposição ao sol. A precipitação é mínima na extremidade ocidental (menor que 500mm), subindo para 1000 mm na Serra de Sintra e fica entre os 600 e 800 mm na maior parte da superfície abrangida por este grupo de paisagens da Área Metropolitana de Lisboa Norte (CANCELA D’ABREU *et al.*, 2004).

### 3.2.2. Área de Estudo de Évora

#### 3.2.2.1. Situação geográfica

A cidade de Évora localiza-se na região do Alentejo, mais precisamente na região do Alentejo Central (Figura 3.3) da qual é capital e situa-se a 38° 34' N e 7° 54' W à altitude média de 300 m acima do nível do mar.



**Figura 3.3:** Localização geográfica da área de estudo de Évora. Mapa da divisão territorial de Portugal por regiões NUTS II e Mapa da divisão territorial da região NUTS II do Alentejo (Adaptados e modificados da Direcção Regional do Alentejo, 2009 in *Anuário Estatístico da Região Alentejo 2008*, Instituto Nacional de Estatística, Lisboa).

O distrito de Évora ocupa parte das bacias hidrográficas dos rios Tejo, Sado e Guadiana. É predominante constituído por extensas áreas planas e onduladas (peneplanície) com cotas entre os 200 e 400 m, com vales de reduzida dimensão (fundos aluviais) nas principais linhas de água com cotas inferiores a 200 m, e com alguns acidentes físicos – Serras de Monfurado, Ossa, Portel e outras zonas com relevo bastante acentuado (cotas acima dos 400 m).

### **3.2.2.2. Bioclimatologia**

Em termos de bioclima, Évora apresenta um Macrobioclima Mediterrânico Pluviestacional – Oceânico e, insere-se no piso bioclimático Mesomediterrânico (Mm) inferior sub-húmido inferior (GOMES, 1998; RIVAS-MARTINEZ, 1999; RIVAS-MARTÍNEZ *et al.*, 2004;).

### **3.2.2.3. Biogeografia**

Évora, de acordo com RIVAS-MARTINEZ (1999), RIVAS-MARTÍNEZ *et al.* (2004) e COSTA *et al.* (1998) do ponto de vista biogeográfico pertence ao:

REINO HOLÁRTICO

Região Mediterrânica

Sub-região Mediterrânica Ocidental

Superprovíncia Mediterrânica Ibero-Atlântica

Província Luso-Extremadurensis

Sector Mariânico-Monchiquense

Subsector Araceno-Pacense

Superdistrito Alto Alentejano

### **3.2.2.4. Paisagem**

Em relação à paisagem que envolve a cidade de Évora, esta é constituída principalmente por montados de sobro e azinho, em distintos estados de conservação, mas também por olivais (alguns em regime extensivo e intensivo), pinhais, eucaliptais, vinhas, culturas cerealíferas e alguma vegetação ribeirinha (AMDE- PIDDEV, 1990; BRANDÃO, 1996; PINTO-GOMES, 1997).

Em Évora, próximo do local de amostragem encontra-se um jardim com ciprestes (*Cupressus* spp.), citrinos (*Citrus dulcis*) e laurotino (*Viburnum tinus*), e nas paredes e muros alfavaca (*Parietaria* spp.).

### **3.2.2.5. Climatologia**

O Clima da área de estudo de Évora é tipicamente Mediterrânico, com invernos suaves, verões quentes, secos e prolongados. Os meses chuvosos são: Setembro a Maio, com a maioria da precipitação sob a forma de aguaceiros torrenciais. O Clima Mediterrânico caracteriza-se por uma enorme variabilidade, apresentando alternância entre períodos secos e chuvosos de uma forma aleatória, porém, com uma predominância dos períodos secos. Os períodos secos ou chuvosos tanto podem corresponder a anos isolados, como a grupos, que chegam a atingir os seis anos (VENTURA, 1994). Verificam-se diferenças significativas pluviométricas inter e intranuais, resultando em, por exemplo, Invernos muito chuvosos e Primaveras muito secas, ou vice-versa.

O Clima do distrito de Évora é Mediterrânico do tipo continental. Apresenta uma prolongada e bem marcada estação seca de Verão e amplitudes térmicas elevadas, sobretudo na faixa interior. Os Invernos são moderadamente chuvosos e moderados a frescos (com temperaturas médias do mês mais frio que rondam os 8°C – 9°C; 2°C a 4°C de média das mínimas do mês mais frio; 10 a 30 dias do ano com temperatura mínima inferior a 0°C; precipitação entre 600 e 700 mm). Os Verões são quentes a muito quentes em todo o distrito Évora, o mês de Julho apresenta máximas de 32,7°C e 137,5 dias com temperatura máxima superior a 25°C (PIDDEV, 1990; CANCELA D'ABREU *et al.*, 2004).

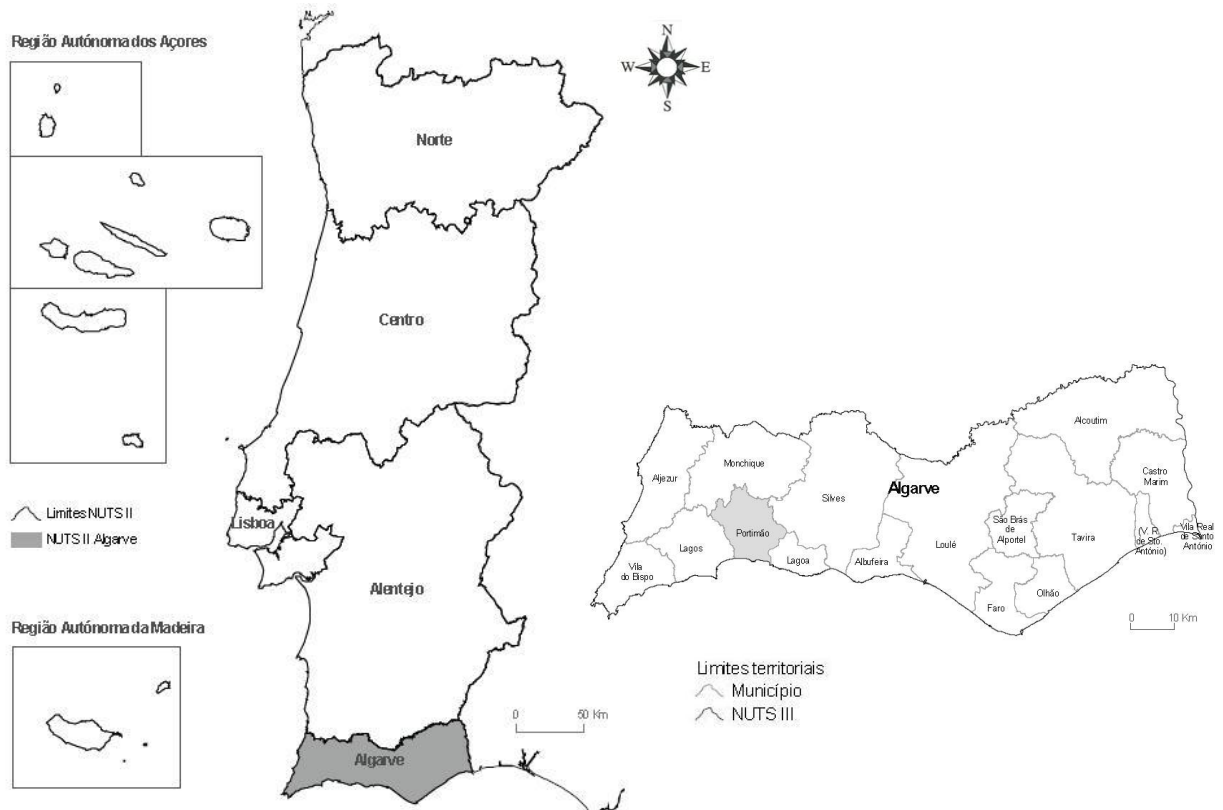
Segundo a classificação de Koppen, o clima do distrito de Évora é designado como mesotérmico húmido, de verão quente e seco (RIBEIRO *et al.*, 1988; PIDDEV, 1990).



### 3.2.3. Área de Estudo de Portimão

#### 3.2.3.1. Situação geográfica

A cidade de Portimão localiza-se na região do Algarve (Figura 3.4) e situa-se a 37° 8' N e 8° 32' W à altitude média de 20 m acima do nível do mar.



**Figura 3.4:** Localização geográfica da área de estudo de Portimão. Mapa da divisão territorial de Portugal por regiões NUTS II e Mapa da divisão territorial da região NUTS II de Algarve (Adaptados e modificados da Direcção Regional do Algarve, 2009 in *Anuário Estatístico da Região Algarve 2008*, Instituto Nacional de Estatística, Lisboa).

#### 3.2.3.2. Bioclimatologia

Portimão apresentam um Macrobioclima Mediterrânico Pluviestacional – Oceânico e, insere-se no piso bioclimático Termomediterrânico (Tm) inferior seco inferior (GOMES, 1998; COSTA *et al.*, 1998; RIVAS-MARTINEZ, 1999; RIVAS-MARTÍNEZ *et al.*, 2004).

### **3.2.3.3. Biogeografia**

De acordo com GOMES (1998), RIVAZ-MARTÍNEZ *et al.* (2004) e COSTA *et al.* (1998) Portimão pertence biogeograficamente ao:

REINO HOLÁRTICO

Região Mediterrânica

Sub-região Mediterrânica Ocidental

Super-província Mediterrânica Ibero-Atlântica

Sub-província Gaditano-Onubo-Algarviense

Sector Algarviense

Subsector Algarviense

Superdistrito Algárvico

### **3.2.3.4. Paisagem**

Relativamente à paisagem que rodeia a cidade de Portimão, a paisagem do Barrocal algarvio, é constituída por bosques fragmentários de azinhais, carvalhais e suas etapas de substituição (medronhais, carrascais, sargaçais, tojais e tomilhais), que alternam com campos cultivados de alfarrobeiras, amendoeiras e oliveiras, intercalados, nos pontos de menor altitude, por cursos de água, frequentemente orlados de vegetação ribeirinha (freixais, salgueirais, tarmagais, loendrais e canaviais) e, nos pontos de maior altitude, por penhascos e escarpas rochosas, dominados por zimbrais, sobretudo na parte mais setentrional (GOMES, 1998).

Em Portimão, na area envolvente ao polinómetro encontram-se jardins e parques dominados por palmeiras, mas também com alguns pinheiros bravos, citrinos e oliveiras e incultos sub-urbanos dominado por ruderais nomeadamente gramíneas.

### **3.2.3.5. Climatologia**

O Clima da área de estudo de Portimão é tipicamente Mediterrânico, e também o de características mais oceânicas em Portugal. A região onde se localiza, apresenta um Verão quente (23°C-24°C); Invernos muito suaves (11,5°C); as chuvas anuais não

excedem os 350 – 500 mm (normal climatológica da localidade: 509,1 mm); 5 a 6 meses secos; forte humidade relativa e quase permanente; nebulosidade fraca todo o ano; trovoadas muito raras, sendo muito frequente a alternância diária da brisa da terra e do mar (RIBEIRO *et al.*, 1988).

### 3.3. ANÁLISE METEOROLÓGICA

Para a análise meteorológica, neste estudo, utilizaram-se os dados diários dos parâmetros meteorológicos, representados na Tabela 3.1, dos anos de estudo (2002 a 2008) da cidade de Lisboa, (2001 a 2008) da cidade de Évora e (2002 a 2008) da cidade de Portimão. Os valores dos vários parâmetros meteorológicos utilizados provêm do Instituto Nacional de Meteorologia e Geofísica. Os valores em falta encontram-se discriminados nas tabelas em ANEXO I.

**Tabela 3.1:** Parâmetros meteorológicos utilizados.

Parâmetros meteorológicos	Unidades
Temperatura máxima do ar	°C
Temperatura média do ar	°C
Temperatura mínima do ar	°C
Humidade relativa média	%
Precipitação	mm
Radiação Global Total	KJ m <sup>-2</sup>
Insolação	h
Velocidade média do vento	m s <sup>-1</sup>
Direcção predominante do vento 1=NE ; 2=E ; 3=SE ; 4=S ; 5=SW ; 6=W ; 7=NW ; 8=N ; 0=Calma	
Frequência de ventos provenientes da direcção Nordeste (NE)	
Frequência de ventos provenientes da direcção Este (E)	
Frequência de ventos provenientes da direcção Sudeste (SE)	
Frequência de ventos provenientes da direcção Sul (S)	
Frequência de ventos provenientes da direcção Sudoeste (SW)	
Frequência de ventos provenientes da direcção Oeste (W)	
Frequência de ventos provenientes da direcção Noroeste (NW)	
Frequência de ventos provenientes da direcção Norte (N)	
Frequência de Calma	

Para a estação de amostragem Portimão não se analisou o parâmetro insolação, dado que nesta estação este parâmetro não é medido pelo Instituto Nacional de Meteorologia e Geofísica.

### **3.4. ANÁLISE AEROPALINOLÓGICA**

#### **3.4.1. Recolha da Amostra**

##### **Método Hirst**

Para o estudo utilizaram-se os captadores volumétricos utilizados pela Rede Portuguesa de Aerobiologia para a monitorização de grãos de pólen e esporos de fungos presentes nas atmosferas das localidades de Lisboa, Évora e Portimão, captadores cuja metodologia assenta na metodologia de *Hirst*.

O modelo utilizado foi um *Burkard Seven Day Volumetric Spore-trap*® (Figura 3.5), o qual, consiste num colector de impacto por sucção sendo os resultados expressos sob a forma de número de grãos de pólen/esporos por metro cúbico de ar.

Na estação de amostragem de Lisboa (38° 43' N; 9° 08' W), o captador situa-se no Hospital Dona Estefânia a 20 metros de altura do solo. Na estação de amostragem de Évora (38° 34' N, 7° 54' W) situa-se na Estação Meteorológica do Instituto Nacional de Meteorologia e Geofísica (INMG), a 17 metros de altura do solo, no ponto mais elevado do Centro Histórico da cidade de Évora (BRANDÃO, 1996). Na estação de amostragem de Portimão (37° 8' N, 8° 32' W), o captador utilizado situa-se no Centro de Imunoalergologia do Algarve, a aproximadamente 4 metros de altura do solo.

O polinómetro de tipo *Hirst* (versão comercial *Burkard Seven Day Volumetric Spore-trap*®, Rickmansworth, Herst., Reino Unido) é um aparelho de metal constituído essencialmente por 3 unidades:

- unidade ou secção de impacto;
- um cata-vento; e
- um motor.

O aparelho tem uma bomba de vácuo que aspira 10 litros de ar por minuto (quantidade similar à que inspira o homem), uma unidade de impacto, que compreende o orifício e o mecanismo rotativo (um tambor rotativo), e um cata-vento que orienta o aparelho na direcção do vento. O tambor rotativo é a unidade do aparelho onde é colocada uma fita (cinta) previamente impregnada com uma substância adesiva, substituída semanalmente, através da qual são obtidas as amostras. O ar aspirado penetra por um orifício (14 x 2 mm) e sofre impacto sobre uma superfície (cinta de Melinex) previamente impregnada dum substância adesiva - silicone líquido

(substância cujas características físicas permanecem inalteráveis entre -20° e 150°C, sendo, além disso, muito fácil de aplicar). Esta superfície está colocada num sistema que gira (tambor rotativo), devido a um mecanismo de relojoaria, a uma velocidade de 2 milímetros por hora e que está exposta ininterruptamente durante 7 dias seguidos, no final dos quais é substituída por uma outra. Esta troca deve ser simples e rápida para prevenir eventuais contaminações (Figura 3.6).

Ao utilizar-se o colector do tipo de *Hirst*, as amostras podem ser obtidas quer diariamente, quer semanalmente. A fita tem cerca de 336 mm de comprimento que corresponde aos 7 dias da semana, e ao cortar-se a fita em 7 fragmentos, todos iguais, obtêm-se amostras diárias, com cerca de 48 mm de comprimento. Para facilitar o tratamento laboratorial, marca-se o início e o fim do período amostral na fita, com o auxílio de um instrumento pontiagudo ou cortante.

Cada um dos fragmentos é colocado sobre uma lâmina e corado com uma solução de glicerino-gelatina com fucsina básica. O objectivo deste corante é corar os grãos de pólen presentes na amostra. Com a ajuda de um microscópio identificam-se e quantificam-se os grãos de pólen presentes na preparação.

A metodologia seguida neste estudo é a padronizada pela Rede Portuguesa de Aerobiologia – RPA e que segue as recomendações da *International Association for Aerobiology* - IAA.

Em cada estação de amostragem a substituição do tambor foi efectuada semanalmente, em geral, realizada pelo mesmo operador, e à mesma hora.

A preparação dos tambores para substituição foi realizada no Laboratório de Palinologia da Universidade de Évora e estes foram enviados por correio para os locais de amostragem, de Lisboa e de Portimão, em caixas próprias para o efeito, devidamente acondicionadas para não sofrerem danos durante o transporte. Nos locais de amostragem, o operador seguia os passos descritos na ficha de substituição que ia sempre a acompanhar o tambor, e substituída o tambor que se encontrava no colector com a amostra por um outro para nova recolha. A substituição foi efectuada sempre de forma rápida para evitar contaminações. Dos locais de amostragem, de Lisboa e Portimão, os tambores contendo as amostras foram enviados por correio para o mesmo laboratório onde se procedeu à análise das amostras enviadas.



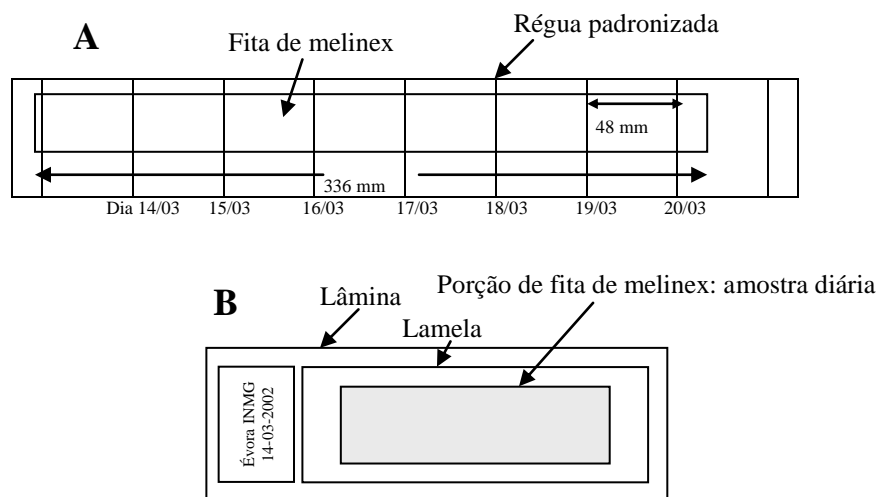
**Figura 3.5:** *Burkard Seven Day Volumetric Spore-trape*®.



**Figura 3.6:** Substituição do tambor de amostragem.

### **3.4.2. Processamento das Amostras**

Após a colecta das amostras, nos locais respectivos, o seu processamento efectuou-se no Laboratório de Palinologia da Universidade de Évora. Antes de se iniciar o processo começou-se por desinfectar todo o material a utilizar com álcool etílico, em seguida retirou-se, com o auxílio de um “porta-tambor”, a fita de Melinex que continha a amostra que se encontrava colocada no tambor. A fita foi colocada sobre uma régua transparente apropriada (Figura 3.7A), fabricada para este fim, que veio da fábrica juntamente com o colector. Procedeu-se ao corte da fita em 7 fragmentos, cada um com 48 mm (cada um corresponde a 24 horas). Cada segmento de fita foi colocado numa lâmina devidamente etiquetada (com o nome da estação de amostragem e com a data correspondente ao dia da amostra) e com uma gota de água no centro, com o objectivo de aumentar a aderência do fragmento da fita à lâmina. Em cada fragmento de fita aplicaram-se 2 a 3 gotas de uma solução de glicerogelatina com fucsina básica, previamente aquecida, para corar os grãos de pólen nela contidos e, para fixar sobre a fita a lamela. Uma vez a solução corante solidificada sobre a amostra, selaram-se com verniz os bordos das preparações com as amostras, obtendo-se, assim, preparações com amostras definitivas (Figura 3.7B).



**Figura 3.7:** A: Régua padronizada utilizada para o corte das amostras e a fita de melinex aonde ficam contidas as partículas aéreas; B: Preparação com uma amostra diária.

No final do processo de preparação das amostras, limpou-se com álcool etílico o tambor e o "porta-tambor" com o objectivo de eliminar eventuais partículas



atmosféricas que possam ter ficado agarradas a estas estruturas e, desta forma, prevenir uma eventual contaminação da amostra seguinte. Posteriormente, colocou-se uma nova fita no tambor para nova amostragem e impregnou-se com a solução de silicone.

As Figuras 3.8 e 3.9 ilustram praticamente todo o material de laboratório utilizado para o processamento e análise das amostras.



**Figura 3.8:** Material laboratorial utilizado para o processamento das amostras



**Figura 3.9:** Material laboratorial utilizado para a análise das amostras.

### **3.4.3. Análise Quantitativa da Amostra**

A leitura da preparação contendo a amostra (identificação e quantificação das partículas polínicas) foi efectuada ao microscópio óptico, e dado que é um processo moroso, normalmente realiza-se uma sub-amostragem na preparação. Neste trabalho, como o sistema leitura, utilizou-se o sistema das 4 linhas longitudinais, sistema utilizado pela RPA e pela maioria das redes europeias. Este sistema foi desenvolvido pelo Departamento de Biologia Vegetal da Universidade de Córdoba para a REA, e consiste em percorrer na horizontal 4 linhas no centro da lâmina, utilizando-se uma ampliação de 400x (ocular de 10x e objectiva de 40x), o que significa que se leu aproximadamente cerca de 13 % da preparação. O procedimento utilizado foi o seguinte: a) recortou-se um segmento da folha de acetato da dimensão de uma lâmina de microscópio; b) traçaram-se 25 linhas transversais no segmento da folha de acetato, separadas entre si por 2 mm; c) colocou-se o segmento sob a lâmina, o primeiro intervalo de 2 mm entre as primeiras 2 linhas representa a hora do dia em que se iniciou a recolha das partículas transportadas pelo ar. O intervalo entre as linhas corresponde a uma hora de amostragem; d) assumindo-se que as partículas polínicas estavam uniformemente distribuídas ao longo da fita, marcaram-se 4 pontos ao centro, próximos da primeira linha do acetato. e) colocou-se a objectiva sobre um dos pontos e percorreu-se 48 mm de cada amostra diária ao longo da lâmina (como se se traça-se uma linha longitudinal com a objectiva) e repetiu-se este processo para os três outros pontos marcados; f) por cada 2 mm (uma hora de amostragem) da linha percorrida registaram-se os grãos de pólen identificados e a sua respectiva quantidade numa tabela com separação horária; g) após a leitura, calculou-se os totais para cada um dos tipos polínicos encontrados e os dados obtidos foram estimativas dos verdadeiros valores; h) no final converteram-se os dados a grãos de pólen por metro cúbico de ar utilizando-se o factor de conversão, que no caso foi 0,54, que se calculou através da seguinte fórmula:

**N.º de grãos de pólen/ m<sup>3</sup> = N.º total de grãos de pólen x Factor de conversão**

**N.º de grãos de pólen/ m<sup>3</sup> = N.º total de grãos de pólen x  $\frac{\text{Comprimento da fita} \times \text{Largura da fita}}{(\text{Medida do campo óptico} \times \text{Comp. da fita} \times \text{N.º de linhas}) \times \text{Fluxo de ar}}$**

**N.º de grãos de pólen/ m<sup>3</sup> = N.º total de grãos de pólen x 0,54**

Comprimento da fita = comprimento do segmento da fita = 48 mm

Largura da fita = largura do segmento da fita = 14 mm

Medida do campo óptico = 0,45 mm

N.º de linhas = 4

Fluxo de ar = 10L/ min = 14400 L/dia = 14,4 m<sup>3</sup>

#### **3.4.4. Análise Qualitativa da Amostra**

Para a identificação dos diversos tipos polínicos utilizou-se como apoio alguma bibliografia da especialidade: ABELLO (1980), SMITH (1984), SMITH (1986), MOORE *et al.* (1991), REILLE (1992) e ARIAS *et al.* (2002), a Palinoteca do Departamento de Biologia (coleção de pólenes de referência devidamente identificados e recolhidos a partir da flora da região) e o CD-ROM da RNSA - “*The Pollen Content of the air: Identification Key*”. Identificaram-se apenas os tipos polínicos de interesse alergológico e por conseguinte, os que não pertenciam a essa categoria foram colocados na categoria de “diversos” e os que não se conseguiram identificar foram colocados na categoria dos “indeterminados” (classe representada pelos símbolos “???” e NI”).

Para a terminologia polínica adoptou-se o “*Polen y Esporas*” de SAENZ DE RIVAS (1978), o “*Glossary of Pollen and Spore Terminology*” de PUNT *et al.* (1994), e o “*Pollen Terminology - An Illustrated Handbook*” de HESSE *et al.* (2009).

#### **3.4.5. Período de Estudo**

Para a realização deste estudo utilizaram-se os dados polínicos resultantes dos vários anos de monitorização. Para a estação de Évora procedeu-se à análise dos anos 2001-2008, enquanto que, para as estações de Lisboa e Portimão foram os anos 2002-2008. Em Évora, a monitorização dos níveis de pólen atmosférico teve início a 14 de Março de 2001, enquanto nas outras duas estações foi mais tarde; na estação de Lisboa iniciou-se a 17 de Fevereiro de 2002 e na estação de Portimão a 1 de Janeiro de 2002. A partir do momento em que o processo de monitorização polínica teve início, nestas estações, ele efectuou-se de forma contínua, sem interrupções, de Janeiro a Dezembro, com excepção naqueles períodos em que surgiram alguns problemas técnicos ou humanos. Esses períodos de tempo foram os seguintes:

❖ Estação de Amostragem de Lisboa

- Ano de 2002: (1/01 a 16/02, 9/10 a 11/10, 21/10 a 23/11, 24/12 a 27/12)
- Ano de 2003: (8/10 a 9/10, 15/10 a 16/10, 25/12 a 26/12)
- Ano de 2004: (1/12 a 3/12)
- Ano de 2005: (12/10 a 16/10)
- Ano de 2006: (21/02/ a 22/02, 5/03 a 8/03, 25/12 a 27/12)
- Ano de 2007: (10/10 a 31/10)

❖ Estação de amostragem de Évora:

- Ano de 2001: (1/01 a 13/03)
- Ano de 2002: (30/06 a 16/07, 24/09 a 1/10, 5/11 a 19/11)
- Ano de 2004: (31/03 a 8/04, 12/04 a 14/04, 10/05 a 11/05)
- Ano de 2005: (27/01 a 29/01, 18/10)
- Ano de 2006: (19/10 a 27/10)
- Ano de 2007: (25/03 a 28/03, 18/10 a 30/10)

❖ Estação de amostragem de Portimão:

- Ano de 2002: (15/01, 11/02 a 17/02, 10/03 a 24/03)
- Ano de 2003: (13/11 a 17/11, 20/11 a 2/12)
- Ano de 2004: (17/08 a 18/08, 24/08 a 26/08)
- Ano de 2007: (12/01 a 17/01, 20/06 a 23/06, 27/06 a 3/07, 17/10 a 22/10, 24/10 a 6/11)

Para o estudo do comportamento aerobiológico dos tipos polínicos aqui analisados: *Poaceae*, *Olea* e *Platanus* e dos restantes tipos polínicos, importante para a elaboração de calendários polínicos, utilizou-se o período de monitorização de 1 de Janeiro a 31 de Dezembro do mesmo ano. Para o estudo dos *taxa* invernais, *Cupressaceae* e *Urticaceae*, utilizou-se o período compreendido entre Outubro a Setembro de dois anos consecutivos.

### **3.5. ANÁLISE DOS RESULTADOS AEROBIOLÓGICOS**

#### **3.5.1. Período de Polinização Principal (PPP) vs Estação de Pólen Atmosférico Principal (EPAP)**

Para cada tipo polínico estabeleceu-se o Período de Polinização Principal (PPP). O PPP de um determinado *taxon* entende-se como “a época do ano em que se encontra suspenso na atmosfera a maior parte do pólen emitido pelo mesmo” (RODRÍGUEZ-RAJO, 2000). Ao estabelecer-se o PPP para cada tipo polínico todo o processo de manuseamento dos dados é muito mais fácil, pois desta forma elimina-se um grande número de dias em que a concentração polínica é mínima e/ou inclusivamente nula e que poderiam alterar os resultados.

Para a determinação do PPP, neste trabalho, utilizou-se o método descrito por NILSSON & PERSSON (1981) que estabelece que o PPP dum determinado *taxon* começa quando a soma das médias diárias polínicas alcança os 5% da quantidade de pólen total anual e finaliza quando alcança 95% da quantidade de pólen total anual, em suma, inclui 90% da quantidade de pólen total anual, eliminando 5% no princípio e 5% no final do período. Com este método eliminam-se os grãos alóctones de proveniência mais longínqua, que no princípio do período de polinização provêm daqueles locais onde a fenologia de floração da fonte polínica é mais precoce e que no fim do período provêm de locais cuja fenologia é mais tardia (MUÑOZ, 1998; MORENO-CORCHERO, 2001).

Ao longo deste trabalho resolveu-se substituir o termo “Período de Polinização Principal” pelo termo “Estação de Pólen Atmosférico Principal – EPAP” porque de acordo com os autores JATO *et al.* (2006) é a terminologia mais correcta.

Para a determinação do período da EPAP, para cada um dos tipos polínicos seleccionados, utilizaram-se os valores das concentrações polínicas diárias por metro cúbico de ar, desde 1 de Janeiro a 31 de Dezembro, com excepção, para os tipos polínicos de polinização fundamentalmente invernal: Cupressaceae, *Urtica* e *Parietaria* para os quais se utilizaram os dados desde 1 de Outubro de um ano até 31 de Setembro do ano seguinte.

### **3.5.2. Variação Intradiária (ou Intradivina)**

A libertação de pólen pelas plantas apresenta ritmos sazonal e diurno, estando este último maioritariamente presente durante a EPAP da planta. Geralmente, quando os primeiros grãos de pólen são libertados no ar o ritmo diurno é pequeno ou não é marcado e o mesmo acontece no fim da polinização (LAAIDI & THIBAUDON, 2002).

A variação intradiária representa a variação das concentrações de um determinado tipo polínico, ao longo de 24 horas. Neste estudo analisou-se a variação intradiária dos tipos polínicos: *Olea*, *Platanus* e *Poaceae*. Para se estimar a variação horária de cada tipo polínico utilizou-se o método proposto por GALÁN *et al.* (1991), em que se seleccionam aqueles dias em que não se registou precipitação e que apresentaram valores médios iguais ou superiores ao valor da média alcançada durante a EPAP (GALÁN *et al.*, 1991; RODRÍGUEZ-RAJO, 2000; AIRA *et al.*, 2001). Os dados são apresentados num gráfico com a percentagem de pólen observada para cada hora do dia.

Procedeu-se também ao cálculo do IDI (Índice de Distribuição Intradivina) pelo método utilizado por TRIGO *et al.* (1997) que usa os valores máximo e mínimo das contagens horárias dos dias considerados e a seguinte fórmula:

$$IDI = (M - m) / T,$$

onde M é o valor máximo obtido num determinado intervalo de tempo, m o valor mínimo e T é o valor total.

O valor deste índice encontra-se compreendido entre 0 e 1 e depende da distribuição das concentrações de pólen ao longo do dia.

### **3.5.3. Análise da Influência dos Parâmetros Meteorológicos sobre as Concentrações Polínicas Atmosféricas Diárias**

Para a análise da influência dos parâmetros meteorológicos sobre as concentrações polínicas atmosféricas dos tipos polínicos *Poaceae*, *Olea* e *Platanus* presentes na atmosfera de Évora efectuaram-se testes não-paramétricos de correlação de Spearman entre os valores diários de cada um dos parâmetros meteorológicos e as concentrações médias diárias alcançadas para cada tipo polínico. As análises de

correlação foram efectuadas através do programa SPSS Statistics 17.0, e considerou-se estatisticamente significativas aquelas correlações com  $p < 0,05$ .

Os parâmetros meteorológicos utilizados neste estudo foram os seguintes:

- Temperatura máxima, média e mínima do ar (°C);
- Humidade relativa média (%);
- Total da quantidade de precipitação (mm);
- Radiação global total (KJ/m<sup>2</sup>);
- Insolação: Total da duração de insolação (h)
- Intensidade média do vento ou velocidade média do vento (m/s); e
- Rumo predominante do vento (oito rumos: 1=NE; 2=E; 3=SE; 4=S; 5=SW; 6=W; 7=NW; 8=N; 0=Calma)

Correlacionaram-se os dados diários de diferentes intervalos de tempo: os dados de anos inteiros, os dados da EPAP, os dados do período pré-pico e os dados do período pós-pico. Em qualquer dos casos analisaram-se anos independentemente e também de forma conjunta.

#### **3.5.4. Estudo Comparativo**

Através da utilização de testes não-paramétricos: ANOVA de Friedman e teste de Wilcoxon do programa de estatística SPSS 17.0, comparam-se os dados da EPAP e da variação intradiária dos tipos em análise, das várias estações de monitorização, no sentido de averiguar se os dados diferiam entre as estações de monitorização e se dentro de cada estação diferiam de ano para ano.

#### **3.5.5. Análise dos Níveis de Exposição aos Pólens: Olea, Platanus e Poaceae**

A severidade da estação foi estabelecida para o pólen de Poaceae:

1) como o n.º de dias em que as concentrações médias diárias ultrapassaram os 25 grãos de pólen/m<sup>3</sup>, valor indicado pela REA (GALÁN *et al.*, 2007), como

concentração a partir da qual já se considera que existe um risco elevado de exposição a este pólen causando sintomatologia nos indivíduos alérgicos; e

2) usando a escala de CAN (BELMONTE *et al.*, 2000): n.º de semanas do ano para cada nível de risco (nível 0: risco nulo ou sem risco, 0 grãos de pólen/ m<sup>3</sup>/ semana; nível 1: baixo risco, 0,1 – 4,9 grãos de pólen/ m<sup>3</sup>/ semana; nível 2: risco médio, 5-19,9 grãos de pólen/ m<sup>3</sup>/ semana; nível 3: risco elevado, 20-29,9 grãos de pólen/ m<sup>3</sup>/ semana e nível 4: risco muito elevado, > 30 grãos de pólen/ m<sup>3</sup>/ semana);

E para os pólenes de *Olea* e de *Platanus*:

1) Usando as classes propostas pela REA (GALÁN *et al.*, 2007) para estes 2 pólenes de árvores: o n.º de dias com concentrações inferiores a 50 grãos de pólen/ m<sup>3</sup> (baixo risco), 51-200 grãos de pólen/ m<sup>3</sup> (risco moderado), superiores a 200 grãos de pólen/ m<sup>3</sup> (risco elevado); e

2) como o número de dias com concentrações superiores a 400 grãos de pólen/ m<sup>3</sup>, concentração indicada pelos investigadores FLORIDO *et al.* (1999) suficiente para desencadear leves sintomas de rinite sazonal em indivíduos sensibilizados.



### **3.6. ANÁLISE CLÍNICA**

Os dados clínicos utilizados neste trabalho foram gentilmente e gratuitamente cedidos pela Dr.<sup>a</sup> Maria Luisa Lopes, médica responsável pela Consulta Externa de Imunoalergologia do Hospital do Espírito Santo de Évora e a análise dos dados contou com todo o seu apoio pessoal.

#### **3.6.1. Estudo Alergológico e Análise Sintomatológica**

##### **3.6.1.1. Testes cutâneos em “prick” modificado**

Dos 590 doentes que frequentaram a Consulta de Imunoalergologia do Hospital do Espírito Santo de Évora seleccionaram-se 142 doentes por apresentarem sensibilização aos pólenes (polinose). Aos doentes seleccionados avaliaram-se os seguintes parâmetros: idade, sexo, resultados dos testes cutâneos de alergia e quadro clínico.

O estudo alergológico dos doentes foi realizado através de testes cutâneos de alergia, por método *prick* modificado, com extractos alergénicos dos principais tipos polínicos da região. Os testes cutâneos foram efectuados por uma médica, pela Dr.<sup>a</sup> Luísa Lopes, com auxílio de uma enfermeira, e foram realizados de acordo com as normas internacionais (DREBORG & FREW, 1993). Os extractos polínicos incluíram: pólenes de gramíneas [Mistura de gramíneas, Mistura de cereais, *Dactylis glomerata*, *Hordeum bulbosum*, *Phleum pratense*, *Poa pratensis*, *Lolium perenne*, *Avena sativa*, *Festuca elatior*, *Secale cereale*, *Zea mays* e *Triticum aestivum* (Leti, Espanha)], pólenes de árvores e arbustos [(*Quercus ilex*, *Quercus suber*, *Olea europaea*, *Alnus glutinosa*, *Fraxinus excelsior* (Bial, Portugal)), *Cupressus arizonica*, *Platanus occidentalis*, *Robinia pseudoacacia*, *Pinus* sp., *Chenopodium album*., *Ligustrum* sp., *Eucalyptus globulus* (Leti, Portugal)] e pólenes de herbáceas [*Plantago lanceolata*, *Rumex acetosella*, *Parietaria judaica* e *Urtica dioica* (Leti, Portugal)]. Como referência positiva utilizou-se Histamina a 10 mg/ ml (Leti, Portugal) e como referência negativa uma solução de soro salino fenolado (Leti, Portugal), não se encontrando qualquer positividade com esta referência. Utilizaram-se lancetas metálicas standardizadas de aplicação perpendicular na pele com 1 mm de penetração (Prick Lancetter, STALLERGENES, Portugal). O teste cutâneo foi considerado positivo se pápula com

diâmetro médio igual ou superior ao da pápula da histamina e a pápula da histamina tinha que ser sempre igual ou superior a 3 mm (Figuras 3.10 a 3.13).



**Figura 3.10:** Material utilizado para a realização dos testes cutâneos.



**Figura 3.11:** Extractos polínicos: mistura de gramíneas, mistura cereais, *Olea europaea* e *Platanus occidentalis* (Leti, Espanha) e lanceta metálica (Prick Lancetter, STALLERGENES).



**Figura 3.12:** Testes cutâneos positivos aos vários extractos de pólen de gramíneas num doente com polinose.

HOSPITAL DO ESPÍRITO SANTO DE ÉVORA  
Consulta de Imunoalergologia

**PROVAS DE SENSIBILIDADE CUTÂNEA (Desdobramento gramíneas)**

Identificação: 20149276 N.º: 1113811  
CARLOS ALBERTO BELTRITE CAELIRO  
Data Nascimento: 06/1999 Placoz Lino Rente  
RUA GAZETA EDUARDO 26 A TO OLEGA  
ÉVORA Tel: 266 721976  
7000 OLEGA  
Fil: 4  
NISE - ASSISTÊNCIA MÉDICA SEMIÓRFES E3 H.0095341085

Diagnóstico: \_\_\_\_\_

8A. Fleco ( <i>Pheum pratense</i> )	30A. Avena ( <i>Avena sativa</i> )
8B. Relva ( <i>Lolium perenne</i> )	30B. Centeio ( <i>Secale cereale</i> )
8C. Espiguiilha ( <i>Poa pratensis</i> )	30C. Cevada ( <i>Hordeum vulgare</i> )
D. Relva ( <i>Dactylis glomerata</i> )	30D. Milho ( <i>Zea mays</i> )
E. Festuca ( <i>Festuca pratensis</i> )	30E. Trigo ( <i>Triticum sativum</i> )
A. Controle negativo	B. Histamina (10 mg/ml)

Data: 2019 01/05

**Figura 3.13:** Ficha de registo dos testes cutâneos.

### **3.6.1.2. Análise da sintomatologia**

Para a análise da sintomatologia foi solicitado aos doentes que, durante a Primavera (Março a Junho), efectuassem um registo diário dos seus sintomas (espirros, rinorreia, obstrução nasal, prurido nasal, lacrimejo, prurido ocular, olhos inflamados, pestanas coladas e respiração ruidosa) classificando-os segundo o grau de intensidade (0- ausente, 1- ligeiro, 2- moderado e 3 intenso) [Anexo II].

Com o objectivo de sintetizar toda a informação contida nos inquéritos sintomatológicos preenchidos pelos doentes com polinose, efectuou-se uma Análise Factorial. A Análise Factorial (AF) é uma técnica de análise exploratória de dados que tem por objectivo descobrir e analisar a estrutura de um conjunto de variáveis interrelacionadas de modo a construir uma escala de medida para factores (intrínsecos) que de alguma forma (mais ou menos explícita) controlam as variáveis originais. A AF usa as correlações observadas entre as variáveis originais para estimar o(s) factor(es) comum(ns) e as relações estruturais que ligam os factores (latentes) às variáveis. O objectivo primordial da AF é pois o de atribuir um “score” (quantificação) a factores que não são directamente observáveis e pelo qual se pondera as respostas altamente correlacionadas. Este novo “score” é uma representação parcimoniosa da informação presente nas diferentes variáveis e é capaz de resumir a informação presente em muitas variáveis num número reduzido de factores não directamente observáveis. Estes factores permitem identificar as relações estruturais entre as variáveis que de outra forma passariam despercebidas no conjunto vasto de variáveis originais.

A Figura 3.14 representa o modelo genérico dos dados de partida para a Análise Factorial simples efectuada através do programa de estatística SPSS Statistics 17.0, em que as colunas representam as várias modalidades das variáveis sintomatológicas e as linhas correspondem às 19 semanas das estações primaveris (semana 9 à semana 27) entre 2001 e 2007. A intersecção entre cada linha e cada coluna [K(i,j)] corresponde à frequência do registo de uma determinada intensidade de um sintoma numa determinada semana.

Semana	E0 E1 E2 E3 R0... ON0... PO0... PN0... i...L0...OI0... PE0...RE0...RE3	Total
9/2001	K(i,j)	
10/2001		
...		
j		
...		
27/2007		
Total		

**Figura 3.14:** Configuração do quadro de partida para a Análise Factorial. Cada modalidade sintomatológica está associada a um score de intensidade e representada por códigos: E=espirros; R=rinorreia; ON=obstrução nasal; PO=Prurido ocular; PN= Prurido nasal; L=lacimejo; OI=olhos inflamados; PE=pestanas coladas; RE=respiração ruidosa.

No sentido de se determinar quais os tipos polínicos que melhor se ajustam aos sintomas dos doentes alérgicos efectuou-se uma análise de regressão linear múltipla utilizando-se o programa de estatística SPSS Statistics 18.0 licenciado pela Universidade de Évora. Com a análise de regressão pretendeu-se encontrar uma função matemática que expressasse a relação entre a variável dependente (sintomatologia) e as variáveis independentes (contagens polínicas dos vários *taxa* considerados detentores de propriedades alergológicas). Neste caso, utilizaram-se os métodos *Enter* e *Backward*. A variável sintomatológica correspondeu ao *factor score* 1 resultante da Análise Factorial. As variáveis independentes foram as médias das frequências absolutas semanais observadas na estação de Évora dos tipos polínicos: *Poaceae*, *Olea*, *Platanus*, *Chenopodiaceae-Amaranthaceae*, *Plantago*, *Cupressaceae*, *Parietaria*, *Urtica membranacea*, *Pinaceae*, *Myrtaceae*, *Quercus*, *Rumex*, *Asteraceae* e Totais Polínicos, e foram “ponderadas” por um factor “P” igual à percentagem de positividade aos testes cutâneos da amostra de doentes.

A Figura 3.15 representa o modelo genérico dos dados de partida para a Análise de Regressão Linear Múltipla (MRLM), em que a maioria das colunas representam as variáveis independentes (tipos polínicos com propriedades alergológicas) e as linhas correspondem às 19 semanas das estações primaveris (semana 9 à semana 27) entre 2001 e 2007. A intersecção entre cada linha e cada coluna [K(i,j)] corresponde à média das frequência absolutas semanais de um determinado tipo numa determinada semana.

A coluna *Factor score* 1 representa a sintomatologia de forma resumida apresentada pelos doentes com polinose numa determinada semana.

Semana	<i>Factor score</i> 1	Poaceae Olea Platanus i.... Totais polínicos
9/2001		K(i,j)
10/2001		
...		
j		
...		
27/2007		
P		

**Figura 3.15:** Configuração do quadro de partida para a Análise de Regressão Linear Múltipla.  
(*Factor score* 1 = 1.º Factor resultante da Análise Factorial)

No sentido de complementar a informação ou de verificar a existência de concordância com os resultados obtidos, também se efectuaram MRLM com os dados de cada um dos anos de estudo de forma separada. Neste caso, utilizaram-se as concentrações médias diários dos vários tipos polínicos e o *factor score* 1 dado pela AF realizada com as frequências diárias dos sintomas dos doentes.

### **3.6.2. Análise do Consumo de Antihistaminicos**

No sentido de auxiliar a interpretação, de forma indirecta, a variação dos sintomas nos doentes alérgicos da população de cada uma das cidades realizou-se neste estudo uma análise sobre as vendas mensais e anuais das unidades de antihistaminicos vendidas nas localidades durante o período de Janeiro de 2002 a Julho de 2007.

Os dados utilizados foram gentilmente e gratuitamente fornecidos pelo INFARMED e referem-se aos medicamentos comparticipados e dispensados em regime ambulatorio à população abrangida pelo Serviço Nacional de Saúde. Portanto, não estão incluídos os medicamentos relativos ao internamento hospitalar, nem aos fármacos dispensáveis à população abrangida pelos subsistemas de saúde.

Para se determinar quais os tipos polínicos que exerciam uma maior incidência sobre a população alérgica das localidades em estudo, através do uso desta variável,

realizaram-se análises de correlação de Spearman (através do programa SPSS Statistics 17.0) entre a soma mensal da venda de antihistaminicos e a soma mensal das concentrações médias diárias de pólen atmosférico dos *taxa* potencialmente mais alergénicos (Poaceae, *Olea*, *Platanus*, Chenopodiaceae-Amaranthaceae, *Plantago*, Cupressaceae, Urticaceae).

### 3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Apesar de ao longo deste capítulo *Material e métodos* se ter vindo a descrever as análises estatísticas efectuadas, este subcapítulo faz um resumo dessas análises. Para a análise e interpretação dos resultados obtidos utilizou-se como apoio alguma bibliografia da especialidade: PESTANA & GAGEIRO (2003), MAROCO (2003) e PEREIRA (2004).

#### **Diferenças entre estações de monitorização e diferenças interanuais**

No sentido de verificar se existiam ou não diferenças entre as estações de monitorização efectuou-se a ANOVA não-paramétrica de *Kruskal-Wallis*, teste não paramétrico para amostras independentes, que se utiliza em alternativa ao teste ANOVA I, cuja hipótese nula ( $H_0$ ) afirma que as médias da população são as mesmas para os vários grupos, ou seja, por exemplo, que a média dos índices polínicos é a mesma nas 3 estações de monitorização, não há diferenças entre as estações. A hipótese nula foi rejeitada sempre que o nível de significância foi inferior a 0,05 ( $p \leq 0,05$ ) e nesse caso concluiu-se que existe pelo menos uma estação de monitorização que difere das restantes.

Aplicou-se a ANOVA não-paramétrica de *Kruskal-Wallis*:

❖ Aos valores dos índices polínicos (valores dos totais anuais) das 3 estações de monitorização dos anos de 2002 a 2008.

❖ Às principais características da EPAP de cada tipo polínico em análise das 3 estações de monitorização.

O teste de *Friedman* ou a ANOVA de *Friedman* é um teste não paramétrico, utiliza-se em amostras emparelhadas e independentes, em alternativa à ANOVA *one-way* de medições repetidas. As hipóteses sob teste são que todas as medianas são iguais ( $H_0$ ) ou que existe pelo menos um par significativamente diferente ( $H_1$ ). A hipótese nula foi rejeitada sempre que o nível de significância foi inferior a 0,05 ( $p \leq 0,05$ ) e no caso concluiu-se que existe pelo menos uma estação de monitorização que difere das restantes.

Aplicou-se a ANOVA não-paramétrica de *Friedman*:



❖ Aos valores dos índices polínicos (valores dos totais anuais) dos pólenes de *Olea*, *Platanus* e *Poaceae* das 3 estações de monitorização dos anos de estudo.

❖ À variação intradiária dos tipos polínicos: *Olea*, *Platanus* e *Poaceae* das 3 estações de monitorização.

Para averiguar da existência ou não de diferenças entre os anos (diferenças interanuais) utilizou-se o teste de *Wilcoxon*, teste não paramétrico para dados emparelhados, que se utiliza em alternativa ao teste *t-student*, em que a hipótese nula (H<sub>0</sub>) afirma que a diferença média entre os dois membros de um par é 0 (zero).

Aplicou-se o teste de *Wilcoxon*:

❖ Aos valores dos índices polínicos (valores dos totais anuais) de cada uma das estações.

❖ Aos valores dos índices polínicos dos pólenes de *Olea*, *Platanus* e *Poaceae* de cada uma das estações.

❖ À variação intradiária dos tipos polínicos em análise.

Estes testes não-paramétricos foram executados através do programa de estatística SPSS 17.0 e 18.0.

## **Análises de correlação**

Efectuaram-se testes não-paramétricos de correlação de *Spearman* entre:

❖ Os valores diários de cada um dos parâmetros meteorológicos (temperatura máxima, média e mínima do ar, humidade relativa média, total da quantidade de precipitação, radiação global total, insolação, velocidade média do vento e rumo predominante do vento) e as concentrações atmosféricas médias diárias alcançadas para cada tipo polínico: *Poaceae*, *Olea* e *Platanus*.

Correlacionaram-se os dados diários de diferentes intervalos de tempo: os dados de anos inteiros, os dados da EPAP, os dados do período pré-pico e os dados do período pós-pico. Em qualquer dos casos analisaram-se anos independentemente e também de forma conjunta.

❖ A soma mensal da venda de antihistaminicos e a soma mensal das concentrações médias diárias de pólen atmosférico dos *taxa* potencialmente mais

alergénicos (Poaceae, *Olea*, *Platanus*, Chenopodiaceae-Amaranthaceae, *Plantago*, Cupressaceae, Urticaceae).

As análises de correlação foram efectuadas através do programa SPSS Statistics 18.0, e considerou-se estatisticamente significativas aquelas correlações com  $p < 0,05$ .

### **Análise Factorial**

Com o objectivo de sintetizar toda a informação contida nos inquéritos sintomatológicos preenchidos pelos doentes com polinose, efectuou-se uma Análise Factorial (AF). A AF atribui um “score” (quantificação) a factores que não são directamente observáveis e pelo qual se pondera as respostas altamente correlacionadas. Este novo “score” é uma representação parcimoniosa da informação presente nas diferentes variáveis e é capaz de resumir a informação presente em muitas variáveis num número reduzido de factores não directamente observáveis.

Neste estudo efectuaram-se duas análises factoriais, uma AF com as frequências semanais dos registos das várias intensidades dos sintomas de todos os anos (2001 a 2007) e uma outra AF com as frequências diárias.

As Análises Factoriais Simples foram efectuadas através do programa de estatística SPSS Statistics 17.0.

### **Análises de Regressão**

❖ Para se analisar possíveis tendências para alterações na fenologia da estação de pólen de *Olea*, *Platanus* e Poaceae efectuaram-se análises de regressão lineares simples – MRLS (variáveis dependentes: Índice polínico, Data de início da EPAP, Data do fim da EPAP, Duração da EPAP, valor do pico polínico, Data do pico polínico, N.º de dias com mais de 50, 200 e 400 grãos de pólen/m<sup>3</sup> de ar, para o tipo *Olea*, com mais de 50 e 200 grãos de pólen/m<sup>3</sup> de ar, para o tipo *Platanus*, e N.º dias com mais de 25 grãos de pólen/m<sup>3</sup> de ar, para o tipo Poaceae; e variável independente: ano).

❖ No sentido de se determinar quais os tipos polínicos que melhor se ajustam aos sintomas dos doentes alérgicos efectuaram-se análises de regressão linear múltipla (MRLM), com o objectivo de se encontrar uma função matemática que expressasse a relação entre a variável dependente (sintomatologia) e as variáveis independentes (contagens polínicas dos vários *taxa* considerados detentores de propriedades alergológicas). Utilizaram-se os métodos *Enter* e *Backward*. A variável sintomatológica correspondeu ao *factor score* 1 resultante da Análise Factorial.

Neste estudo efectuou-se uma MRLM com os dados semanais (2001 a 2007), 7 MRLMs com os dados diários de cada um dos anos de estudo, 4 MRLMs com os dados diários dos meses de estudo, 1 MRLM com os dados diários dos meses de estudo Março-Abril, 1 MRLM com os dados diários dos meses de estudo Maio-Junho, uma AF com as frequências semanais dos registos das várias intensidades dos sintomas de todos os anos (2001 a 2007) e uma outra AF com as frequências diárias.

Na MRLM a variável dependente foi a variável sintomatologia e correspondeu ao *factor score* 1 resultante da Análise Factorial e as variáveis independentes foram as médias das frequências absolutas semanais/ diárias observadas na estação de monitorização de Évora dos tipos polínicos: Poaceae, *Olea*, *Platanus*, Chenopodiaceae-Amaranthaceae, *Plantago*, Cupressaceae, *Parietaria*, *Urtica membranacea*, Pinaceae, Myrtaceae, *Quercus*, *Rumex*, Asteraceae e Totais Polínicos (ou Pólen total), e foram “ponderadas” por um factor “P” igual à percentagem de positividade aos testes cutâneos da amostra de doentes.

❖ Com o objectivo de se determinar quais os parâmetros meteorológicos que melhor se ajustam às concentrações atmosféricas dos tipos polínicos aqui em análise (*Olea*, *Platanus* e Poaceae), ou melhor, as possíveis variáveis meteorológicas a colocar num modelo de previsão de concentrações de pólen, efectuaram-se análises de regressão linear múltipla (MRLM), com o objectivo de se encontrar uma função matemática que expressasse a relação entre a variável dependente (concentrações médias diárias de pólen) e as variáveis independentes (parâmetros meteorológicos). Para a selecção do melhor modelo utilizou-se o método *Backward*.

As Análises de regressão linear múltipla foram efectuadas através do programa de estatística SPSS Statistics 17.0 e 18.0.