



António Jorge Correia de Gouveia Ferreira

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES RESPIRATÓRIAS INDUZIDAS POR EXPOSIÇÕES OCUPACIONAIS ATRAVÉS DE METODOLOGIA NÃO INVASIVA

Tese de Doutoramento em Ciências da Saúde, ramo Medicina, especialidade Sociologia Médica, área Medicina Preventiva e Comunitária, orientada pelo Senhor Professor Doutor Salvador Manuel Correia Massano Cardoso e pelo Senhor Professor Doutor Carlos Manuel Silva Robalo Cordeiro e apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

Julho de 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

António Jorge Correia de Gouveia Ferreira

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES RESPIRATÓRIAS INDUZIDAS POR EXPOSIÇÕES OCUPACIONAIS ATRAVÉS DE METODOLOGIA NÃO INVASIVA

Tese de Doutoramento em Ciências da Saúde, ramo Medicina, especialidade Sociologia Médica, área Medicina Preventiva e Comunitária, orientada pelo Senhor Professor Doutor Salvador Manuel Correia Massano Cardoso e pelo Senhor Professor Doutor Carlos Manuel Silva Robalo Cordeiro e apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

Julho de 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

AGRADECIMENTOS

As várias fases dos projetos de investigação que constituem esta tese de doutoramento resultam naturalmente da colaboração preciosa de um notável número de pessoas a quem expresse o meu reconhecido agradecimento:

Aos meus orientadores, Professor Doutor Salvador Massano Cardoso e Professor Doutor Carlos Robalo Cordeiro agradeço reconhecidamente o seu estímulo e motivação permanentes durante todo o processo de investigação e de criação desta tese, bem como as suas sugestões e indicações fundamentais. Sem eles, dificilmente teria enveredado quer pela área académica quer pela área de investigação.

À Professora Doutora Ana Isabel Miranda, do Departamento do Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro e coordenadora do Projeto FUMEXP, pela forma como envolveu a nossa equipa do Centro de Pneumologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, criando sinergias e uma verdadeira colaboração multidisciplinar que possibilitaram a realização de todos os objetivos delineados.

Ao Professor Domingos Xavier Viegas, do Departamento de Engenharia Mecânica da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, responsável da Associação para o Desenvolvimento da Aerodinâmica Industrial (ADAI) e um dos elementos fundamentais do Projeto FUMEXP, pelo seu papel de relevo em toda a logística relacionada com os ensaios de campo da Gestosa e por todos os seus ensinamentos na área dos incêndios florestais.

À Engenheira Vera Rodrigues e ao Professor Doutor Jorge Amorim do Departamento do Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro, membros essenciais do Projeto FUMEXP, pela colaboração preciosa e pela camaradagem que se estabeleceu durante o triénio em que decorreram os estudos sobre os efeitos na saúde dos bombeiros expostos ao fumo dos incêndios florestais.

Ao Professor Doutor Carlos Borrego, Diretor do Departamento do Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro, pela sua experiência e ensinamentos nesta área e pela colaboração prestada quanto aos equipamentos usados nas monitorizações individuais realizadas nos trabalhadores das amostras industriais.

Ao Engenheiro Pedro Cascão do Departamento do Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro, pela preciosa colaboração na análise e interpretação destas monitorizações.

AGRADECIMENTOS

A todos os bombeiros e Chefes das Corporações participantes no Projeto FUMEXP; sem eles, não teria sido possível este estudo. De igual forma, agradeço a todos os trabalhadores que fizeram parte das amostras industriais, bem como aos médicos do trabalho, aos técnicos de higiene e segurança e às administrações das empresas do ramo do calçado e dos plásticos onde se realizou esta fase da nossa investigação, pela sua total colaboração e disponibilidade.

Ao Professor Doutor Massimo Corradi, Doutora Roberta Andreoli e Doutora Rossella Alinovi, do Departamento de Medicina Clínica e do Laboratório de Toxicologia Industrial da Universidade de Parma, pelo inextinguível apoio na análise quantitativa das amostras de condensado respiratório recolhidas durante as várias fases desta tese, bem como pela frutuosa troca de ideias relacionadas com os mecanismos fisiopatológicos e de avaliação do stresse nitrosativo e oxidativo a nível pulmonar.

Ao Dr. Pedro Gonçalo Ferreira agradeço a permanente disponibilidade e cooperação durante todas as fases do Projeto FUMEXP, em que também foi investigador associado, bem como o constante intercâmbio de experiências e de conhecimentos; as suas importantes sugestões e a sua sólida preparação científica e clínica seguramente muito valorizaram este trabalho.

A todos os colegas e funcionários do Instituto de Medicina Social da Faculdade de Medicina de Coimbra e do Serviço de Pneumologia dos HUC-CHUC pela sua amizade e permanente incentivo.

Ao Professor Doutor Pedro Lopes Ferreira da Faculdade de Economia da Universidade de Coimbra e Presidente da Direcção do Centro de Estudos e Investigação em Saúde, pela autorização de utilização dos inquéritos SF-36v2 e SF-6D e pelo precioso auxílio no tratamento e interpretação dos respetivos dados.

Ao Dr. Rodrigo Canhão, Secretário do Centro de Pneumologia da Universidade de Coimbra, pelo importante apoio logístico prestado durante as várias fases dos nossos projetos de investigação.

À Dra. Margarida Marques do Laboratório de Bioestatística e Informática Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra pelo permanente apoio e profícua troca de ideias na fase da interpretação estatística dos resultados.

À Dra. Helena Donato, Diretora da Biblioteca-Serviço de Documentação do CHUC e à D^a Elvira Raquel do mesmo Serviço, pela cooperação prestada na obtenção das referências bibliográficas necessárias.

Ao Dr. Jorge Tomás, Diretor do Serviço de Imunohemoterapia do CHUC, e à Dra. Augusta Zulmira do mesmo Serviço, pelo auxílio prestado na delicada conservação das amostras do condensado respiratório em temperaturas estáveis de -80°C .

À Dra. Jessica Cemlyn Jones, pelo seu atividade na fase inicial do Projeto FUMEXP e pelo apoio linguístico na elaboração de alguns segmentos desta tese.

Às Técnicas de Cardiopneumologia Isabel Gonçalves e Joana Fernandes pelo seu trabalho de elevada qualidade na obtenção das espirometrias.

Ao Professor Doutor Sílvio Correia Santos da Faculdade de Letras da Universidade de Coimbra e restantes elementos da equipa do Projeto Imagem, Media e Comunicação da Reitoria da Universidade de Coimbra, pelo apoio e conselhos prestados para a obtenção da correta identidade visual desta tese.

Ao Professor Doutor Duarte Nuno Vieira, nosso anterior orientador de dissertação de mestrado em Saúde Ocupacional, pelo seu estímulo, numa fase precoce da nossa vida académica, ao investimento e à aposta nestas áreas de investigação.

E, sobretudo, à Zita Cristina pela sua presença fundamental na minha vida.

PREÂMBULO

Desde há vários séculos tem sido progressivamente reconhecido o elevado risco para a saúde humana que resulta da sua vasta interação, múltipla e reiterada, com os mais variados ambientes de trabalho.

Com efeito, parece evidente que, face ao elevado número de horas em que se presta diariamente a atividade laboral, inúmeros fatores, direta e indiretamente ligados ao ambiente ocupacional, possam constituir fonte e fenómeno de doença.

A Saúde Ocupacional e mais especificamente a Medicina do Trabalho, têm vindo a debater-se com esta realidade cada vez mais relevante. A sua vertente essencialmente preventiva, reveste-se da maior importância, não se limitando apenas ao reconhecimento dos fenómenos fisiopatológicos inerentes ao desenvolvimento das doenças de etiologia profissional; contudo, assistimos, na generalidade, a uma menor divulgação e investigação no que diz respeito à tentativa de validar e assegurar técnicas e métodos de identificação precoce das alterações sistémicas potenciais, por vezes extremamente insidiosas e com períodos de indução nem sempre conhecidos.

No atual mundo profissional, cada vez mais tecnológico, em que não cessam de ser criadas e usadas diariamente novas formulações químicas, agentes físicos e biológicos e mesmo métodos de trabalho inovadores, no advento das nanotecnologias e da comunicação à escala global, urge criar e manter uma inovadora perspetiva preventiva na área da Saúde Ocupacional, para que os novos riscos ocupacionais (e por que não dizer, também, os considerados mais clássicos) sejam rapidamente identificados, quantificados e circunscritos, utilizando tecnologias, que, força da evolução dos tempos, se revistam identicamente de uma vertente de elevada precisão e rigor, mas que sejam sobretudo não invasivas, permitindo conhecer mais, em menos tempo e com melhor aceitação pelas populações em estudo, sobre os fenómenos envolvidos nas exposições ocupacionais, riscos inerentes e seu potencial para o desenvolvimento de doença.

Surge, desta forma, a necessidade de contribuir para o desenvolvimento de metodologias e técnicas que possam ser adequadas à realidade em plena mutação da Saúde Ocupacional atual, nomeadamente no âmbito preventivo de nível primário e secundário, onde seguramente se devem desenvolver os maiores esforços.

Resulta claro, da revisão nacional e internacional da maior parte da literatura publicada de natureza e âmbito ocupacionais, que uma das vias de exposição mais diretamente implicadas no desenvolvimento de patologia profissional é precisamente a via respiratória.

Portugal é um País em que as doenças respiratórias de etiologia profissional sempre tiveram um grande impacto e relevo. Assim se compreende que o maior número de pensionistas por doença profissional corresponda precisamente a este grupo.

Infelizmente tem sido escasso o número de publicações e projetos de investigação dando particular ênfase aos riscos ocupacionais respiratórios; ainda mais significativa é a insuficiência de novas estratégias de cariz preventivo em âmbito respiratório profissional, nomeadamente no que toca ao desenvolvimento de novas formas de monitorização biológica e ambiental dos riscos inalatórios, que visem essencialmente detetar o potencial patológico de agentes e ambientes ocupacionais em fases precoces e sobretudo, reversíveis.

De facto, a avaliação do doente profissional respiratório (e ainda de forma mais importante, do trabalhador em risco) continua a reger-se por parâmetros algo rígidos e muito baseados apenas na radiologia torácica e no estudo funcional respiratório clássico, que, tendo indubitavelmente grande valor de prova, clínica e médico-legal, correm o risco de precisamente não assinalar com precocidade as insidiosas alterações iniciais desencadeadas pelas exposições profissionais respiratórias.

Por outro lado, na última década, tem-se assistido à utilização de novas tecnologias, essencialmente não invasivas, de avaliação de diversos parâmetros respiratórios, técnicas essas que podem vir a ter um enorme potencial na deteção e avaliação precoces dos riscos inalatórios profissionais.

Ao considerar testes não invasivos de avaliação fisiopatológica do sistema respiratório, três itens são particularmente importantes:

- os métodos utilizados para obter amostras,
- a natureza das amostras,
- os biomarcadores potenciais a serem analisados.

Nesse sentido e assumindo desde logo a motivação central de prestar um contributo válido para a adaptação e desenvolvimento de métodos adequados à monitorização respiratória não invasiva em distintos ambientes ocupacionais, pretendeu-se, com o presente trabalho de investigação, detalhar e pormenorizar, de forma inovadora, estratégias em Medicina

Preventiva no ramo da Saúde Ocupacional, que possam ser facilmente utilizadas, de forma mais generalizada, num futuro próximo, para vigiar, rastrear e hierarquizar riscos profissionais respiratórios em populações vastas e diversificadas, potencialmente expostas em múltiplos ambientes de trabalho.

Para a prossecução deste objetivo central, revelou-se fundamental estabelecer um grupo ocupacionalmente exposto a ambientes ocupacionais potencialmente lesivos da sua saúde respiratória e cujo estudo e avaliação, de forma paradigmática, pudesse levar ao melhor conhecimento, não só dos próprios riscos profissionais específicos, mas também e essencialmente, permitir validar as referidas metodologias para um mais abrangente universo ocupacional.

Assim e através da colaboração interdisciplinar e interuniversitária estabelecida pelas sinergias e pelo desenvolvimento de um projeto de investigação efetuado no âmbito da Fundação para a Ciência e Tecnologia - Projeto FUMEXP "*Exposição de bombeiros ao fumo e consequentes efeitos na saúde*" (FCOMP-01-0124-FEDER-007023) - foi definido como objeto central de pesquisa o pouco estudado grupo ocupacional constituído pelos bombeiros envolvidos no combate aos fogos florestais.

Desde logo compreendemos que esta população poderia gerar amostras significativas no que concerne ao risco inalatório profissional e que o seu estudo em ambiente real e de treino constituiria uma mais-valia para o atingimento dos propósitos centrais do nosso projeto. Assim, o desenvolvimento e a aplicação da metodologia não invasiva de avaliação respiratória que preconizámos nos nossos objetivos centrais poderiam, também, levar a caracterizar melhor grupos profissionais de elevado risco, permitindo a preconização de novas estratégias laborais, bem como de novas metodologias e equipamentos de proteção individual e coletiva.

Ponderámos limitar a nossa tese a este estudo de caso. Contudo, percebemos que, no panorama industrial nacional, o risco inalatório dos trabalhadores expostos é, por vezes, pouco compreendido, não havendo ainda estratégias reprodutíveis, adequadas e não invasivas de monitorização adequada à especificidade dos riscos. Como tal, alargámos a nossa investigação a outros grupos ocupacionais expostos, pretendendo, com isso, avaliar se a metodologia em apreciação poderá ser útil noutras realidades ocupacionais distintas.

Desta forma, a presente dissertação encontra-se dividida em várias secções: numa fase inicial é efetuada uma introdução com revisão alargada da literatura nacional e internacional no que diz respeito aos principais riscos inalatórios profissionais e à metodologia de avaliação do

sistema respiratório e suas especificidades em ambiente ocupacional; esta revisão engloba também o caso específico dos riscos inalatórios de algumas ocupações, em que é dado óbvio destaque aos riscos dos bombeiros e à exposição a solventes orgânicos.

São posteriormente enumerados os principais objetivos e elencada a metodologia desenvolvida para os alcançar. Nesta fase, foi decisivo o fulcral papel desempenhado pelo nosso estudo de caso resultante do já referido Projeto FUMEXP.

Nas fases subsequentes, são mostrados os principais resultados, efetuada a discussão e apresentadas as principais conclusões, em que se quis dar contributo pessoal, não só para o melhor conhecimento sobre os grupos profissionais estudados, mas sobretudo para a metodologia utilizada para o conseguir, visando preconizar novas estratégias de identificação precoce de risco e de proteção da saúde respiratória em ambientes ocupacionais distintos.

O Projeto desta tese foi apresentado ao Conselho Científico e à Comissão de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, tendo sido aprovado sem alterações.

Seguindo as normas nacionais (Resolução do Conselho de Ministros n.º 8/2011 publicada no Diário da República, 1.ª série n.º 17 de 25 de Janeiro de 2011) e as instruções da Universidade de Coimbra, redigiu-se esta tese de acordo com o novo Acordo Ortográfico.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	xv
ÍNDICE DE QUADROS.....	xix
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xxi
RESUMO	xxv
SUMMARY	xxix
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 DOENÇAS OCUPACIONAIS RESPIRATÓRIAS	1
1.1.1 Perspetiva histórica	2
1.1.2 Enquadramento europeu e nacional.....	6
1.1.3 Principais patologias respiratórias de etiologia profissional	8
1.1.3.1 Pneumoconioses	8
1.1.3.1.1 Silicose.....	11
1.1.3.1.2 Pneumoconiose do trabalhador do carvão (PTC)	13
1.1.3.1.3 Asbestose	14
1.1.3.2 Pneumonite de Hipersensibilidade de etiologia ocupacional.....	16
1.1.3.3 Asma Ocupacional.....	19
1.1.3.4 Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica (DPOC) de etiologia ocupacional.....	23
1.1.3.5 Cancro do pulmão de etiologia ocupacional.....	27
1.2 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO E MONITORIZAÇÃO HUMANA EM AMBIENTE OCUPACIONAL.....	33
1.2.1 Métodos não invasivos	33
1.2.1.1 Estudos de função respiratória	33
1.2.1.1.1 Espirometria	33
1.2.1.1.2 Medição dos volumes pulmonares estáticos (técnicas de pletismografia corporal e diluição gasosa).....	36
1.2.1.1.3 Avaliação da transferência de gases – capacidade de difusão do monóxido de carbono (DL _{CO}).....	37
1.2.1.1.4 Provas de provocação brônquica inespecífica e específica	38
1.2.1.1.5 Gasometria arterial	40
1.2.1.1.6 Prova da marcha dos seis minutos e prova de esforço cardio-respiratória..	41
1.2.1.2 Imagiologia torácica	41
1.2.1.3 Fração exalada de óxido nítrico (F _E NO).....	43
1.2.1.4 Condensado brônquico do ar exalado - <i>Exhaled Breath Condensate</i> (EBC) ...	48

1.2.1.4.1	Marcadores de inflamação e de stresse oxidativo e nitrosativo no EBC ..	51
1.2.1.4.1.1	pH	52
1.2.1.4.1.2	Peróxido de hidrogénio (H ₂ O ₂).....	53
1.2.1.4.1.3	Isoprostanos.....	54
1.2.1.4.1.4	Leucotrienos e prostanóides.....	55
1.2.1.4.1.5	Citocinas	55
1.2.1.4.1.6	Espécies reativas de azoto	55
1.2.1.4.1.7	Aldeídos.....	56
1.2.1.4.2	EBC nas doenças respiratórias ocupacionais	56
1.2.2	Métodos semi-invasivos de avaliação respiratória ocupacional	59
1.2.2.1	Expetoração induzida	59
1.2.3	Métodos invasivos de avaliação respiratória ocupacional	61
1.3	O CASO ESPECÍFICO DO RISCO OCUPACIONAL EM BOMBEIROS.....	65
1.3.1	Riscos específicos em bombeiros	68
1.3.1.1	Riscos respiratórios	68
1.3.1.2	Riscos cardiovasculares	73
1.3.1.3	Outros riscos.....	75
1.4	O CASO ESPECÍFICO DA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL A SOLVENTES	78
1.5	SÍNTESE	83
2.	OBJETIVOS	85
2.1	GERAL.....	85
2.2	ESPECÍFICOS.....	85
3.	MATERIAL E MÉTODOS	87
3.1	PROJETO FUMEXP	87
3.1.1	Caracterização da amostra do Projeto FUMEXP	88
3.1.2	Equipamentos de monitorização ambiental da qualidade do ar	90
3.1.3	Equipamentos de monitorização ocupacional individual.....	91
3.1.3.1	Monitorização de gases.....	91
3.1.3.2	Monitorização de partículas.....	93
3.1.4	Monitorização do posicionamento.....	93
3.1.5	Ensaio de Campo 2008, 2009 e 2010 – incêndios florestais experimentais.....	94
3.1.6	Monitorização em ocorrências de incêndio real	98
3.1.6.1	Caracterização da época de incêndios 2008, 2009 e 2010	99
3.1.7	Monitorização dos efeitos do fumo dos incêndios florestais na saúde dos bombeiros expostos	100

3.1.7.1	Espirometria	100
3.1.7.2	Fração de óxido nítrico no ar exalado ($F_E\text{NO}$)	101
3.1.7.3	Monóxido de carbono e percentagem de carboxihemoglobina.....	102
3.1.7.4	Condensado brônquico no ar exalado (<i>Exhaled breath condensate</i> – EBC) .	103
3.1.7.4.1	Método de determinação do perfil de aminoácidos no EBC	105
3.1.7.4.1.1	Materiais	105
3.1.7.4.1.2	Instrumentação e condições analíticas.....	105
3.1.7.4.1.3	Soluções padrão	106
3.1.7.4.1.4	Preparação das amostras.....	106
3.1.7.4.1.5	Validação metodológica.....	106
3.1.7.4.2	Análise de 8-isoprostano e nitratos no EBC	107
3.1.7.4.3	Análise de aldeídos no EBC	109
3.1.7.4.3.1	Materiais	109
3.1.7.4.3.2	Instrumentação e condições analíticas.....	109
3.1.7.4.3.3	Preparação dos derivados de dinitrofenilhidrazona (DNPH)	109
3.1.7.4.3.4	Sistema LC/APCI-MS/MS.....	110
3.2	PROJETO DE INVESTIGAÇÃO NA INDÚSTRIA	111
3.2.1	Indústria do calçado	111
3.2.1.1	Amostra	111
3.2.1.2	Monitorização ocupacional da amostra.....	112
3.2.1.3	Monitorização dos potenciais efeitos da exposição ocupacional na saúde dos trabalhadores.....	112
3.2.1.3.1	Espirometria.....	112
3.2.1.3.2	Fração de óxido nítrico no ar exalado ($F_E\text{NO}$)	113
3.2.1.3.3	Condensado brônquico no ar exalado (<i>Exhaled breath condensate</i> – EBC)	113
3.2.2	Indústria de componentes plásticos.....	113
3.2.2.1	Amostra	113
3.2.2.2	Monitorização ocupacional da amostra.....	114
3.2.2.3	Monitorização dos potenciais efeitos da exposição ocupacional na saúde dos trabalhadores.....	115
3.3	AMOSTRA CONTROLO	115
3.4	TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS	116
4.	RESULTADOS	117
4.1	RESULTADOS DO PROJETO FUMEXP.....	117
4.1.1	Monitorização da qualidade do ar nos Ensaios de Campo da Gestosa	117

4.1.2	Monitorização ocupacional individual nos Ensaios de Campo da Gestosa	118
4.1.3	Resultados da monitorização durante fogos reais	127
4.1.4	Efeitos do fumo dos incêndios florestais na saúde dos bombeiros expostos..	136
4.1.4.1	Inquéritos de saúde SF-36v2 e SF-6D	136
4.1.4.1.1	Inquérito de saúde SF-36v2	136
4.1.4.1.2	Inquérito de saúde SF-6D	138
4.1.4.2	Espirometria	138
4.1.4.3	Valores de CO e de %COHb no ar exalado nos ensaios de campo.....	140
4.1.4.3.1	Ensaio “Gestosa 2008”	140
4.1.4.3.2	Ensaio “Gestosa 2009”	141
4.1.4.3.3	Ensaio “Gestosa 2010”	142
4.1.4.4	Valores de F _E NO no ar exalado nos ensaios de campo da Gestosa	144
4.1.4.4.1	Ensaio “Gestosa 2008”	144
4.1.4.4.2	Ensaio “Gestosa 2009”	145
4.1.4.4.3	Ensaio “Gestosa 2010”	145
4.1.4.5	Valores de CO e de %COHb em incêndios florestais reais	146
4.1.4.6	Valores de F _E NO em incêndios florestais reais.....	148
4.1.4.7	Análises do condensado brônquico (EBC).....	149
4.2	RESULTADOS NA INDÚSTRIA DO CALÇADO	159
4.2.1	Resultados da monitorização ocupacional individual	159
4.2.2	Avaliação não invasiva dos parâmetros de saúde	161
4.2.2.1	Espirometria	161
4.2.2.2	F _E NO.....	162
4.2.2.3	Análises do condensado brônquico (EBC).....	163
4.3	RESULTADOS NA INDÚSTRIA DOS PLÁSTICOS	169
4.3.1	Resultados da monitorização ocupacional individual	169
4.3.2	Avaliação não invasiva dos parâmetros de saúde	171
4.3.2.1	Espirometria	171
4.3.2.2	F _E NO.....	173
4.3.2.3	Análises do condensado brônquico (EBC).....	174
5.	DISCUSSÃO	179
5.1	PROJETO FUMEXP E EFEITOS DAS EXPOSIÇÕES OCUPACIONAIS EM BOMBEIROS EXPOSTOS AO FUMO DE INCÊNDIOS FLORESTAIS	179
5.1.1	Monitorização individual da exposição a compostos/substâncias de risco	179
5.1.2	Inquéritos de qualidade de saúde	182
5.1.3	Estudo da função ventilatória.....	184

5.1.4	CO exalado (e medida indireta da percentagem de carboxihemoglobina).....	186
5.1.5	Avaliação do stresse oxidativo, stresse nitrosativo e peroxidação lipídica	186
5.1.5.1	Avaliação da F _e NO	188
5.1.5.2	Avaliação do EBC	190
5.2	PROJETO DE INVESTIGAÇÃO NA INDÚSTRIA	199
5.2.1	Monitorização da exposição	200
5.2.2	Estudo da função ventilatória.....	201
5.2.3	Avaliação do stresse oxidativo, stresse nitrosativo e peroxidação lipídica	202
5.2.3.1	Avaliação da F _e NO	202
5.2.3.2	Avaliação do EBC	203
5.3	SÍNTESE	204
6.	CONCLUSÕES	207
7.	BIBLIOGRAFIA	211
ANEXOS	243

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fenótipos na Asma Ocupacional	20
Figura 2. Esquema sugerido para definição de asma relacionada com o trabalho.	21
Figura 3. Algoritmo de interpretação espirométrica.	34
Figura 4. Incêndios florestais e área ardida no Continente português, por ano: 1980-2012	65
Figura 5. Distribuição por género.....	89
Figura 6. Laboratório móvel de qualidade do ar (A); Analisadores de PM ₁₀ , CO, NO _x (B).....	90
Figura 7. Laboratório móvel de qualidade do ar exposto à coluna de fumo proveniente da queima de uma parcela durante o ensaio “Gestosa 2009”	91
Figura 8. Detetor de gases Micro 5 PID (A) e detetor de CO GasAlertextreme (B).....	92
Figura 9. Equipamento de monitorização de partículas Sidepak AM510	93
Figura 10. Sistema de posicionamento GPS Wintec WBT-201.....	94
Figura 11. Localização das Parcelas de Ensaio	95
Figura 12. Disposição das áreas de estudo no ensaio de campo “Gestosa 2008”	96
Figura 13. Disposição das áreas de estudo no ensaio de campo “Gestosa 2009”	96
Figura 14. Queima de parcelas durante o ensaio de campo “Gestosa 2008”	96
Figura 15. Queima de parcelas durante o ensaio de campo “Gestosa 2009”	96
Figura 16. Queima de parcelas durante o ensaio de campo “Gestosa 2010”	96
Figura 17. Ensaios de campo (a).....	98
Figura 18. Ensaios de campo (b)	98
Figura 19. Ensaios de campo (c).....	98
Figura 20. Ensaios de campo (d)	98
Figura 21. Número de ocorrências e área ardida no período de 2008 a 2010.	100
Figura 22. Espirómetro <i>MicroLab</i> Cat. No. ML3500.....	101
Figura 23. Realização de espirometria	101
Figura 24. Equipamento <i>NIOX MINO</i> ® para determinação da F _E NO.....	102
Figura 25. Determinação de F _E NO após um ensaio de campo.....	102
Figura 26. Equipamento <i>MicroCO</i> ®	102
Figura 27. Determinação do CO e %COHb após um ensaio de campo	102
Figura 28. Recolha de EBC.....	103
Figura 29. Limpeza de solas.....	111
Figura 30. Colagem de tacões	111
Figura 31. Colheita de amostra de EBC antes do início do trabalho	113
Figura 32. Razão de género da amostra da indústria de plásticos.....	114
Figura 33. Monitorização no local de trabalho (a)	114
Figura 34. Monitorização no local de trabalho (b).....	114
Figura 35. Razão de género da amostra controlo	115
Figura 36. Trajeto do bombeiro 9 durante o ensaio de campo “Gestosa 2008”	119
Figura 37. Monitorização individual – médias de 1 minuto para CO, COV, NO ₂ e PM _{2,5}	119
Figura 38. Dados de monitorização em contínuo do bombeiro 1 – Ensaio “Gestosa 2008”	125
Figura 39. Exemplo de registos de posicionamento GPS durante atividades de combate a incêndios florestais	127
Figura 40. Dados de monitorização em contínuo do bombeiro 4 num incêndio florestal	133
Figura 41. Parâmetros das espirometrias no início e no final do Projeto FUMEXP e comparação com amostra controlo.....	139

Figura 42. Monóxido de carbono monitorizado no ensaio “Gestosa 2008”	141
Figura 43. Monóxido de carbono monitorizado no ensaio “Gestosa 2009”	142
Figura 44. Percentagem de COHb monitorizada no ensaio “Gestosa 2009”	142
Figura 45. Monóxido de carbono monitorizado no ensaio “Gestosa 2010”	143
Figura 46. Percentagem de COHb monitorizada no ensaio “Gestosa 2010”	143
Figura 47. Fração exalada de óxido nítrico (F _E NO) monitorizada no ensaio “Gestosa 2008” ...	144
Figura 48. F _E NO monitorizada no ensaio “Gestosa 2009”	145
Figura 49. F _E NO monitorizada no ensaio “Gestosa 2010”	146
Figura 50. Monóxido de carbono monitorizado nas amostras	147
Figura 51. Percentagem de COHb monitorizada nas amostras	148
Figura 52. F _E NO monitorizada nas amostras	149
Figura 53. Arginina no EBC. (Projeto FUMEXP)	154
Figura 54. Ornitina no EBC. (Projeto FUMEXP)	154
Figura 55. Prolina no EBC. (Projeto FUMEXP)	154
Figura 56. 4OH-prolina no EBC. (Projeto FUMEXP)	154
Figura 57. Citrulina no EBC. (Projeto FUMEXP)	154
Figura 58. Isoleucina no EBC. (Projeto FUMEXP)	154
Figura 59. Leucina no EBC. (Projeto FUMEXP)	155
Figura 60. Tirosina no EBC. (Projeto FUMEXP)	155
Figura 61. ADMA no EBC. (Projeto FUMEXP)	155
Figura 62. SDMA no EBC. (Projeto FUMEXP)	155
Figura 63. MDA no EBC. (Projeto FUMEXP)	155
Figura 64. HNE no EBC. (Projeto FUMEXP)	155
Figura 65. 8-isoprostano no EBC. (Projeto FUMEXP)	156
Figura 66. Nitratos no EBC. (Projeto FUMEXP)	156
Figura 67. Registo dos valores instantâneos de COVs totais da trabalhadora 8	159
Figura 68. Registo das médias horárias de COVs totais da trabalhadora 8	160
Figura 69. Espirometria das amostras controlo e indústria do calçado no início e final do período semanal de trabalho	162
Figura 70. F _E NO na amostra controlo e no início e final do período semanal de trabalho na indústria do calçado	163
Figura 71. Arginina no EBC. (indústria do calçado)	166
Figura 72. Ornitina no EBC. (indústria do calçado)	166
Figura 73. Prolina no EBC. (indústria do calçado)	166
Figura 74. Hidroxiprolina no EBC. (indústria do calçado)	166
Figura 75. Citrulina no EBC. (indústria do calçado)	166
Figura 76. Isoleucina no EBC. (indústria do calçado)	166
Figura 77. Leucina no EBC. (indústria do calçado)	167
Figura 78. Tirosina no EBC. (indústria do calçado)	167
Figura 79. ADMA no EBC. (indústria do calçado)	167
Figura 80. SDMA no EBC. (indústria do calçado)	167
Figura 81. MDA no EBC. (indústria do calçado)	167
Figura 82. HNE no EBC. (indústria do calçado)	167
Figura 83. 8-isoprostano no EBC. (indústria do calçado)	168
Figura 84. Nitratos no EBC. (indústria do calçado)	168

Figura 85. Registo dos valores instantâneos de COVs totais do trabalhador 7	170
Figura 86. Registo das médias horárias de COVs totais do trabalhador 7	170
Figura 87. Espirometria da amostra controlo e no início e final do período semanal de trabalho na indústria dos plásticos.....	172
Figura 88. F _E NO na amostra controlo e no início e final do período semanal de trabalho na indústria de plásticos	173
Figura 89. Arginina no EBC (indústria de plásticos)	176
Figura 90. Ornitina no EBC (indústria de plásticos).....	176
Figura 91. Prolina no EBC (indústria de plásticos).....	176
Figura 92. Hidroxiprolina no EBC (indústria de plásticos).....	176
Figura 93. Citrulina no EBC (indústria de plásticos)	176
Figura 94. Isoleucina no EBC (indústria de plásticos).....	176
Figura 95. Leucina no EBC (indústria de plásticos).....	177
Figura 96. Tirosina no EBC (indústria de plásticos)	177
Figura 97. ADMA no EBC (indústria de plásticos).....	177
Figura 98. SDMA no EBC (indústria de plásticos).....	177
Figura 99. MDA no EBC (indústria de plásticos).....	177
Figura 100. HNE no EBC (indústria de plásticos).....	177
Figura 101. 8-isoprostano no EBC (indústria de plásticos).....	178
Figura 102. Nitratos no EBC (indústria de plásticos).....	178

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1. Número de casos de doenças profissionais certificadas. Continente, 2005-2008	8
Quadro 2. Causas ocupacionais de Pneumonite de Hipersensibilidade	17
Quadro 3. Causas ocupacionais de Cancro de Pulmão	29
Quadro 4. Cronograma do Projeto FUMEXP	88
Quadro 5. Caracterização da amostra do Projeto FUMEXP	89
Quadro 6. Monitorização em laboratório móvel de qualidade do ar	91
Quadro 7. Intervalos de medição e resolução dos equipamentos	92
Quadro 8. Especificações de medição de PM _{2,5} do SIDEPAK AM510	93
Quadro 9. Dados meteorológicos para os ensaios 2008, 2009 e 2010	97
Quadro 10. Estatística anual de fogos florestais no período de 2008 a 2010.	99
Quadro 11. Caracterização da amostra da indústria do calçado	112
Quadro 12. Caracterização da amostra indústria de plásticos	114
Quadro 13. Caracterização da amostra controlo	115
Quadro 14. Requisitos legais de qualidade do ar	117
Quadro 15. Concentrações médias horárias nos ensaios de campo 2008 e 2009	118
Quadro 16. Resultados da monitorização individual no ensaio de campo “Gestosa 2008”	120
Quadro 17. Resultados da monitorização individual no ensaio de campo “Gestosa 2009”	121
Quadro 18. Resultados da monitorização individual no ensaio de campo “Gestosa 2010”	122
Quadro 19. Recomendações para limites de exposição ocupacional	123
Quadro 20. Médias horárias mais elevadas (CO, NO ₂ e COV) e médias de 24 h para PM _{2,5}	126
Quadro 21. Correlação entre os valores de monitorização individual nos ensaios de campo .	126
Quadro 22. Fogos florestais 2008-2010, envolvendo bombeiros monitorizados	128
Quadro 23. Resultados da monitorização individual nos fogos florestais de 2008	129
Quadro 24. Resultados da monitorização individual nos fogos florestais de 2009	130
Quadro 25. Resultados da monitorização individual nos fogos florestais de 2010 (1ª parte) .	131
Quadro 26. Resultados da monitorização individual nos fogos florestais de 2010 (2ª parte) ..	132
Quadro 27. Médias horárias mais elevadas (CO, NO ₂ e COV) e médias de 24 h para PM _{2,5} nos fogos de 2008	134
Quadro 28. Médias horárias mais elevadas (CO, NO ₂ e COV) e médias de 24 h para PM _{2,5} nos fogos de 2009	134
Quadro 29. Médias horárias mais elevadas (CO, NO ₂ e COV) e médias de 24 h para PM _{2,5} nos fogos de 2010	135
Quadro 30. Valores obtidos no inquérito SF-36v2 e comparação com os valores nacionais ...	137
Quadro 31. Medidas sumário física (MSF) e mental (MSM) e comparação com os valores nacionais	137
Quadro 32. Valores obtidos para o SF-6D e comparação com os valores nacionais	138
Quadro 33. Espirometria da amostra controlo e da amostra dos bombeiros no início do Projeto FUMEXP	139
Quadro 34. Espirometrias da amostra no início e no final do Projeto FUMEXP	140
Quadro 35. Valores de classes de CO no ensaio “Gestosa 2008”	140
Quadro 36. Valores de CO e %COHb na amostra controlo e pré-ensaio “Gestosa 2009”	141
Quadro 37. Valores de CO e %COHb pré e pós-ensaio “Gestosa 2009”	141
Quadro 38. Valores de CO e %COHb na amostra controlo e pré-ensaio “Gestosa 2010”	143
Quadro 39. Valores de CO e %COHb pré e pós-ensaio “Gestosa 2010”	143

Quadro 40. Valores da F _E NO na amostra controlo e pré-ensaio “Gestosa 2008”	144
Quadro 41. Valores da F _E NO pré e pós-ensaio “Gestosa 2008”	144
Quadro 42. Valores da F _E NO na amostra controlo e pré-ensaio “Gestosa 2009”	145
Quadro 43. Valores da F _E NO pré e pós-ensaio “Gestosa 2009”	145
Quadro 44. Valores da F _E NO na amostra controlo e pré-ensaio “Gestosa 2010”	146
Quadro 45. Valores da F _E NO pré e pós-ensaio “Gestosa 2010”	146
Quadro 46. Valores de CO e %COHb na amostra controlo e na amostra pré-época de incêndios florestais.....	147
Quadro 47. Valores de CO e %COHb pré-exposição e pós-incêndios reais	147
Quadro 48. Valores da F _E NO na amostra controlo e pré-incêndios reais	148
Quadro 49. Valores da F _E NO pré-exposição e pós-incêndios reais.....	148
Quadro 50. Valores do EBC na amostra controlo e pré-ensaios da Gestosa	150
Quadro 51. Valores do EBC nas amostras pré e pós-ensaios da Gestosa	151
Quadro 52. Valores do EBC nas amostras pré-exposição e pós-incêndio real.....	152
Quadro 53. Valores do EBC nas amostras pós-ensaio de campo e pós-incêndio real.....	153
Quadro 54. COVs (média ponderada e valor máximo observado em ppm) – indústria do calçado	159
Quadro 55. Concentrações obtidas em locais de trabalho relevantes – indústria do calçado. 160	
Quadro 56. Valores das espirometrias da amostra controlo e da amostra industrial, pré-trabalho.....	161
Quadro 57. Valores das espirometrias da amostra industrial, pré e pós-trabalho.....	161
Quadro 58. Valores da F _E NO na amostra controlo e na amostra industrial pré-trabalho	162
Quadro 59. Valores da F _E NO na amostra industrial pré e pós-trabalho	162
Quadro 60. Valores do EBC nas amostras controlo e industrial pré-trabalho	164
Quadro 61. Valores do EBC na amostra industrial, pré e pós-trabalho	165
Quadro 62. COVs totais monitorizados na amostra da indústria dos plásticos.....	169
Quadro 63. Concentrações obtidas em locais de trabalho relevantes – indústria dos plásticos	171
Quadro 64. Valores das espirometrias da amostra controlo e da amostra industrial, pré-trabalho	171
Quadro 65. Valores das espirometrias da amostra industrial, pré e pós-trabalho.....	172
Quadro 66. Valores da F _E NO na amostra controlo e na amostra industrial pré-trabalho	173
Quadro 67. Valores da F _E NO na amostra industrial pré e pós-trabalho	173
Quadro 68. Valores do EBC nas amostras controlo e industrial, pré-trabalho	174
Quadro 69. Valores do EBC na amostra industrial, pré e pós-trabalho	175
Quadro 70. Principais estudos de função ventilatória envolvendo bombeiros florestais	185

LISTA DE ABREVIATURAS

- %COHb – percentagem de carboxihemoglobina
AAE – Alveolite alérgica extrínseca
ACCP – *American College of Chest Physicians*
ACGIH – *American Conference of Governmental and Industrial Hygienists*
ACOEM – *American College of Occupational and Environmental Medicine*
ADAI – Associação para o Desenvolvimento da Aerodinâmica Industrial
ADMA – *Asymmetric dimethylarginine*; Dimetilarginina assimétrica
APCI – Ionização química à pressão atmosférica
ARDS – *Acute Respiratory Distress Syndrome*
ASCC – *Australian Safety and Compensation Council*
ATS – *American Thoracic Society*
BML – Bombeiros Municipais da Lousã
BOLD – *Burden of Obstructive Lung Diseases*
BSC – Bombeiros Sapadores de Coimbra
BVA – Bombeiros Voluntários de Albergaria -a-Velha
BVCP – Bombeiros Voluntários de Castanheira de Pêra
CAREX – Estudo *Carcinogen Exposure*
CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*
CG – Cromatografia Gasosa
cGMP – *Cyclic guanosine monophosphate*. Monofosfato cíclico de guanosina
CIPVS – Concentração Imediatamente Perigosa para a Vida ou Saúde
CNPRP – Centro Nacional de Proteção Contra os Riscos Profissionais
CO – Monóxido de carbono
COV – Compostos Orgânicos Voláteis
CPT – Capacidade Pulmonar Total
CVF – Capacidade Vital Forçada
CWP – *Coal Workers' Pneumoconiosis*; Pneumoconiose do Trabalhador do Carvão
DC – Dor corporal
DE – Desempenho emocional
DEM₂₅ – Débito expiratório mediano a 25% da CVF (F₂₅)
DEM₂₅₋₇₅ – Débito expiratório mediano entre 25% e 75% da CVF (DEM)
DEM₅₀ – Débito expiratório mediano a 50% da CVF (F₅₀)
DEMI – Débito Expiratório Máximo Instantâneo
DF – Desempenho físico
DL_{CO} – Capacidade de difusão para o monóxido de carbono
DL_{CO}/VA – Capacidade de difusão para o monóxido de carbono ajustada à ventilação alveolar
DNPH – 2,4 dinitrofenilhidrazina.
DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica
EAGLE – *Environment and Genetics in Lung Cancer Etiology*
EBC – *Exhaled breath condensate*; Condensado do ar exalado
ECCS – *European Community for Steel and Coal*
ECP – *Eosinophilic Cationic Protein*
EDRF – *Endothelium-derived relaxing factor*; Fator de relaxamento derivado do endotélio

EGF – *Epidermal Growth Factor*; Fator de crescimento epidérmico
EIA – *Enzymatic Immunoassay*; Imunoensaio enzimático
eNOS – NO sintase endotelial
EPA – *Environmental Protection Agency*
EPI – Equipamento de Proteção Individual
ERS – *European Respiratory Society*
EUA – Estados Unidos da América
EWCS – *European Working Conditions Survey*
F_ENO – Fração de óxido nítrico no ar exalado
FEV₁ – Volume Expiratório Forçado no 1.º segundo
FEV₁/CVF – Quociente entre o Volume expiratório máximo no 1.º segundo e a Capacidade Vital Forçada
FF – Função física
FGF – *Fibroblast Growth Factor*; Fator de crescimento dos fibroblastos
FIA – *Flow Injection Analysis*; Análise de injeção de fluxo
FS – Função social
GLM – *General Linear Model*
GPS – *Global Positioning System*
H₂O₂ – Peróxido de hidrogénio
Ha – Hectare
HNE – 4-hidroxinonenal
HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*. Cromatografia Líquida de elevada performance
IARC – *International Agency for Research on Cancer*
ICAM-1 – *Intercellular Adhesion Molecule -1*. Molécula de Adesão Intercelular-1
IGF – *Insulin-like Growth Factor*; Fator de crescimento de tipo insulínico
IL-10 – Interleucina 10
iNOS – NO sintase indutível
ISO – *International Organization for Standardization*
LBA – Líquido de lavagem broncoalveolar
LC/APCI-MS/MS – *Liquid Chromatography/Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry*; Cromatografia Líquida/Espectrometria de Massa *Tandem* com Ionização Química à Pressão Atmosférica
LC-ESI-MS/MS – Cromatografia líquida associada a ionização por *electrospray* com espectrometria de massa
LC-MS/MS – *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry*; Cromatografia Líquida – Espectrometria de massa sequencial
LEL – *Lower Explosive Limit*; Limite explosivo inferior
LIN – Limite Inferior do Normal
LMERT – Lesões Músculo-esqueléticas Relacionadas com o Trabalho
LOD – *Limit of detection*; Limite de deteção
LOQ – *Limit of quantification*; Limite de quantificação
LTB₄ – Leucotrieno B₄
LTC₄ – Leucotrieno C₄
LTD₄ – Leucotrieno D₄

LTE₄ – Leucotrieno E₄
MCP-1 – *Monocyte chemoattractant protein-1*; Proteína-1 quimiotática dos monócitos
MDA – Malondialdeído
MMP-1 – Metaloprotease da matriz-1
MOS – *Medical Outcomes Study*
MPO – Mieloperoxidase
MS – Espectrometria de Massa
MSF – Medidas sumário física
MSM – Medidas sumário mental
NIOSH – *National Institute for Occupational Safety and Health*
nNOS – NO sintase neuronal
NO – Óxido nítrico
NO₂ – Dióxido de azoto
NO₂⁻ – Nitrito
NO₃⁻ – Nitrato
NOS – NO sintase
NO_x – Óxidos de azoto
NWAHS – *North West Adelaide Health Study*
OR – *Odds Ratio*
OASYS – *Occupational Asthma Software System*
OES – *Occupational Exposure Standards*
OIT – Organização Internacional do Trabalho
OMS – Organização Mundial da Saúde
PAS – *Periodic Acid-Schiff*; Coloração ácido periódico-Schiff
PCR – Proteína C Reativa
PDGF – *Platelet-derived growth factor*; Fator de crescimento derivado das plaquetas
PET – Tomografia por Emissão de Positrões
PG – Prostaglandinas
PGD₂ – Prostaglandina D₂
PGE₂ – Prostaglandina E₂
PGF_{2α} – Prostaglandina F_{2α}
PH – Pneumonite de hipersensibilidade
PID – *Photoionization detector*
PM_{2,5} – Matéria particulada com diâmetro aerodinâmico inferior a 2,5 µm
PM_{3,5} – Matéria particulada com diâmetro aerodinâmico inferior a 3,5 µm
PM₁₀ – Matéria particulada com diâmetro aerodinâmico inferior a 10 µm
PTC – Pneumoconiose do Trabalhador do Carvão
PTFE – Politetrafluoroetileno
RNS – *Reactive Nitrogen Species*
ROS – *Reactive Oxygen Species*
RPI – Razão Padronizada de Incidência
RS-NO – Espécies Reativas de Óxido Nítrico
SDMA – *Symmetric dimethylarginine*; Dimetilarginina assimétrica
SG – Saúde geral
SI – Sistema Internacional

SiO₂ – Dióxido de sílica
SM – Saúde mental
SNC – Sistema Nervoso Central
SPIROLA – *Spirometry Longitudinal Data Analysis Software*
TCAR – Tomografia computadorizada de alta resolução
TGFβ – *Transforming Growth Factor β*
TIMP-1 – Inibidor tissular da metaloprotease
TLV – *Threshold Limit Values*
TLV-C – *Threshold Limit Value – Ceiling*
TLV-STEL – *Threshold Limit Value – Short Term Exposure Limit*
TLV-TWA – *Threshold Limit Value - Time-Weighted Average*
TNFα – *Tumor necrosis factor alfa*; Fator de necrose tumoral alfa
TXA₂ – Tromboxano A₂
TxB₂ – Tromboxano B₂
UE – União Europeia
VEGF – *Vascular Endothelial Growth Factor*; Fator de crescimento endotelial vascular
VLE – Valor Limite de Exposição
VLE-CD – Valor Limite de Exposição – Curta Duração
VLE-CM – Valor Limite de Exposição – Concentração Máxima
VLE-MP – Valor Limite de Exposição – Média Ponderada
VMV – Ventilação Máxima Voluntária
VR – Volume Residual
VRE – Volume de Reserva Expiratória
VT – Vitalidade
WTC – *World Trade Center*

RESUMO

Dentro das múltiplas áreas abrangidas pela Medicina Preventiva, a Saúde Ocupacional suscita cada vez maior atenção, sobretudo pela necessidade de avaliar continuamente a saúde dos trabalhadores, nas mais diversificadas áreas do Trabalho.

Uma moderna abordagem da compreensão dos fenómenos que envolvem o binómio saúde-doença privilegiará as formas primárias e eventualmente secundárias de prevenção: pretende-se evitar a exposição a fatores indutores de doença, criando ambientes de trabalho seguros e saudáveis, mas também reconhecer, muito precocemente, as primeiras alterações fisiopatológicas, ainda antes da evolução para doença irreversível.

Na área ocupacional respiratória tem sido dado pouco relevo às novas metodologias de avaliação, onde destacamos os múltiplos biomarcadores do Condensado Respiratório (EBC) e a Fração Exalada de Óxido Nítrico (F_eNO), que podem aportar informação preciosa sobre mecanismos fisiopatológicos onde se destacam o stresse oxidativo, o stresse nitrosativo e a peroxidação lipídica.

Foi objetivo central desta tese contribuir para o estudo integrado e não invasivo das alterações respiratórias potencialmente induzidas por exposições ocupacionais inalatórias, através de metodologias inovadoras e, desta forma, criar estratégias com aplicabilidade futura no âmbito da Saúde Ocupacional.

Desenvolveram-se dois Projetos de Investigação complementares:

- O Projeto FUMEXP, efetuado numa parceria entre a Universidade de Aveiro (coordenação) e a Universidade de Coimbra estudou, durante um triénio, os efeitos para a saúde resultantes da exposição ao fumo dos incêndios florestais, em quatro Corporações de bombeiros da Região Centro de Portugal durante três ensaios de campo com fogo prescrito e em todos os eventos de combate a incêndios florestais reais.

Observaram-se valores muito elevados de exposição ao CO e às $PM_{2,5}$ e algumas excedências do NO_2 face aos Valores Limite. Os COVs totais atingiram valores de 88 ppm. Observaram-se correlações entre os valores monitorizados de CO e de $PM_{2,5}$, entre CO e COVs e entre NO_2 e COVs.

Os valores obtidos no inquérito SF-36v2 e no inquérito SF-6D foram superiores aos valores observados para a população portuguesa geral; houve uma diminuição, não significativa, de algumas destas dimensões ao longo do Projeto.

Houve uma diminuição significativa de alguns parâmetros espirométricos [FEV₁, DEM₅₀, DEM₂₅ e DEM₂₅₋₇₅] nos três anos do Projeto.

Entre as medidas obtidas antes e após exposição ocupacional houve um aumento significativo do CO exalado e diminuição significativa da F_ENO.

Nos múltiplos biomarcadores do EBC (aminoácidos, metabolitos, aldeídos, nitratos, 8-isoprostano) obtiveram-se valores significativamente superiores em quase todos os parâmetros face à amostra controlo. Ao comparar os mesmos parâmetros nas amostras pré e pós ensaios de campo, observaram-se aumentos estatisticamente significativos dos valores de arginina, ornitina, prolina, hidroxiprolina, citrulina, isoleucina, leucina, tirosina, ADMA, SDMA e MDA.

Todos os biomarcadores do EBC, à exceção do nitrato, foram significativamente mais elevados nas amostras colhidas após incêndio real, em comparação com os valores basais, pré-exposição, dos mesmos bombeiros.

- Projeto de Investigação na Indústria

Selecionaram-se amostras de dois sectores empresariais importantes, o do calçado e o dos componentes e transformação de plásticos, com exposições conhecidas a solventes orgânicos.

Foram efetuadas monitorizações individuais de COVs ao longo de um dia de trabalho. Foram realizadas espirometrias, determinação da F_ENO e colheita de EBC, antes do início e depois do final do período semanal de trabalho.

Na amostra da indústria do calçado observaram-se valores elevados de exposição a COVs totais (média de 279,2±146,9 ppm) e valores de pico próximos do valor de deteção do equipamento (1000 ppm).

Face à amostra controlo, verificaram-se valores espirométricos significativamente mais baixos de DEMI, DEM₂₅ e DEM₂₅₋₇₅. Os valores do FEV₁ e da CVF diminuíram significativamente entre o início e o final da semana de trabalho. A F_ENO subiu não significativamente entre os dois tempos de colheita.

No estudo do EBC obtiveram-se valores superiores de todos os parâmetros medidos no final da semana de trabalho, com exceção da tirosina. Esta diferença foi estatisticamente significativa para a citrulina, SDMA e nitrato.

Na indústria de plásticos observaram-se valores mais baixos de exposição a COVs totais ($22,5 \pm 15,47$ ppm).

Comparativamente à amostra controlo, a amostra industrial antes do início do trabalho apresentou valores mais baixos dos parâmetros espirométricos FEV_1/CVF e DEM_{25-75} . Não se observaram diferenças estatisticamente significativas dos valores espirométricos ao longo da semana de trabalho. De igual modo, não se observaram diferenças estatisticamente significativas nas medidas da F_eNO .

Nas análises do EBC desta amostra, antes do início do trabalho, todos os valores foram superiores aos da amostra controlo, com exceção do ADMA, que foi idêntico. Observaram-se diferenças estatisticamente significativas para arginina e 8-isoprostano. Ao comparar os valores das amostras de EBC colhidas antes do início e após o final da semana de trabalho não se verificaram diferenças com significado estatístico.

Este trabalho sugere que novas técnicas e métodos podem ser usados no estudo e avaliação das alterações fisiopatológicas potencialmente induzidas por riscos inalatórios ocupacionais. A conjugação e sinergias entre estes métodos e as formas mais clássicas de acompanhamento clínico (estudos espirométricos e imagiológicos), bem como a monitorização da exposição individual e ambiental, podem dar um contributo fundamental para a manutenção do estado de saúde dos trabalhadores expostos, objetivo basilar da Medicina Preventiva em âmbito ocupacional.

SUMMARY

Within the multiple areas of Preventive Medicine, increasing attention is being paid to Occupational Health. This fact is related with the need to continually assess the health of workers, in the most diverse areas and occupations.

A modern approach to the knowledge of the phenomena of health and illness in the workplace will focus on primary and possibly secondary prevention, aiming to prevent exposure to disease-inducing factors and to motivate the creation of healthy work environments and also to recognize, as early as possible, the first pathophysiological changes, before progression to irreversible disease occurs.

However, in the specific area of Occupational Respiratory Health, little has been done regarding the new evaluation methodologies, where we emphasize the study of multiple parameters and biomarkers on the Exhaled Breath Condensate (EBC) and the measurement of the Fractional Exhaled Nitric Oxide ($F_{E}NO$) that can give valuable information about some pathophysiological mechanisms underlying respiratory disease, such as oxidative stress, nitrosative stress and lipid peroxidation.

The central objective of this thesis was to contribute to the integrated and non-invasive study of the respiratory changes that could potentially be induced by inhaled occupational exposures, through these innovative methodologies, and thus detailing strategies for Preventive Medicine (under the Occupational Health scope), that can be used in the future.

We developed two research projects:

- The FUMEXP Project, in partnership with the Universities of Aveiro (team leader) and Coimbra, studied the health effects of smoke exposure on four forest firefighter brigades in Central Portugal for a period of three years, during prescribed burns and real forest fires.

Results: individual exposure monitoring: there were very high levels of CO and $PM_{2.5}$ exposure. Some of the NO_2 values were also high, but less significantly so when compared to the previous pollutants. The total VOCs reached values of 88 ppm. We saw positive correlations between the monitored values of CO and $PM_{2.5}$, between CO and VOCs and between NO_2 and VOCs.

SUMMARY

The firefighters of the sample had better scores on the SF-36v2 and SF-6D, when compared to the Portuguese population; we also saw a non significant decrease in some of the questionnaire dimensions.

We observed a statistically significant decrease in some spirometric measures, after the three years of the Project: FEV₁, F₅₀, F₂₅ and FEF₂₅₋₇₅.

We also reported a statistically significant increase in exhaled CO and a statistically significant decrease in F_ENO, between the measures obtained before and after prescribed and real forest fires.

Multiple biomarkers in EBC were assessed (aminoacids, metabolites, aldehydes, nitrates, 8-isoprostane). EBC analysis yielded significantly higher values for almost all parameters in the firefighter sample before exposure, when compared to the control group.

We saw statistically significant increases of arginine, ornithine, proline, hydroxyproline, citrulline, isoleucine, leucine, tyrosine, ADMA, SDMA and MDA after prescribed fires.

All the EBC biomarkers were also significantly higher after real forest fires, with the exception of nitrate.

- Industry Project

Samples were selected from two important business sectors, the footwear industry and the plastics industry, both of which are commonly known for inhalation exposure to organic solvents.

Individual monitoring of VOCs was carried out over a working day. All workers in the sample underwent spirometry, determination of F_ENO and EBC before the start and after the end of the working week; all data was compared to a control sample.

Results: in the sample of the footwear industry, we observed higher average levels of exposure to total VOCs (mean 279.2 ± 146,9ppm) and the peak values were very close to the detection limit (1000 ppm).

There were significantly lower spirometric values before starting work (PEF, F₂₅ and FEF₂₅₋₇₅) compared with the control group. The values of FEV₁ and FVC decreased significantly between the beginning and the end of the work week. F_ENO values did not increase significantly between these two timings.

EBC yielded higher values for all parameters measured at the end of the work week, with the exception of tyrosine. This difference was statistically significant for citrulline, SDMA and nitrate. In the plastics industry we monitored a lower exposure to total VOCs (22.5 ± 15.47 ppm).

Before the workshift, compared with the control group, the industrial sample presented lower values of some spirometric parameters (FEV_1/FVC and FEF_{25-75}). We did not observe statistically significant differences in spirometric values throughout the work week. Similarly, no statistically significant differences in measures of $F_E NO$ were found.

All the values of the EBC biomarkers were higher before starting the workshift, compared to the controls, with the exception of ADMA, which were identical. We saw statistically significant differences in arginine and 8-isoprostane. There were no significant differences in the EBC biomarkers collected before the start and after the end of the work week.

This work suggests that new techniques and methods can be used in the study and evaluation of the pathophysiological changes that are potentially induced by occupational inhalation risks. The synergism between these methods and some traditional forms of clinical follow-up (spirometry and imaging studies), as well as of individual and environmental exposure monitoring, can contribute decisively to the health of workers exposed to risk, which is the main goal of Preventive Medicine in occupational settings.

1. INTRODUÇÃO

1.1 DOENÇAS OCUPACIONAIS RESPIRATÓRIAS

O Sistema Respiratório constitui a principal interface entre o ser humano e o meio ambiente. Naturalmente, qualquer exposição inalatória significativa, com múltiplas particularidades distintas no que diz respeito ao tipo de substâncias inaladas, à sua concentração, às suas dimensões, aos seus aspetos físico-químicos e à sua interação com a biologia humana, é passível de provocar danos a curto ou longo prazo.

Particular atenção tem vindo a ser dada às exposições ambientais e aos efeitos da poluição atmosférica sobre a Saúde, de tal forma que muitas doenças (respiratórias e não só) parecem apresentar uma fração epidemiológica de risco que pode ser atribuída ao ambiente interior ou exterior.

As agressões inalatórias diárias sofridas a nível individual, bem como os mecanismos potenciais de exposição ambiental sofrida *in utero*, podem resultar no aumento da incidência e prevalência de várias patologias, onde se destaca a asma brônquica, a doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC), vários tipos de neoplasias (nomeadamente alguns cancros de pulmão e do sistema hematopoiético) e algumas doenças cardiovasculares, apenas para citar alguns dos exemplos mais reconhecidos.

No entanto, a outro nível, várias dificuldades existem na correlação e no estabelecimento de nexos de causalidade inequívocos entre as exposições sofridas em ambiente ocupacional e a gênese de algumas doenças respiratórias. Por outro lado, a alteração verificada nas últimas décadas do próprio paradigma do doente profissional, transformou o doente “tipo” (que era um trabalhador do sexo masculino portador de uma pneumoconiose), num trabalhador do sexo feminino portador de uma lesão músculo-esquelética relacionada com o trabalho, o que tacitamente levou a alguma subvalorização latente do impacto e gravidade das doenças ocupacionais do foro respiratório.

Infelizmente, muitos médicos consideram atualmente as doenças pulmonares ocupacionais e ambientais como complexas e difíceis de diagnosticar, sendo por vezes olhadas como “uma coisa do passado”.

A exposição a inúmeros agentes ambientais e ocupacionais tem um impacto significativo na saúde humana e a própria forma como surgem todos os dias riscos emergentes, novas tecnologias de trabalho e novas substâncias poluentes leva a que, no futuro, uma parcela cada

vez mais significativa das doenças respiratórias (entre outras) seja atribuída a estas situações (1).

1.1.1 Perspetiva histórica

A história das doenças ocupacionais respiratórias está intimamente ligada à própria história da Humanidade. Compreensivelmente, vários dos momentos mais altos do desenvolvimento tecnológico humano, foram também, infelizmente, acompanhados pelo aumento dos casos de patologia ocupacional.

Curiosamente, os avanços na ciência médica não modificaram como um todo o panorama das doenças ocupacionais respiratórias, tão-somente auxiliaram, muitas vezes, o seu diagnóstico mais precoce ou mais exato (como é o caso do advento da imagiologia torácica de alta resolução). Contrariamente, a modernização tecnológica introduziu cada vez mais riscos ocupacionais e ambientais, transformando radicalmente o ambiente inalatório do ser humano nos últimos séculos. Este fenómeno é de tal forma notável que pode levar, quer ao aumento significativo do número de casos de uma determinada patologia ocupacional previamente conhecida, quer ao próprio surgimento de novas doenças profissionais, nunca identificadas anteriormente. Exemplos claros desta situação são as atuais preocupações com o rápido desenvolvimento mundial das nanotecnologias e os potenciais riscos das nanopartículas (2), bem como as novas formas de Pneumonite de Hipersensibilidade [*Metal Fluid Lung* (3); *Nylon Flock Worker Lung* (4)].

As primeiras descrições da relação entre exposição ocupacional e doença respiratória datam já da Antiguidade. Seguramente, os níveis de exposição mais acentuados prendiam-se com o trabalho escravo, nomeadamente nas atividades de construção e de extração de minério, bem como na fundição de metais (1).

Naquela que parece ser a mais antiga referência histórica às formas primordiais de tentativa de proteção da via respiratória Blanc cita Plínio o Velho, que referia na sua História Natural que os indivíduos que lidavam com *minium* (“chumbo vermelho”) protegiam a face com máscaras de bexiga de animais, na tentativa de não inalarem o pó, que já então era considerado muito pernicioso (5).

Um exemplo notável da descrição dos diversos riscos profissionais é patente num famoso papiro egípcio (Papiro Sallier II - Ensino de Kheti, também conhecido como a Sátira das Profissões, escrito nas Dinastias XVIII e XIX, cerca de 1500 aC) (6).

Galeno referia também, no Século II, os riscos elevados no trabalho em minas de cobre (5).

Durante toda a Idade Média, particular atenção foi dada aos riscos de saúde relacionados com as atividades profissionais envolvendo metais, nomeadamente a sua fundição. Posteriormente, já no Renascimento, uma importância maior começa a ser dada à Saúde Ocupacional, induzida pela observação de inúmeros riscos específicos em diversas profissões. Para esta situação muito contribuiu a experiência pessoal de Paracelso, que inclusive foi responsável médico de uma mina na Europa central, publicando em 1533 o manual *Von der Bergsucht under anderen Bergkrankheiten*, relativo às doenças pulmonares dos mineiros (5).

Na obra *De Re Metallica* (Da Natureza dos Metais, 1556) Agricola (nome latinizado de Georg Bauer) efetua várias descrições dos riscos ocupacionais dos mineiros (*“Os críticos dizem que a mineração é uma atividade particularmente perigosa, porque os mineiros são muitas vezes mortos pelos ares pestilentos que respiram; os seus pulmões apodrecem. (...) quem não preferiria viver, ao invés de possuir todas as coisas, mesmo os metais?”*) (7, 8).

Mais tarde, surge a obra mais emblemática da história da Saúde Ocupacional, publicada em 1700 por Bernardino Ramazzini, *De Morbis Artificum Diatriba*, o primeiro trabalho abrangente sobre doenças ocupacionais (9, 10). Este texto descreve em detalhe as doenças dos trabalhadores em 40 ocupações diferentes. Têm particular interesse, na área respiratória da obra, as descrições sobre prováveis casos de asma ocupacional no trabalho provocados por farinhas e cereais e síndromas de disfunção reativa das vias aéreas por inalação de químicos irritantes e seus vapores.

Posteriormente, é a mineração de carvão e a influência que esta irá ter na futura Revolução Industrial, que levanta maiores preocupações no que toca à saúde respiratória dos trabalhadores expostos.

O enorme impacto do período da Revolução Industrial no desenvolvimento humano, mas também na sua saúde, traduz-se desde logo por uma verdadeira tríade de risco respiratório – indústria têxtil do algodão, sílica e carvão (5).

A partir deste período, surgem inúmeras obras sobre os riscos ocupacionais de diversas profissões, sendo de destacar o título *“The Effects of the Principal Arts, Trades, and Professions, and of Civic States and Habits of Living”* de Thackrah, publicado em 1831, que dá relevo aos riscos inalatórios de alguns ofícios mais afetados – trabalhadores do linho, das fundições, da moagem de cereais, do tabaco e das minas, entre outros. É precisamente aqui

que surge a primeira menção à avaliação espirométrica de trabalhadores expostos, com o recurso a um aparelho conhecido como “pulmómetro”, na avaliação dos trabalhadores que lidavam com linho (11).

Um pouco por todo o Mundo, começam a surgir obras e tratados relativos a doenças ocupacionais respiratórias; a génese de muitas delas baseou-se sobretudo em várias epidemias de silicose, com elevada mortalidade, bem como o reconhecimento dos nexos de causalidade entre a exposição profissional em minas de urânio e de amianto e o desenvolvimento de neoplasias malignas do Sistema Respiratório (5, 7).

Sobretudo a nível europeu verificou-se, essencialmente desde o Século XIX, uma grande proximidade entre a Saúde Ocupacional e a área da Higiene, bem como uma crescente aproximação às áreas da Toxicologia, como é exemplo a criação do jornal médico francês *“Annales d’Hygiene et de Médecine Legale”* (5).

Já no Século XX, e particularmente devido ao crescente esforço de guerra, inúmeros novos riscos inalatórios começam a surgir, sobretudo na indústria da aviação e do armamento.

Também a I Guerra Mundial acaba por ficar tristemente célebre pela utilização maciça de químicos letais sob a forma gasosa, o que veio indiretamente consciencializar largos grupos populacionais dos riscos inerentes à importante interface humana de exposição que é o Sistema Respiratório. Se até este ponto, pelo menos em termos gerais, a população mundial tinha essencialmente a noção que as doenças respiratórias provinham na sua maioria de agentes infecciosos, passam a compreender os elevados riscos inalatórios de gases e vapores, cuja maior probabilidade de exposição, fora de períodos de guerra, ocorre precisamente no ambiente ocupacional.

Os Estados Unidos da América (EUA) começaram, de igual modo, a ter cada vez mais visibilidade na área, muito por causa dos trabalhos de Alice Hamilton, pioneira na área da Medicina do Trabalho neste país, onde desenvolveu importante investigação sobre os novos equipamentos industriais geradores de silicose e de doença de Raynaud ocupacional e sobre a exposição a metais pesados e radioativos nos locais de trabalho, nomeadamente a intoxicação pelo chumbo e pelas tintas dos mostradores fluorescentes dos relógios (12-14).

Posteriormente e sobretudo durante o período da II Guerra Mundial e da Guerra Fria, verificou-se uma enorme expansão dos riscos inalatórios ligados à indústria, nomeadamente

energética, aeroespacial e transformadora, apresentando-se como exemplo, o advento da beriliose, associada a exposições previamente pouco comuns.

Em Portugal e atendendo às características geológicas do país, seria naturalmente expectável que a história da Medicina do Trabalho estivesse intimamente ligada à silicose.

Com efeito, a partir de 1936 começam a aparecer referências à silicose no âmbito legislativo nacional. O Relatório Preliminar do Primeiro Inquérito Nacional Sobre a Silicose em Minas, concluído em Julho de 1959, revelava que *“uma importante conclusão se pode no entanto, tirar: existe no nosso país um apreciável número de silicóticos e tuberculosos trabalhando nas minas, o que mostra a necessidade de se adotarem adequadas medidas de prevenção destas doenças”* (15).

Não obstante a participação nacional em alguns eventos internacionais na área, como sejam o *Congrés International des Accidents et des Maladies du Travail* – Bruxelas, 1938 e alguns acontecimentos da Organização Internacional do Trabalho – OIT, bem como a organização da Semana Portuguesa da Higiene Industrial (Lisboa, maio de 1931) e do I Congresso Médico Nacional dos Desastres do Trabalho (Lisboa, novembro de 1938), só em 1962 surge a primeira legislação de maior impacto no âmbito da organização da Saúde Ocupacional em Portugal (Decreto-Lei n.º 44308/62, de 27 de abril), criando as bases para a génese dos serviços de Medicina do Trabalho em Portugal, muito por causa da elevada prevalência da doença (segundo o próprio Decreto Lei, estimava-se em 75 mil o número de trabalhadores expostos ao risco de silicose; o rastreio radiológico numa amostra de 54 minas, revelou que, em 14835 mineiros, a percentagem de silicóticos oscilava entre 0,44 % e mais de 30 % do pessoal de cada uma) (15, 16).

Curioso é verificar a proximidade entre este estímulo legislativo nos anos sessenta do século passado e a própria criação da pós-graduação e da especialidade de Medicina do Trabalho em Portugal, uma vez que foi precisamente o Decreto-Lei n.º 44308/62, de 27 de abril (e posteriormente o Decreto n.º 44537/62, de 22 de agosto) que promoveram a organização de serviços médicos do trabalho nas minas, nos estabelecimentos industriais e noutros locais de trabalho em que existisse o risco de silicose, serviços esses que ficariam a cargo dos médicos do trabalho, cujo primeiro curso de especialização foi promovido em 1963 no então Instituto Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge e posteriormente na Escola Nacional de Saúde Pública e nas Faculdades de Medicina do Porto e de Coimbra a partir dos anos 80 (16).

Mesmo verificando-se uma contínua evolução na formação e no conhecimento abrangente em Saúde e Segurança no Trabalho, certo é que, contrariamente ao expectável, continuaram a surgir em pleno Século XX, inúmeros exemplos de verdadeiras epidemias de silicose, mesmo em países desenvolvidos e com tradição de boas práticas laborais; são disso exemplo 231 novos casos de silicose entre 2480 cerâmicos italianos seguidos durante uma média de 8 anos entre os anos de 1974 e 1987, 29 em 301 operários franceses expostos em olarias e 667 novos casos finlandeses entre os anos de 1964 e 1992, essencialmente ligados à indústria do vidro e às fundições (7).

O advento de novas tecnologias no Século XXI, a constante criação de modernos químicos de síntese, o contacto com novos e velhos agentes biológicos ocupacionais de risco respiratório e a sinergia entre exposições ocupacionais e ambientais (muito associadas igualmente ao fenómeno das alterações climáticas e ao aumento dos níveis de poluição atmosférica), promovem uma crescente preocupação para todos aqueles que lidam habitualmente com a patologia ocupacional respiratória.

1.1.2 Enquadramento europeu e nacional

A evolução da tipologia das doenças ocupacionais em Portugal é sobreponível ao que se tem vindo a observar em diversas economias de mercado mundiais nas últimas décadas: a transição de uma maior prevalência de doenças do foro respiratório para doenças músculo-esqueléticas relacionadas com o trabalho (17).

Já em 1997, a estimativa dos custos dos acidentes de trabalho e das doenças profissionais na União Europeia (UE) representava cerca de 12% do custo da produção bruta global (17).

Posteriormente, e já na União Europeia dos 27, um dos principais relatórios sobre Saúde e Segurança no Trabalho (*Labour Force Survey 2007*), mencionava que 8,6% dos trabalhadores na UE apresentava problemas de saúde relacionados com o trabalho no ano anterior, sendo que 40% dos trabalhadores da UE-27, ou seja, 80 milhões de trabalhadores, estavam expostos a fatores que podiam prejudicar a sua saúde física. As queixas respiratórias eram a sexta causa mais frequente na totalidade dos trabalhadores inquiridos (18).

De acordo com o módulo *Labour Force Survey ad hoc* de 2007 (últimos dados estatísticos disponíveis na UE), em Portugal, 6,8% dos trabalhadores inquiridos relatavam problemas respiratórios nos 12 meses anteriores ao inquérito e que relacionavam diretamente com o trabalho, sendo que a média da UE-27 era de apenas 3,7% (ou 5,2% ao excluir a França do inquérito, devido a diferenças metodológicas significativas), havendo um claro predomínio no

sexo masculino. O *European Working Conditions Survey* (EWCS) 2005 mostrou que 4,7% das pessoas que relataram que o trabalho afetava a sua saúde, o referiam por dificuldades respiratórias (18).

Uma alta proporção (71%) de trabalhadores cujos problemas respiratórios ou pulmonares eram mencionados como a principal situação de saúde relacionada com o trabalho, tinha tido absentismo por estas patologias nos últimos 12 meses, de acordo com o módulo *Labour Force Survey ad hoc* de 2007, sendo que 26% tinham estado mais de um mês ausentes do trabalho (18, 19).

A nível nacional, o Livro Verde dos Serviços de Prevenção, publicado pelo Instituto de Desenvolvimento e Inspeção das Condições de Trabalho em 1997, e posteriormente o Livro Branco dos Serviços de Prevenção das Empresas, publicado em 1999, suscitaram um amplo movimento de debate nacional, permitindo identificar as principais situações problemáticas no âmbito da Saúde Ocupacional em Portugal, bem como preconizar as soluções mais adequadas para as questões centrais dos Serviços de Prevenção (17, 20).

Segundo o Livro Branco, entre 1990 e 1996, o número de pensionistas por doença profissional respiratória em Portugal (classificada no léxico dessa obra como “pneumatose”), oscilou entre 10316 e 10492, representando o maior contributo dentro de todos os pensionistas nacionais por doença profissional e correspondendo a 60% do total (17).

Não será alheia a esta situação o facto, já anteriormente descrito, do trabalho ocorrer em condições significativas de insalubridade, nomeadamente em minas, pedreiras, na indústria cerâmica e na construção civil.

No ano de 2008, foram publicados pela Direção-Geral da Saúde, dados que apontam para uma média de 3496 doenças profissionais certificadas pelo CNPRP entre 2005 e 2008, sendo as doenças do Aparelho Respiratório as segundas mais certificadas, imediatamente a seguir às Lesões Músculo-esqueléticas Relacionadas com o Trabalho (LMERT) (Quadro1) (21).

Quadro 1. Número de casos de doenças profissionais certificadas. Continente, 2005-2008

Tipo de doenças	Número de casos por doença profissional			
	Ano 2005	Ano 2006	Ano 2007	Ano 2008
Doenças provocadas por agentes químicos	12	12	11	103
Doenças do aparelho respiratório	257	232	263	174
Doenças cutâneas	109	145	66	12
Doenças provocadas por agentes físicos	3176	3129	3230	2826
Doenças infecciosas e parasitárias	23	36	23	27
Outras doenças (atípicas)	47	23	16	31
Total	3624	3577	3609	3173

Adaptado de Elementos Estatísticos: Informação Geral: Saúde 2008 (21)

No ano de 2009, o Centro Nacional de Proteção Contra os Riscos Profissionais (CNPRP) certificou 4841 novos casos de doença profissional, dos quais 4410 se referiam a trabalhadores do regime geral e 431 a trabalhadores da administração pública. No mesmo ano foram registados 132 óbitos de beneficiários e pensionistas cuja causa da morte esteve relacionada com a doença profissional. Para o mesmo ano, os distritos com maior número de doentes profissionais eram os do Porto, Aveiro, Lisboa e Setúbal.

Dos casos referenciados para apreciação pelo CNPRP,

- 1859 casos foram reconhecidos como doença profissional com incapacidade;
- 1315 casos foram reconhecidos como doença profissional sem incapacidade;
- 1236 casos foram avaliados como não tendo doença profissional.

Dentro das doenças profissionais mais certificadas, encontram-se as LMERT e a surdez profissional (21, 22).

Não obstante terem sido solicitados atempadamente dados numéricos mais recentes a várias entidades nacionais, estes não nos foram fornecidas em tempo útil.

1.1.3 Principais patologias respiratórias de etiologia profissional

1.1.3.1 Pneumoconioses

As pneumoconioses são um grupo de doenças ocupacionais provocadas pela inalação de poeiras minerais (quer sejam fibras ou partículas) e pela subsequente resposta pulmonar a esta inalação (7, 23).

Milhões de trabalhadores continuam a executar tarefas diárias com elevado risco para o desenvolvimento de pneumoconioses, especialmente silicose, asbestose e pneumoconiose do trabalhador do carvão (PTC - *Coal Workers' Pneumoconiosis* - CWP). A associação com outras doenças, nomeadamente, neoplasias da pleura e do pulmão, tuberculose e doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC), causam habitualmente um elevado nível de incapacidade.

Trata-se de um problema com grande expressão mundial atual: por exemplo, na China, as pneumoconioses correspondem a cerca de 80% de todas as doenças ocupacionais respiratórias, enquanto no Vietname, cerca de 75,7% do total de casos de doença ocupacional com compensação pertence a este grupo nosológico. No Brasil, 6,6 milhões de trabalhadores encontram-se provavelmente expostos a poeiras contendo sílica cristalina respirável (24).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que pelo menos 1,7 milhões de trabalhadores nos Estados Unidos estão expostos à sílica e 10% estão em risco de desenvolver silicose (25).

Estudos epidemiológicos em países em desenvolvimento mostraram que entre 30% a 50% dos trabalhadores de indústrias primárias e de sectores de alto risco podem sofrer de silicose ou outras pneumoconioses (24).

Há três critérios *major* para o diagnóstico de uma pneumoconiose: uma exposição suficiente a uma poeira mineral indutora da doença, durante um período de latência apropriado; o reconhecimento de um padrão radiológico que vai ao encontro do estabelecido em termos internacionais e a comprovação da ausência de uma patologia que possa mimetizar uma pneumoconiose, nomeadamente a fibrose pulmonar idiopática, as micobacterioses e as doenças intersticiais pulmonares relacionadas com doenças do colagénio (7).

As principais pneumoconioses têm um elevado impacto na saúde dos trabalhadores, pois vão desencadear uma resposta fibrogénica pulmonar, enquanto um outro grupo menos frequente de pneumoconioses se pode considerar como hipo ou afibrogénica e se relaciona essencialmente com a deposição de partículas inorgânicas inaladas, sem a subsequente resposta fibrogénica progressiva. A este nível, citam-se a estanose, a siderose, a antracose e a baritose, entre outras (26).

Uma abordagem possível na avaliação de um doente com pneumoconiose passa por incluir uma história clínica (com ênfase na história de doença respiratória, história ocupacional e tabágica), exame físico, testes de função pulmonar (espirometria, volumes pulmonares e capacidade de difusão) e radiografia de tórax (23).

Uma gasometria deve ser obtida sempre que se verifica saturação baixa de oxigénio por oximetria. A tomografia computadorizada do tórax, nomeadamente com algoritmo de alta resolução (TCAR), é muito útil na avaliação do doente com pneumoconiose, devido à sua maior sensibilidade e capacidade de caracterização pulmonar, bem como devido a situações em que se exige um diagnóstico diferencial mais complexo. A TCAR é particularmente útil na criação de uma categorização precisa das alterações do parênquima em cada tipo de pneumoconiose (27-29).

Apesar das pneumoconioses poderem ser definidas em termos histopatológicos, raro é que seja necessária a obtenção de uma biópsia, (23) exceto quando o diagnóstico diferencial se revela difícil.

Na ausência de exame patológico do tecido pulmonar, os critérios habitualmente aceites recomendam que o diagnóstico de pneumoconiose seja estabelecido após uma análise cuidadosa de todos os achados clínicos relevantes, bem como a existência de uma história fidedigna de exposição e um intervalo de tempo adequado entre esta e a deteção das alterações (23, 30).

O Comité *ad hoc* da Assembleia Científica em Saúde Ambiental e Ocupacional da *American Thoracic Society* (ATS), considerou os seguintes achados clínicos como sendo de valor reconhecido para a asbestose, mas também extensíveis à outras pneumoconioses: evidência radiográfica torácica de pequenas opacificações, um padrão restritivo de compromisso pulmonar com capacidade vital forçada abaixo do limite inferior do normal, uma capacidade de difusão abaixo do limite inferior do normal e crepitações auscultatórias pulmonares não modificáveis através de tosse (23).

A patogénese das pneumoconioses baseia-se essencialmente numa resposta alveolar, com produção de citocinas inflamatórias, espécies reativas de oxigénio (ROS) e enzimas proteolíticas, levando à subsequente alteração pulmonar (31).

Nas pneumoconioses fibrogénicas a resposta patogénica é similar entre si: após a fagocitose das partículas inaladas, os macrófagos são ativados e libertam vários mediadores inflamatórios, causando uma resposta inflamatória com lesão celular e disrupção da matriz extracelular. Segue-se uma fase de reparação, em que fatores de crescimento estimulam o recrutamento e proliferação de células mesenquimatosas, provocando neovascularização e re-epitelização das áreas mais afetadas; durante esta fase, os mecanismos de reparação observados são anormais ou não controlados e levam ao desenvolvimento de fibrose

concomitante. Adicionalmente, o recrutamento neutrofílico observado pode contribuir para uma amplificação da resposta alveolar ao secretar fator de necrose tumoral alfa (TNF α) ou interleucina-1. Vários estudos demonstram que os macrófagos alveolares de indivíduos com silicose ou pneumoconiose do trabalhador do carvão, libertam espontaneamente quantidades significativas de fatores de crescimento tais como o PDGF (fator de crescimento derivado das plaquetas), IGF (fator de crescimento *insulin-like*) e FGF (fator de crescimento dos fibroblastos) (32).

Vários fatores podem influenciar o risco de desenvolvimento de uma pneumoconiose: suscetibilidade individual, natureza e duração da exposição, dimensão, morfologia da superfície e características físico-químicas das partículas inaladas, entre outras (32).

1.1.3.1.1 Silicose

A silicose resulta da inalação de poeiras contendo sílica sob a forma de dióxido de sílica (SiO₂) em fração respirável, sendo que a forma mais frequente de sílica cristalina é o quartzo, seguida pela cristobalite e tridimite (32, 33). A sílica amorfa, presente por exemplo nas terras diatomáceas, só constitui risco se calcinada por exposição a temperaturas elevadas (34).

Diversos tipos de exposição ocupacional podem desencadear silicose. Destacam-se trabalhos na indústria extrativa, fundições de ferro, aço ou outros metais onde se utilizam moldes de areia, cerâmicas, produção de tijolos refratários, fabricação de vidros (tanto na preparação como também no uso de jato de areia usado para sua opacificação), perfuração de rochas na indústria da construção, decapagem com jato de areia, execução de trabalho em mármore, ardósia, granito e outras pedras decorativas, fabricação de material abrasivo, fabricação de cimento, escavação de poços, construção civil, tratamento de *jeans* por jato de areia e trabalho com próteses dentárias (33).

O granito, uma das rochas mais abundantes em Portugal, contém 25-40% de sílica (34).

A apresentação clínica e a evolução da silicose está muito dependente da interação entre o hospedeiro e o ambiente ocupacional. Assim, a silicose pode apresentar-se sob diversas formas: silicose crónica (simples ou complicada), silicose acelerada e silicoproteinose (33-35).

A silicose aguda ou silicoproteinose desenvolve-se de forma aguda após exposições maciças a sílica cristalina e mimetiza a proteinose alveolar, com presença de exsudato intra-alveolar rico em lipoproteínas que coram positivamente pela coloração PAS (Coloração ácido periódico-Schiff).

A silicose acelerada é similar à silicose crónica, mas desenvolve-se em períodos de tempo mais curtos, habitualmente 5 a 10 anos após o início da exposição profissional.

A silicose crónica é a forma mais habitualmente observada a nível ocupacional, começando a ser aparente após um período de cerca de 10 a 15 anos de indução.

A silicose crónica simples manifesta-se pela presença de pequenos nódulos silicóticos, de predomínio nos lobos superiores do pulmão e nos gânglios linfáticos e constituídos por diversas camadas de tecido conjuntivo, com partículas de sílica cristalina no seu interior.

A silicose crónica complicada resulta da coalescência dos nódulos silicóticos, formando massas sob a forma de conglomerados fibróticos que ocupam áreas cada vez mais significativas do pulmão (fibrose maciça progressiva) e podem cavar centralmente. Outras condições que podem estar também associadas à exposição ocupacional a sílica cristalina são a tuberculose e outras micobacterioses, a artrite reumatóide, a esclerodermia, a síndrome de Sjögren e a doença renal crónica. Em 1997 e posteriormente em 2009, a Agência Internacional de Investigação sobre o Cancro (IARC) classificou a cristobalite e também as suas outras formas cristalinas, como carcinogénio do Grupo I, tal como o fez o Programa Nacional de Toxicologia dos EUA (33, 35).

Habitualmente o diagnóstico é realizado pela conjugação de uma história clínica sugestiva com imagiologia torácica característica, nomeadamente através dos sistemas de classificação estandardizados sugeridos pela Organização Internacional do Trabalho (OIT) (36). Raramente é necessária a realização de biópsias pulmonares, que são habitualmente muito esclarecedoras, mas cujo papel só se torna fundamental no diagnóstico diferencial com outros quadros clínicos. O líquido de lavagem broncoalveolar (LBA) apresenta geralmente uma celularidade aumentada com um padrão misto linfocítico/granulocítico com uma linfocitose de predomínio T-CD8, com diminuição da relação CD4:CD8 (26, 37).

O estudo funcional respiratório revela de forma mais frequente uma síndrome restritiva, associada a uma diminuição da capacidade de difusão (33, 35).

A prevenção é fundamental, uma vez que não existem terapêuticas com sucesso significativo. Várias modalidades foram testadas (lavagem pulmonar total, inalação de alumínio, tetrandrina ou óxidos de polivinilpiridina, corticoterapia e imunossupressão sistémica) com pouco sucesso. A oxigenioterapia de apoio à deambulação e a de longa duração poderão ser necessárias em doentes que desenvolvam hipoxémia (de acordo com critérios específicos) e o transplante

pulmonar pode ser realizado em situações específicas constituindo uma opção em fases avançadas da doença, embora o sucesso pós-transplante pareça ser menor do que nos casos de fibrose pulmonar idiopática (33, 38).

1.1.3.1.2 Pneumoconiose do trabalhador do carvão (PTC)

Por motivos históricos, a PTC é bastante menos frequente em Portugal do que a silicose.

O carvão não é um mineral puro, resultando da acumulação de material vegetal coberto por rocha sedimentar, com um conteúdo progressivamente mais alto de carbono, sobretudo nas formas de antracite (7). Os potenciais mecanismos de lesão pulmonar pelo carvão incluem a sua citotoxicidade direta, a libertação de enzimas proteolíticas e de citocinas pelos macrófagos alveolares ativados e o estímulo à produção dos fibroblastos, com fenómenos de fibrogénese progressiva que podem evoluir para fibrose maciça progressiva, similar à observada na silicose, com opacidades superiores a 1 cm.

As poeiras de carvão são contudo menos fibrogénicas que as de sílica cristalina e o risco de desenvolver tuberculose concomitante é igualmente menor. A predileção das lesões pelos lobos superior dos pulmões também se manifesta (7).

A mácula de carvão, que representa histologicamente o achado mais comum da doença juntamente com o nódulo de carvão e que resulta dos fenómenos fibrogénicos subsequentes à fagocitose das partículas de carvão pelos macrófagos alveolares, corresponde macroscopicamente a áreas focais com pigmentação negra, rodeadas por enfisema focal (32). Patologicamente, a presença de pigmento antracósico não é suficiente para o diagnóstico; é necessária a presença de máculas de carvão e/ou nódulos (23). Uma característica da PTC é não respeitar os limites anatómicos pulmonares, podendo transpor cisuras e obliterar vasos e brônquios, à medida que as lesões progridem (32).

O diagnóstico é efetuado na presença de uma história ocupacional significativa, em que habitualmente existe um passado de trabalho em minas de carvão, acompanhada pelas alterações radiológicas de predomínio inicial nos lobos superiores e de uma síndrome restritiva no estudo funcional (embora também possam surgir frequentemente síndromas obstrutivas ou mistas). Mais uma vez, a prevenção primária e secundária são fundamentais para evitar a doença nos trabalhadores em risco (5, 23, 32).

1.1.3.1.3 Asbestose

Amianto ou asbesto é um termo geral aplicado a um grupo heterogéneo de minerais silicatados e hidratados de magnésio e que têm em comum uma tendência para separar-se em fibras (39).

As principais formas de amianto são crisótilo (amianto branco – forma serpentina); crocidolite (amianto azul); grunerite (amosite, amianto castanho); actinolite; antofilite e tremolite (40).

Estas fibras, inaladas e transportadas para o interior do sistema respiratório, podem desenvolver diversos tipos de patologia, em que se destaca a formação de placas pleurais, o espessamento pleural difuso, a asbestose, que constitui uma pneumoconiose com resposta fibrogénica pela inalação de amianto, o derrame pleural benigno induzido por amianto e várias formas de neoplasia (cancro do pulmão e mesotelioma pleural maligno).

O consumo máximo de amianto na Europa ocorreu um pouco antes de 1980, sendo usado em inúmeras situações, em que se destacam as suas propriedades ignífugas, de resistência à tração e isolantes térmicas e acústicas. A proibição total da utilização e comercialização de produtos que contenham amianto (pela aplicação da Diretiva 1999/77/CE da Comissão Europeia) deu-se apenas a 1 de janeiro de 2005 (40).

Todas as variedades de amianto têm um potencial cancerígeno. O Valor Limite de Exposição (VLE) segundo o Decreto-Lei n.º 266/2007, de 24 de julho, é fixado em 0,1 fibras/cm³ para todos os tipos de fibras de amianto (41, 42).

O diagnóstico clínico das doenças relacionadas com o amianto é baseado na entrevista detalhada ao doente, dados ocupacionais de exposição ao amianto, período de latência considerado adequado, sinais e sintomas, achados radiológicos e exames complementares de diagnóstico compatíveis. A confirmação histopatológica é necessária na suspeita de doenças malignas relacionadas com o amianto e na eventualidade da existência de outros diagnósticos diferenciais (43).

A asbestose é definida como uma fibrose pulmonar intersticial difusa do pulmão que é consequência da exposição ao amianto. Nem os aspetos clínicos, nem as alterações pulmonares observadas são suficientemente diferentes das de outras causas de fibrose intersticial que permitam o diagnóstico seguro sem uma história de exposição significativa a poeiras de amianto no passado ou a deteção de fibras ou corpos de amianto no tecido pulmonar muito em excesso do que é usualmente visto na população em geral (43).

A asbestose é geralmente provocada por níveis relativamente altos de exposição, associados a sinais radiológicos de fibrose do parênquima pulmonar. A sua clínica, inespecífica, engloba tosse seca, dispneia de esforço e ferveores auscultatórios tele-expiratórios de predomínio basal. Na radiografia torácica é habitualmente aparente a presença de infiltrados reticulo-micronodulares nas bases pulmonares (44). A TCAR permite uma caracterização mais precoce da doença, observando-se de modo geral, espessamentos dos septos inter e intra-lobares na periferia do pulmão, estrias parenquimatosas estendendo-se entre a pleura e o pulmão, aspetos em “favo de mel”, atelectasias discais e densidades parenquimatosas subpleurais (45). Em cerca de 10% dos indivíduos com asbestose histologicamente comprovada, a radiografia torácica é normal.

O diagnóstico patológico de asbestose é raramente obtido, mas exige a prova da presença de uma doença pulmonar intersticial com corpos de amianto em tecido humano (dois ou mais por cm^2 por campo microscópico) (23).

A exposição ao amianto é geralmente referida em termos de dose total ou cumulativa.

A dose final é resultante do tempo de exposição (em anos) e da intensidade da exposição, tal como definido pela concentração média de fibras por centímetro cúbico (f/cm^3) de ar do local de trabalho. Somente as fibras superiores a 5 μm de comprimento são contadas. Assim, um indivíduo exposto a duas fibras/ cm^3 durante dez anos, teria uma exposição total de 20 fibras/ano/ cm^3 (39). Os critérios do Relatório do Consenso de Helsínquia afirmam que a asbestose "pode ocorrer" com exposições na ordem de 25 fibras/ano/ cm^3 . Não há nenhuma evidência convincente de que a asbestose ocorra com exposições inferiores a dez fibras/ano/ cm^3 (39, 43).

O líquido de lavagem broncoalveolar (LBA) obtido por broncofibroscopia é uma ferramenta útil na asbestose, não só para avaliar a presença de uma alveolite linfocítica (e/ou neutrofílica) moderada, maior nas fases precoces e menor em doença mais avançada, e geralmente associada a relação CD4:CD8 aumentada, mas essencialmente para identificar e quantificar as fibras de amianto. Supõe-se que o número de corpos asbestósicos encontrados no LBA reflete a sua concentração no pulmão (37, 45). A recuperação de mais do que um corpo asbestósico/ml de LBA indica uma alta probabilidade de exposição ocupacional substancial ao amianto (30).

Os corpos asbestósicos (ou ferruginosos) podem ser vistos ao microscópio em LBA, expectoração induzida e tecido pulmonar. Estes são corpos em forma de halter, com cerca de

20 a 150 µm de comprimento, constituídos por fibras cobertas por uma camada de mucopolissacarídeos. O pigmento de ferro (que resulta da degradação da hemoglobina) fá-los parecer acastanhados (25, 30). O amianto anfíbolo forma a maioria dos corpos asbestósicos e é mais persistente no organismo do que o crisótilo (30).

O estudo funcional respiratório revela habitualmente alterações similares às de outras pneumoconioses: síndrome restritiva e diminuição da capacidade de difusão.

Mais uma vez, a prevenção e legislação de âmbito ocupacional desempenham um importante papel, uma vez que não existe terapêutica específica para a doença (39).

1.1.3.2 Pneumonite de Hipersensibilidade de etiologia ocupacional

A pneumonite de hipersensibilidade (PH), também apelidada previamente por alguns autores de alveolite alérgica extrínseca (AAE), é uma doença pulmonar complexa causada por uma reação imunitária desencadeada após a exposição respiratória a uma ampla variedade de antigénios, incluindo microrganismos, proteínas de origem vegetal e animal e compostos químicos. Cerca de 300 agentes já foram identificados como potencialmente causadores da doença (46-49).

Ao longo dos últimos 10 a 15 anos tem havido um crescente interesse nesta patologia, tendo inclusive sido criado um grupo de estudo da PH, e publicado um importante documento de trabalho revelando a cooperação entre o *National Heart, Lung and Blood Institute* dos EUA e o Departamento de Doenças Raras do *National Institutes of Health* dos EUA (49, 50).

Este grupo definiu a PH como uma doença pulmonar que manifesta sintomas de dispneia e tosse e que é resultante da inalação de um antigénio ao qual o doente tinha sido previamente sensibilizado. Algumas considerações se colocam: (1) A PH é uma doença pulmonar com ou sem manifestações sistémicas (tais como a febre e a perda de peso), (2) é causada pela inalação de um antigénio ao qual o indivíduo (por exemplo, o trabalhador) está sensibilizado, (3) a sensibilização e exposição isoladas na ausência de sintomas não definem a doença, uma vez que muitos indivíduos expostos desenvolvem uma resposta imune que se manifesta pela presença de anticorpos IgG para o antigénio em causa, muitas vezes com a presença de grande número de linfócitos nos seus pulmões, mas nunca vêm a desenvolver doença clínica (50).

Pensa-se que na Europa, as PH representem cerca de 4 a 15% de todas as doenças intersticiais pulmonares, e destas um número significativo pode ser correlacionado com o trabalho (50, 51).

Por exemplo, durante a sua vida, um agricultor tem uma probabilidade entre 0,5 a 3% de desenvolver PH (52).

Historicamente, investigadores portugueses têm desenvolvido valiosos trabalhos nesta área, nomeadamente na suberose e na doença pulmonar do criador de aves (53, 54).

As principais causas de PH podem ser divididas em três grandes categorias (agentes microbianos, proteínas animais e químicos com baixo peso molecular) (46).

No Quadro 2, apresentam-se alguns dos agentes etiológicos implicados.

Quadro 2. Causas ocupacionais de Pneumonite de Hipersensibilidade

Agente	Fonte	Doença
Agentes microbianos		
<i>Actinomicetes termofílicos</i>	Feno húmido	Pulmão do fazendeiro
	Água quente contaminada	Pulmão do humidificador
<i>Thermoactinomyces sacchari</i>	Cana de açúcar	Bagassose
<i>Thermoactinomyces vulgaris</i>	Cogumelos em decomposição	Pulmão do trabalhador de cogumelos
<i>Aspergillus clavatus</i>	Malte húmido	Pulmão do trabalhador do malte
<i>Aspergillus sp.</i>	Fungos do tabaco	Pulmão do trabalhador do tabaco
<i>Penicillium casei</i>	Queijo bolorento	Pulmão do lavador de queijo
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Poeira de sequoia	Sequoiiose
<i>Rhizopus sp.; Mucor sp.</i>	Aparas de madeira	Pulmão do serrador
<i>Penicillium sp.</i>	Cortiça bolorenta	Suberose
Enzimas do <i>Bacillus subtilis</i>	Detergentes	Pulmão do trabalhador dos detergentes
<i>Alternaria sp.</i>	Pasta de papel contaminada	Pulmão do trabalhador da pasta de papel
Proteínas		
Proteínas de origem aviária	Várias aves	Pulmão do criador de aves
Proteínas de pelos animais	Pelos animais	Pulmão do peleiro; pulmão do trabalhador de laboratório de experimentação animal
Proteínas da concha de moluscos	Pó das conchas de moluscos	Pulmão do trabalhador de moluscos
Químicos de baixo peso molecular		
Isocianatos	Plásticos, tintas	Pulmão do pintor
Anidridos	Tintas	Pulmão do trabalhador de plásticos
Químicos epoxy	Resinas epoxy aquecidas	Pulmão das resinas epoxy

Adaptado de Ho, 2012 e de Salvaggio, 1998 (46, 55).

O influxo celular e a resposta inflamatória característica da PH são iniciados pelos agentes etiológicos através de recetores *Toll-like* do sistema imunológico. Após a sua ativação, reagem

através de diversos sistemas e vias intracelulares, libertando múltiplas citocinas e quimiocinas, resultando essencialmente num recrutamento neutrofílico.

Vários estudos demonstram que a PH é sobretudo uma doença imunologicamente T *helper* de tipo 1, com libertação de fator de necrose tumoral, interferon alfa, IL-12 e IL-18, embora também se observe a libertação de IL-17 e IL-22. A libertação de citocinas promove a inflamação pulmonar observada na PH e joga um papel de equilíbrio fundamental com as células T reguladoras, cuja sobre-expressão pode explicar porque é que muitos indivíduos expostos aos mesmos agentes etiológicos não desenvolvem doença (50).

A clínica da doença pode assumir formas mais agudas, com febre e mal-estar geral e por vezes uma síndrome de tipo gripal (*flu-like*), formas subagudas e crónicas, com dispneia de esforço, baqueteamento digital, fervores e ralas à auscultação pulmonar. Contudo, Lacasse e col. referem, após estudo de coortes significativas de doentes, que existem sobretudo dois subgrupos (doença aguda e doença crónica), sendo difícil estabelecer critérios precisos para as formas subagudas (50). Os mesmos autores preconizaram seis preditores significativos para a presença de PH (exposição a um agente etiológico conhecido, precipitinas positivas, recorrência sintomatológica, crepitações inspiratórias à auscultação, sintomatologia após 4-8 horas do início da exposição e perda de peso). A presença dos seis preditores identificou corretamente 98% de toda a coorte estudada, enquanto nenhum doente apresentou ausência de todos os preditores.

No estudo da PH e após uma cuidadosa história clínica ocupacional e ambiental, destacam-se as seguintes características (27, 46, 50, 55-58):

- Radiografia torácica habitualmente normal nas fases mais precoces, ou então com infiltrados bilaterais simulando por vezes pneumonia nas formas agudas. Podem estar presentes alterações do tipo reticulo-micronodular.
- TCAR com nodulação centrilobular, áreas de hiperatenuação em “vidro despolido” de predomínio não inferior, com possível padrão em mosaico com áreas de encarceramento aéreo; em fases avançadas com reticulação, bronquiectasias de tração e áreas em “favo”, traduzindo fibrose.
- Estudo da função respiratória com padrão restritivo e diminuição da capacidade de difusão, com a exceção do pulmão do fazendeiro, que pode assumir um padrão obstrutivo preferencial.

- Presença de anticorpos IgG positivos para os antigénios causadores da doença (previamente conhecidos como precipitinas, por serem determinados através de técnicas de imunoprecipitação). Estes não são patognomónicos, uma vez que muitos trabalhadores expostos apresentam positividade para estes anticorpos, sem doença aparente.
- Possibilidade da presença de positividade em testes de provocação com o agente específico (embora não haja critérios standardizados, ao contrário do que acontece na asma ocupacional).
- LBA revelando habitualmente uma linfocitose > 30%. A inexistência de linfocitose no LBA exclui, em princípio, a doença ativa. A relação CD4:CD8 é habitualmente baixa, mas já foram observadas situações em que sucede o contrário, apresentando valores próximos dos presentes na sarcoidose (50, 59).

A terapêutica da PH está intimamente ligada à rápida evicção do estímulo etiológico ocupacional, desempenhando aqui um papel preponderante as atividades de Saúde e Segurança no Trabalho, nomeadamente no que toca à prevenção primária e secundária. Em termos farmacológicos, é essencialmente utilizada a corticoterapia sistémica oral, em formas agudas graves ou em formas crónicas com repercussão funcional ou rapidamente progressivas, com resultados diversos consoante as séries clínicas referenciadas. Poderão igualmente ser usados fármacos imunossuppressores, tais como a azatioprina (50, 55, 56).

1.1.3.3 Asma Ocupacional

A asma ocupacional é uma doença caracterizada por limitação variável do fluxo aéreo e/ou hiper-reatividade das vias aéreas, devidas a causas e condições atribuíveis a um ambiente de trabalho em particular e não a estímulos encontrados fora do local de trabalho. A asma ocupacional é a doença pulmonar respiratória mais comum em países desenvolvidos (60-66).

É sabido que um largo espectro de exposições ocupacionais pode induzir um agravamento de uma asma brônquica pré-existente, nomeadamente a poeiras, aeroalergéneos do ambiente *indoor* e *outdoor* e detergentes e soluções de limpeza (67).

Mais de 250 agentes foram associados etiologicamente à asma ocupacional. Os mais frequentes são os di-isocianatos, farinha e pó de diversos grãos, partículas em suspensão de alimentos (principalmente peixes), resinas, látex, partículas animais (especialmente de animais de laboratório), aldeídos e pós de madeira (68, 69).

A prevalência da asma relacionada com o trabalho não é conhecida, tendo-se estimado que cerca de 10 a 15% de toda a asma brônquica do adulto possa ser atribuída ao local de trabalho, incluindo-se nestes números os casos de asma ocupacional e de asma exacerbada pelo local de trabalho (70). Outros autores referem valores na ordem dos 5-25% do total de casos (62). Os custos europeus totais atribuíveis à asma relacionada com o trabalho não são conhecidos em detalhe, mas estima-se que possam atingir 1,2 mil milhões de euros/ano (64).

Especificamente, várias definições têm sido propostas ao longo dos anos por diversos autores, havendo precisamente alguma área de indefinição no que toca à distinção entre asma ocupacional provocada por estímulos existentes apenas nos locais de trabalho e/ou também fora deles. Assim, de forma mais globalmente aceite, o termo asma ocupacional refere-se especificamente a asma provocada pelas exposições observadas no local de trabalho (71).

Algumas definições mais abrangentes e por isso mais inespecíficas, referem um termo geral de asma relacionada com o trabalho (*work-related asthma*), que inclui a asma ocupacional e a asma exacerbada pelo trabalho (*work-exacerbated asthma*) (61, 71).

A Figura 1 apresenta a classificação fenotípica mais usual, sugerida por Bernstein e col. (72).

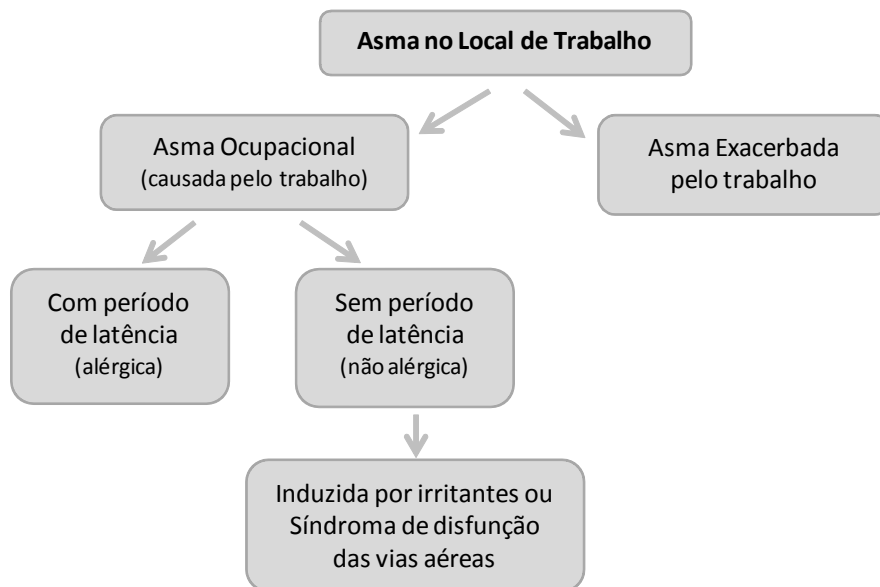


Figura 1. Fenótipos na Asma Ocupacional
[Adaptado de Bernstein e col., 2006 (72)]

Malo e Vandemplas sugeriram em 2011 um esquema mais complexo, que considera algumas outras síndromas clínicas observáveis em ambiente laboral, como se pode ver na figura 2.

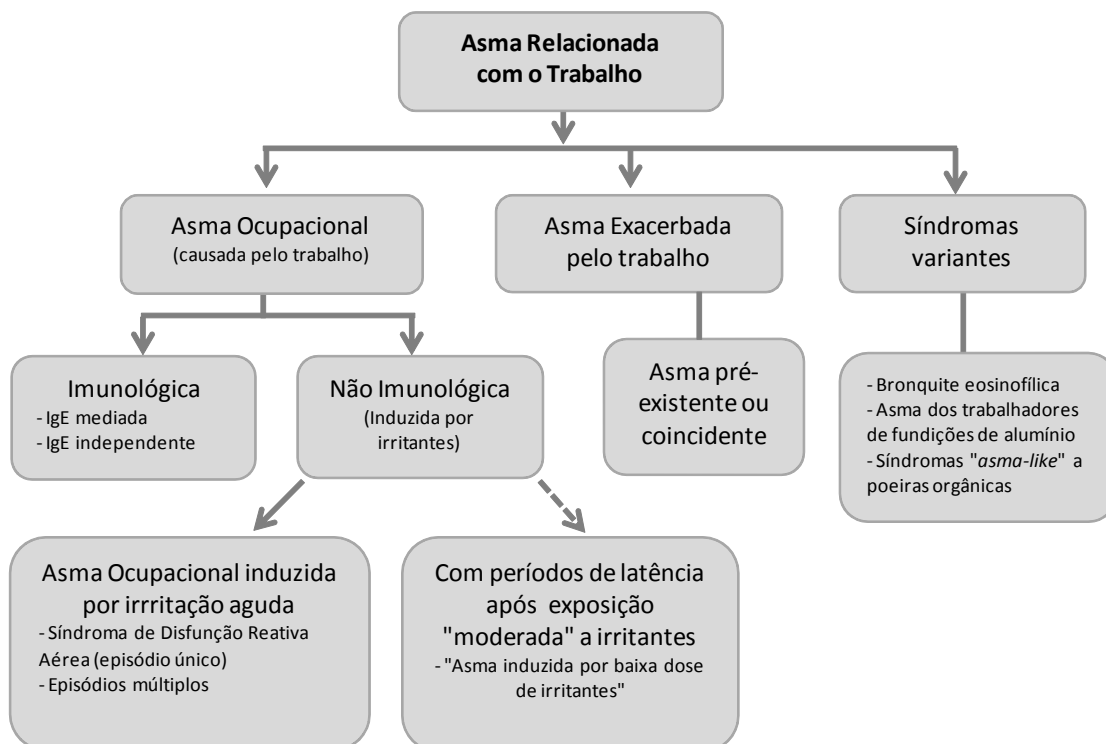


Figura 2. Esquema sugerido para definição de asma relacionada com o trabalho.
[Adaptado de Malo e Vandenas, 2011 (73)]

Dois tipos de asma ocupacional podem ser distinguidos, dependendo se são ou não mediados por mecanismos imunológicos: asma ocupacional imunológica e asma ocupacional não imunológica. Na primeira, observa-se habitualmente um período de latência durante o qual se processa a exposição e sensibilização ao agente ocupacional responsável. Dentro desta categoria encontra-se a asma ocupacional causada por todos os compostos de alto peso molecular e ainda alguns de baixo peso molecular (anidridos ácidos, sais de platina, alguns corantes). Nestas situações, estabeleceu-se um mecanismo imunológico IgE dependente inequívoco; de igual modo se encontra nesta categoria a asma ocupacional provocada por compostos de baixo peso molecular, através de mecanismos imunológicos não completamente conhecidos (di-isocianatos, cedro vermelho ocidental, acrilatos). Nas *Guidelines do American College of Chest Physicians*, esta última forma é conhecida como asma ocupacional induzida por sensibilizadores ("sensitizer-induced") (61, 63, 72).

A nomenclatura proposta pela Academia Europeia de Alergia e Imunologia Clínica sugere que a asma ocupacional mediada por mecanismos imunológicos (qualquer que seja a sua natureza exata) e que resulta em hipersensibilidade alérgica clínica, seja conhecida como asma ocupacional alérgica (74).

A asma ocupacional não imunológica é essencialmente caracterizada pela ausência de um período de latência, que seria necessário para a habitual resposta imunológica após uma sensibilização do hospedeiro. Com efeito, a sintomatologia pode ocorrer poucas horas após uma única exposição irritante no local de trabalho; a entidade clínica mais descrita neste tipo de asma ocupacional é a síndrome de disfunção reativa das vias aéreas, que cursa com início das queixas (tosse, dispneia, pieira) nas primeiras 24 horas após a exposição, as quais não aliviam significativamente fora do local de trabalho, não havendo qualquer período de latência prévio e sendo comprovada a presença de um padrão obstrutivo e/ou hiper-reatividade brônquica inespecífica (60, 61, 72).

A asma exacerbada pelo trabalho descreve um agravamento de uma asma pré-existente, manifestando-se habitualmente por aumento da frequência ou severidade dos sintomas e/ou do consumo de fármacos para o seu tratamento.

O diagnóstico da asma ocupacional é um processo complexo, havendo necessidade de estabelecer nexos de causalidade inequívocos entre uma determinada exposição profissional e o advento das queixas, excluindo outras causas não observáveis a nível laboral. O diagnóstico da asma ocupacional deve ser investigado antes de aconselhar o trabalhador a abandonar o seu local de trabalho, já que a evicção da exposição prolongada pode influenciar a fiabilidade dos procedimentos de diagnóstico (60). As implicações médico-legais a este nível são muito importantes.

Assim, o diagnóstico resulta essencialmente da integração de dados relativos à história clínica e ocupacional do doente, testes cutâneos de alergia, sempre que possível, pesquisa de IgE específica (nos casos de asma ocupacional imunológica IgE mediada), medições seriadas da função ventilatória no local de trabalho e fora deste, estudo funcional respiratório com provocação inespecífica e por vezes, se necessário, com o agente laboral suspeito.

Neste sentido, tem-se observado nos últimos anos o desenvolvimento de diversas recomendações e consensos internacionais, cujo objetivo primordial é o de estabelecer critérios homogêneos e definidos para o diagnóstico, tratamento e orientação médico-legal dos doentes. Assim, diversas Sociedades emitiram as suas recomendações na última década, nomeadamente a nível espanhol, britânico e americano (63, 75-79).

Têm particular destaque as recomendações do *American College of Chest Physicians* (ACCP) publicadas em 2008, atualizando a versão prévia de 1995 (63).

Este documento centrou-se não só no diagnóstico, mas também nos aspetos médico-legais e preventivos e considerou de particular importância a existência de fluxogramas adequados para o diagnóstico clínico, laboratorial e funcional dos quadros de asma ocupacional. Mais recentemente foram publicadas as recomendações da *European Respiratory Society* (ERS). A mensagem essencial destas orientações é que a gestão da asma relacionada com o trabalho pode ser consideravelmente otimizada com base no conhecimento atual das causas, fatores de risco, mecanismos fisiopatológicos e intervenções realistas e eficazes no local de trabalho (62).

Entre as principais diferenças face às recomendações do ACCP, destacam-se a criação de recomendações de prevenção primária e secundária, com vigilância médica específica e minuciosa dos trabalhadores em risco, bem como a menor valorização da obtenção de provas seriadas de hiper-reatividade brônquica com metacolina, dando maior importância à obtenção de medições múltiplas seriadas e objetiváveis por *softwares* específicos (por exemplo, OASYS) dos valores diários do Débito Expiratório Máximo Instantâneo (DEMI) (62, 64, 80, 81).

Quadro respiratório com algumas diferenças significativas é o da Bissinose. Esta denominação foi usada inicialmente no final do Século XIX para descrever a sintomatologia semelhante à asma brônquica observada nas fábricas de algodão do norte da Inglaterra (82).

Bissinose é um termo genérico aplicado a uma doença aguda e crónica das vias aéreas observada entre indivíduos expostos a poeiras vegetais resultantes da transformação de algodão, linho, cânhamo, juta, e, possivelmente, de outras fibras têxteis. A principal característica da bissinose é a clínica de dispneia que tipicamente ocorre logo após um fim-de-semana longe da exposição ocupacional, melhorando ao longo da semana de trabalho, tal como observou Schilling nos seus estudos iniciais publicados em 1955 e 1956 (83, 84). Este autor propôs uma forma de classificação da doença baseada essencialmente num inquérito sintomatológico do trabalhador. Mais recentemente, novas formas e metodologias de reconhecimento e estratificação da bissinose têm sido propostas, envolvendo já a monitorização da função ventilatória em ambiente laboral e fora dele (85).

1.1.3.4 Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica (DPOC) de etiologia ocupacional

A Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica (DPOC) é uma doença frequente, evitável e tratável e é caracterizada por uma obstrução persistente das vias aéreas, que é geralmente progressiva e está associada a uma resposta inflamatória crónica aumentada na sequência da inalação de partículas ou gases nocivos onde se podem encontrar seguramente diversos estímulos ocupacionais, não obstante a etiologia principal ser o fumo do tabaco. As exacerbações e co-

morbilidades contribuem para a gravidade global da doença. A obstrução persistente resulta de uma combinação de doença difusa das pequenas vias aéreas e destruição do parênquima pulmonar (86).

O termo “Bronquite Profissional” ou “Bronquite Industrial” muito usado sobretudo no Século XX e fazendo ainda parte, historicamente do léxico pneumológico, refere-se essencialmente à presença de queixas crónicas de tosse, dispneia e expectoração abundante em trabalhadores expostos a riscos inalatórios e é um pouco mais redutora do que a denominação “DPOC de etiologia profissional” pois esta última já envolve outras características, não apenas clínicas, no seu diagnóstico e supõe, também, a presença de limitação ventilatória obstrutiva demonstrável e fenómenos de destruição parenquimatosa pulmonar tipicamente associados, nomeadamente algumas formas de enfisema (87-90).

A DPOC é uma síndrome com muitos fenótipos e com uma projeção mundial em constante crescimento. Por exemplo, na Europa estima-se uma prevalência de cerca de 5 a 10% (consoante os critérios usados para o seu diagnóstico) e uma mortalidade de 18/100000 habitantes. Recentemente, o Programa BOLD (*Burden of Obstructive Lung Diseases*) documentou, em estudos espirométricos realizados a nível internacional, prevalência substancial da doença em nunca fumadores (3-11%), o que está provavelmente relacionado com as exposições profissionais e/ou ambientais, bem como com o envelhecimento da população (91). Em Portugal, num estudo efetuado na região de Lisboa, estimou-se uma prevalência de DPOC de 14,2%, em adultos com mais de 40 anos de idade (92).

O *Global Burden of Disease Study* da OMS projetou que a DPOC, que ficou em sexto lugar como causa de morte em 1990, se vai tornar a terceira maior causa de morte no mundo em 2020; uma projeção mais recente estima que a DPOC será a quarta principal causa de morte em 2030 (86, 93, 94).

Num estudo de Hnzi e col., que analisou 9823 indivíduos com idades entre 30-75 anos de uma amostra randomizada da população dos EUA, com base numa análise de indústrias e profissões e tendo em conta variáveis de confusão potenciais como tabagismo, idade, sexo e nível socioeconómico, foi estimado que o peso populacional geral de DPOC devida à exposição ocupacional a poeiras, gases, fumos e vapores ocupacionais, era de 19,2%; nos não-fumadores, a proporção de DPOC relacionada com o trabalho foi estimada em 31% (95).

Uma revisão sistemática da *American Thoracic Society* em 2003, estabeleceu um risco atribuível populacional de 15% para a etiologia ocupacional da doença (96). Em 2007, numa

revisão de oito estudos de base epidemiológica sobre DPOC, Blanc e Toren, referiram um risco atribuível populacional médio de 15% (0-37%) para a profissão (97).

De uma forma geral, numa metanálise efetuada por Blanc em 2012, a percentagem de risco atribuível populacional rondava os 15%, contudo, em nunca fumadores estes valores aproximaram-se de 40%, havendo uma forte sugestão de efeitos sinérgicos e aditivos entre risco de DPOC e tabagismo e profissão (98).

Também noutra estudo de 2012 de Mehta e col., valores mais elevados de risco atribuível profissional foram mencionados, chegando a atingir 43 a 56% em não fumadores, numa coorte de trabalhadores suíços estudados (99).

Tal como no cancro de pulmão ocupacional, a DPOC ocupacional é em tudo sobreponível à DPOC de outras etiologias, nomeadamente a tabágica, o que coloca especial dificuldade na estratificação do risco atribuível entre vários fatores causais sinérgicos e concomitantes, o que pode, por exemplo, dificultar a atribuição médico-legal de incapacidade (100).

Entre as principais dificuldades no estudo da DPOC ocupacional referem-se:

- Os trabalhadores doentes são em tudo indistinguíveis dos casos de DPOC não ocupacional;
- Em geral, no início da prática laboral, observa-se em média, um melhor estado de saúde (“efeito do trabalhador saudável”) com valores espirométricos que podem até ser mais altos do que o expectável;
- Os estudos prospetivos podem mostrar um abandono mais precoce pelos trabalhadores que desenvolvem maior agravamento funcional, a que corresponde mudança de trabalho ou aposentação precoces (100).

Nos agentes etiológicos ocupacionais mais frequentemente observados, destacam-se:

- Poeiras orgânicas (trabalho em corte e processamento de madeiras, exposição a poeiras de cereais, trabalho agrícola e na pecuária, trabalho em silos, havendo frequentemente contaminação microbiológica concomitante por endotoxinas e micotoxinas);
- Fumos e poeiras metálicas (alumínio, ósmio, cádmio, vanádio, usados sobretudo no trabalho metalúrgico, na indústria do aço, produção de zinco e soldadura de diversos tipos);
- Fumos da combustão *diesel*;

- Poeiras mistas, contendo minerais e material orgânico (indústria extrativa e construção) (101).

Por outro lado, o fumo de tabaco ambiental pode, também, ser considerado uma causa de DPOC em nunca fumadores, nomeadamente em países sem legislação mais restritiva (102).

O diagnóstico clínico de DPOC deve ser considerado em qualquer doente com dispneia, tosse ou expetoração crónica e uma história de exposição a fatores de risco para a doença. A espirometria é necessária para fazer o diagnóstico neste contexto clínico: a presença de um quociente pós-broncodilatador entre o volume expirado forçado no primeiro segundo e a capacidade vital forçada (FEV_1/CVF) $<0,70$ confirma a presença de limitação do fluxo aéreo persistente e é fortemente sugestiva de DPOC (86).

A avaliação da DPOC considera vários aspetos da doença: nível atual de sintomas, gravidade das alterações espirométricas, risco de exacerbação e presença de co-morbilidades.

A compreensão do impacto da DPOC no doente individual sofreu grande evolução nas últimas recomendações internacionais (*Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease: GOLD*), sobretudo a partir de 2011 e combina atualmente a avaliação sintomática com a classificação espirométrica e/ou risco de exacerbações do doente, considerando quatro categorias de doença (A, B, C e D) (86).

Atendendo a que o diagnóstico de DPOC ocupacional é pouco frequente, os clínicos, nomeadamente na área da Medicina do Trabalho, devem estar particularmente atentos a todas as potenciais causas ocupacionais em doentes que apresentam obstrução irreversível de vias aéreas, sobretudo em nunca fumadores, ou indivíduos sem história prévia de atopia ou asma. A estratégia diagnóstica mais importante baseia-se numa história clínica e ocupacional exaustivas, nomeadamente no que diz respeito ao trabalho atual e passado, duração das diversas exposições de risco, cronologia dos sintomas, uso prévio e atual de equipamentos de proteção individual (EPI) e descrição da ventilação dos locais de trabalho (101, 103).

O rastreio espirométrico e a administração de inquéritos respiratórios tomam aqui particular destaque (101, 104, 105).

Neste momento, já existem *softwares* específicos para a avaliação longitudinal das alterações espirométricas de forma mais fácil, como é o caso do SPIROLA (*Spirometry Longitudinal Data Analysis Software*). A aplicação de *software* espirométrico em programas de monitorização contínua ocupacional ajuda a identificar com mais facilidade e de forma mais homogénea e

reprodutível, os trabalhadores com excesso de declínio da função pulmonar, que podem corresponder precisamente a casos de DPOC ocupacional (106).

Contrariamente ao que se verifica com a asma ocupacional, não há atualmente quaisquer recomendações específicas ou *guidelines* referentes à orientação de doentes com DPOC ocupacional. Assim, a terapêutica destes quadros em nada difere dos casos de DPOC por outras etiologias. Tal como se observa em outras situações ocupacionais respiratórias, a prevenção (nos seus diversos níveis) assume um papel fundamental, bem como o rastreio ocupacional de situações clínicas mais precoces, em que ainda não se presenciou uma evolução para as formas mais graves da doença, com fenómenos mais notáveis de irreversibilidade e, como tal, com piores resultados terapêuticos.

1.1.3.5 Cancro do pulmão de etiologia ocupacional

Historicamente, o nexo de causalidade entre exposições ocupacionais e cancro de pulmão começou a ser estabelecido no Século XIX, com a exposição a radão (107). Desde aí, inúmeras outras exposições têm sido relacionadas com este tipo de neoplasia, que é uma das mais frequentes em termos ocupacionais. De facto, a *International Agency for Research on Cancer* (IARC) classifica 107 agentes como carcinogénios humanos confirmados (Grupo 1), dos quais 26 exercem os seus efeitos a nível pulmonar; destes, apenas dois não o são por via de exposição ocupacional – o carvão usado no aquecimento das casas e na cozinha e o tabagismo ativo (107).

Estima-se que 10-25% dos cancros do pulmão em todo o mundo ocorrem em não-fumadores, ou seja, indivíduos que fumaram menos de 100 cigarros em toda a vida. O tipo histológico mais frequente é o adenocarcinoma. A exposição ao fumo de tabaco ambiental (particularmente em mulheres) e a exposição a agentes carcinogénios no local de trabalho (particularmente em homens) são os dois mais importantes fatores de risco (108, 109).

O cancro do pulmão é o cancro ocupacional mais bem estudado e a exposição prévia a carcinogénios ocupacionais é um dos seus mais importantes determinantes (107).

Numa das primeiras metanálises relativas ao tema, Simonato e col. referem riscos atribuíveis populacionais entre 0,6 e 35% (usando dados da tipologia da profissão) e entre 2,4 a 40% quando foi utilizada uma lista de exposições cancerígenas reconhecidas na seleção das profissões mais relevantes (110).

Van Loon e col. realizaram um estudo prospetivo de coorte, desde 1986, envolvendo 58279 homens entre os 55 e os 69 anos, avaliando os efeitos da alimentação, profissão, estilos de vida e riscos para o desenvolvimento de cancro. Depois do ajustamento para a idade, fatores individuais de risco ocupacional, hábitos tabágicos e ingestão de anti-oxidantes alimentares, foram encontradas associações significativas entre o risco de cancro do pulmão e a probabilidade cumulativa de exposição profissional ao amianto: risco relativo de 3,49 (intervalo de confiança – IC 95%: 1,69-7,18). O risco atribuível populacional para o amianto foi de 11,6% (111).

Driscoll e col. efetuaram uma revisão da mortalidade e morbilidade mundiais por cancro do pulmão, leucemia e mesotelioma maligno decorrentes de exposições ocupacionais a agentes cancerígenos, centrada no ano de 2000, concluindo que cerca de 10% dos casos de morte por cancro de pulmão em homens e 5% em mulheres eram atribuíveis a oito carcinogénios ocupacionais. Estes autores estimaram 152000 mortes por cancro de pulmão ocupacional num ano, correspondendo a cerca de 969000 anos de vida potencial perdidos (112).

Através de uma metodologia de pesquisa *Medline* durante o período dos 30 anos que antecedeu 2008, em que foram selecionados estudos caso-controllo e de coorte [incluindo o estudo caso-controllo multicêntrico de base populacional “*Environment And Genetics in Lung Cancer Etiology*” (EAGLE)], De Matteis e col. referem uma grande heterogeneidade de resultados, com frações atribuíveis populacionais muito variáveis nas diversas áreas mundiais estudadas, entre 3 a 40%, com um *odds ratio* (OR) atingindo valores de 12,6 (113).

Especificamente no estudo EAGLE, conduzido na área italiana da Lombardia, a fração atribuível populacional foi de 22,5% (IC 95%: 14,1-30) com OR variando entre 1,18 e 1,76, consoante o agente ocupacional envolvido (114).

São numerosos os agentes em que já existe evidência epidemiológica suficiente para estabelecer nexos de causalidade inequívocos entre exposição ocupacional e cancro do pulmão. No Quadro 3 mencionam-se os principais.

Quadro 3. Causas ocupacionais de Cancro de Pulmão.

Evidência Estabelecida	Evidência Limitada
Produção de alumínio	Aerossóis de misturas ácidas inorgânicas fortes
Arsénio e compostos inorgânicos de arsénio	Vidro – produção específica
Amianto (todas as formas)	Biomassa – emissões derivadas da combustão doméstica
Berílio e compostos de berílio	Eléctrodos de carbono – produção
Bis (clorometil) éter	Tolueno alfa clorinado e cloreto de benzoílo (exposição combinada)
Clorometil-metiléter	Cobalto metálico com carboneto de tungsténio
Cádmio e compostos de cádmio	Creosoto
Compostos de crómio hexavalente	Emissões de veículos diesel
Carvão – emissões derivadas da combustão doméstica	Frituras – emissões a altas temperaturas
Gaseificação de carvão	Insecticidas (não arsenicais)
Coque – produção	Processões de impressão específicos
Alcatrão de carvão - "coal tar pitch "	2, 3, 7, 8-tetraclorodibenzo-p-dioxina
Mineração de hematite	Fumos de soldadura
Fundição de ferro e aço	
MOPP (mecloretamina, vincristina, procarbazona e prednisona)	
Compostos de níquel	
Algumas tintas específicas	
Plutónio	
Radão-222 e seus produtos de decaimento	
Indústria de produção de borracha	
Sílica cristalina	
Fuligem	
Mostarda de enxofre	
Fumo de tabaco ambiental	
Radiação X, radiação gama	

Adaptado de Coglianò, 2011 (115) e de European Lung White Book, 2013 (116).

Entre as várias exposições ocupacionais mais relacionadas com cancro ocupacional, destacam-se algumas:

Amianto: é um dos riscos ocupacionais mais minuciosamente caracterizados e investigados, quer no que toca à etiologia do cancro do pulmão quer da pleura (mesotelioma pleural) (117). Inúmeros modelos de avaliação de risco têm sido desenvolvidos na tentativa de fornecer informações confiáveis sobre os riscos de cancro de pulmão no local de trabalho. Os próprios métodos de amostragem e análise do amianto têm mudado dramaticamente ao longo dos anos.

Globalmente, a cada ano, cerca de 125 milhões de pessoas ainda estão expostas ocupacionalmente ao amianto (118). Exposição por inalação, e em menor extensão, por ingestão, ocorre na mineração e na moagem de amianto (ou outros minerais contaminados

com amianto), no fabrico ou na utilização de produtos que contenham amianto, na construção, na indústria automóvel, nas atividades de remoção de amianto (incluindo o transporte e eliminação de resíduos contendo estas fibras) (119).

A associação entre a exposição ao amianto e o risco de cancro de pulmão é basicamente linear, exceto em exposições muito elevadas. Muitos estudos demonstram que o risco relativo para cancro de pulmão aumenta entre 1% e 4% por fibra-ano/mL de exposição, correspondendo a uma duplicação do risco nos valores de 25-100 fibras-ano/mL. No entanto, um estudo de elevada qualidade mostrou uma duplicação do risco com valores de exposição de apenas cerca de 4 fibras-ano/mL. O tipo histológico e a localização do cancro do pulmão não são úteis na diferenciação de outros cancros de pulmão não induzidos pelo amianto. A presença de placas pleurais, corpos de amianto ou fibras de amianto são úteis como marcadores de exposição prévia. Todos os tipos de amianto estão potencialmente associados com cancro de pulmão. Por outro lado, relativamente ao risco oncológico pulmonar, a interação entre o amianto e o tabagismo apresenta características que o situa entre aditivo e o multiplicativo (120).

O mesotelioma pleural é um tumor raro que ocorre nas células mesoteliais que recobrem a membrana pleural. Os casos não associados a exposição ocupacional ou ambiental a amianto são raríssimos, com uma incidência anual estimada de 1 a 2 por milhão nos EUA (121). A sua relação causa-efeito foi inicialmente descoberta após estudos de Wagner e col. na África do Sul, em casos com exposição ambiental e ocupacional (122). De uma forma geral, as populações com exposição a amianto (sobretudo crocidolite) têm um risco cerca de 5 a 20 vezes superior de desenvolvimento de mesotelioma (121). Trata-se de um tumor que ocorre mais frequentemente após a exposição a fibras anfíbolos, face ao amianto crisótilo. O risco estimado de mesotelioma associado a um aumento de uma unidade (em fibras/ano) no que toca a exposição a fibras anfíbolos de amianto é considerável (119).

Radão – O radão-222 é um gás radioativo que ocorre naturalmente e é responsável por cerca de metade da exposição humana mundial a radiação. A exposição crónica ao radão e seus produtos de decaimento é estimada como a segunda principal causa do cancro do pulmão (após o tabaco). A radiação ionizante emitida durante o decaimento radioativo do radão e seus compostos relacionados pode induzir uma variedade de efeitos citogenéticos que resultam num aumento do risco de carcinogénese (123).

Taxas elevadas de cancro de pulmão têm sido relatadas a partir de vários estudos de coorte e caso-controlo de mineiros expostos ao radão e seus produtos de decaimento. Estes estudos incluem principalmente mineiros de urânio, mas também da mineração de ferro, fluorite e outros metais. Fortes evidências de relações exposição-resposta foram obtidas a partir de vários desses estudos, apesar de algumas incertezas que afetam as estimativas da exposição das populações em estudo. Vários estudos caso-controlo do cancro do pulmão têm sugerido também um risco maior entre os indivíduos que vivem em habitações com valores de exposição mais elevados, havendo uma sinergia entre exposição ocupacional e ambiental (124).

Sílica Cristalina – Devido à extensa ocorrência natural de sílica cristalina na crosta terrestre e os amplos usos dos materiais em que é um constituinte, os trabalhadores podem ser expostos à sílica cristalina numa grande variedade de indústrias e profissões (119).

As estimativas do número de trabalhadores potencialmente expostos à sílica cristalina respirável foram desenvolvidas pelo *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) nos EUA e pelo estudo CAREX (*CARcinogen EXposure*) na Europa. Com base na Inquérito Nacional de Exposições Ocupacionais (NOES), realizado durante 1981-1983, nos Padrões de Negócios dos EUA em 1986, a NIOSH estimou que cerca de 1,7 milhões de trabalhadores norte-americanos foram potencialmente expostos à sílica cristalina respirável.

Revedo dados de 1990-93 a CAREX estimou que mais de 3,2 milhões de trabalhadores nos então 15 Estados-Membros da União Europeia foram considerados como profissionalmente expostos à sílica cristalina respirável. Após extensas revisões dos principais estudos epidemiológicos realizados e como mencionado anteriormente, a IARC classifica a sílica cristalina respirável como carcinogénio do grupo 1, nomeadamente na sua revisão de 2010 da monografia publicada em 1997 (119, 125).

Berílio – É um dos metais mais leves, com um dos pontos de fusão mais elevados e com uma grande condutividade térmica, o que o tornou amplamente usado na indústria de armamento, nuclear, de telecomunicações, em ligas metálicas resistentes, em prótese dentária e na indústria aeroespacial e automóvel.

A IARC classifica o berílio como carcinogénio do grupo 1, uma vez que foram realizados vários estudos envolvendo exposições ocupacionais a este metal, nomeadamente em unidades de processamento de berílio (119, 126-128).

Fumo de tabaco ambiental – uma vez que em muitos países só mais recentemente foram adotadas leis de proteção antitabágica nos espaços públicos e locais de trabalho, muitos cancros pulmonares ocupacionais podem resultar especificamente da exposição a fumo de tabaco ambiental.

Desde 1981, mais de 50 estudos epidemiológicos examinaram a associação entre o fumo de tabaco ambiental e cancro do pulmão, resultando na conclusão de que a exposição de não fumadores é causalmente associada com um aumento de risco de cancro do pulmão, o que levou a IARC a classificar o fumo de tabaco ambiental como carcinogénio do grupo 1 (129).

Fumos da Combustão de *diesel* – Vários estudos, incluindo uma revisão internacional pela IARC, demonstraram que as emissões dos veículos a *diesel* aumentam o risco de cancro do pulmão, com um OR de 1,8 (IC 95%: 1,2-2,6) (130, 131).

1.2 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO E MONITORIZAÇÃO HUMANA EM AMBIENTE OCUPACIONAL

Do que anteriormente foi exposto quanto à etiologia e desenvolvimento das doenças ocupacionais respiratórias, resulta fundamental a importância da avaliação precoce das alterações respiratórias em trabalhadores expostos a riscos ocupacionais. Assim, diversas metodologias de avaliação, bem como alguns exames complementares, têm vindo a ser desenvolvidos ao longo dos anos no sentido de auxiliar o diagnóstico inequívoco e identificar precocemente as principais doenças ocupacionais respiratórias. Atendendo a que esta tese tem precisamente como um dos seus principais objetivos o estudo e a adaptação potencial de várias técnicas de monitorização respiratória não invasiva em ambientes ocupacionais, apresenta-se, seguidamente, uma revisão da principal literatura nesta área, desde as formas menos invasivas de monitorização (estudos de função respiratória, avaliação da fração exalada de óxido nítrico, avaliação do condensado respiratório), semi-invasivas (expetoração induzida) e invasivas (endoscopia respiratória, lavagem broncoalveolar, histologia pulmonar e brônquica).

1.2.1 Métodos não invasivos

1.2.1.1 Estudos de função respiratória

1.2.1.1.1 Espirometria

A espirometria é o teste de função ventilatória mais divulgado e usado na prática clínica ocupacional, desempenhando um papel fundamental na prevenção primária, secundária e terciária das doenças ocupacionais respiratórias, essencialmente pela sua reprodutibilidade e capacidade de utilização disseminada, atendendo à cada vez maior portabilidade dos equipamentos (132).

Contudo, este exame possui bastantes fatores que podem alterar significativamente os resultados obtidos, nomeadamente sub ou sobrevalorizando potenciais alterações ventilatórias presentes nos trabalhadores. As implicações médico-legais, nomeadamente, no que diz respeito à reparação ou aposentação futuras, bem como o facto de a graduação da extensão e a gravidade de determinada patologia respiratória estarem intimamente relacionadas com a magnitude das alterações ventilatórias medidas (nomeadamente, no sistema jurídico português, em que a atribuição de grau de incapacidade clínico-funcional por doença profissional ou acidente de trabalho está fortemente dependente da sua realização), fazem com que seja vantajosa a utilização de estratégias de uniformização de critérios e

técnica, bem como a adoção de recomendações que aumentem a reprodutibilidade e validade dos testes (132, 133).

Assim, nos últimos anos, surgiram a nível internacional diversas recomendações de várias sociedades e organizações científicas, destacando-se as do *American College of Occupational and Environmental Medicine* (ACOEM), específicas para o ambiente ocupacional, as recomendações conjuntas da *American Thoracic Society* (ATS) e da *European Respiratory Society* (ERS), no que toca à standardização dos exames de função respiratória e a Norma ISO 26782 da *International Organization for Standardization* (ISO) relativa aos parâmetros de funcionamento e qualidade dos espirómetros (134-136).

Por forma a estabelecer critérios uniformes e homogéneos de interpretação espirométrica, nomeadamente no que concerne à definição de síndrome obstrutivo, restritivo e misto, a ATS/ERS e o ACOEM sugerem um algoritmo interpretativo, que se revela bastante útil na monitorização e diagnóstico de patologia respiratória em trabalhadores de risco (132, 135, 137) – Figura 3.

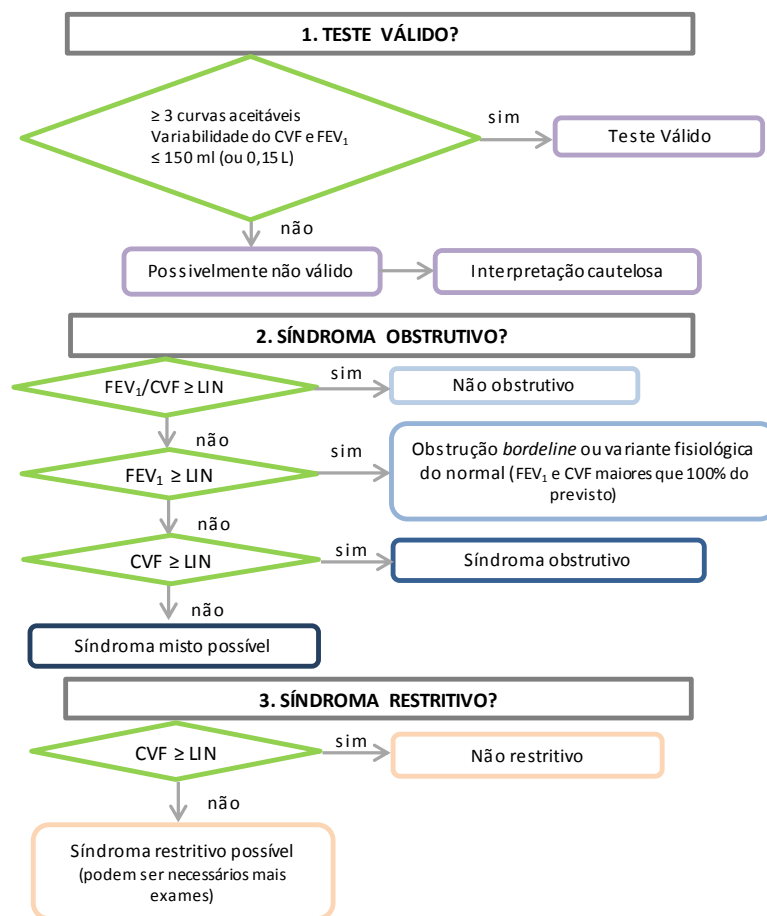


Figura 3. Algoritmo de interpretação espirométrica.
Adaptado de Townsend e col., 2011 (132)

(LIN: Limite inferior do normal. CVF – Capacidade Vital Forçada. FEV₁ – Volume Expiratório Forçado no 1º segundo)

Para efeitos daquilo que se considera normal ou anormal sugere-se internacionalmente o uso do termo “Limite Inferior do Normal” (LIN), que corresponde ao 5º percentil de distribuição dos valores espirométricos de uma população saudável, assumindo que 95% da população saudável se encontra dentro da amplitude normal de valores. O valor do LIN significa que 95% dos indivíduos saudáveis e não fumadores terão valores espirométricos superiores ao LIN. Outras instituições também recomendam o uso desta nomenclatura e não apenas da consideração, por vezes, disseminada que os valores alterados correspondem a um $FEV_1 < 80\%$ do previsto e a relação $FEV_1/CVF < 0,7$. Esta recomendação visa precisamente entrar em consideração com o facto de que, com o envelhecimento, o declínio “normal” da função pulmonar levaria a considerar, se examinadas apenas de forma estrita, as variações do FEV_1 e da relação FEV_1/CVF face ao previsto, como anormais. Com o avançar dos anos, uma proporção cada vez maior de indivíduos saudáveis seria considerada como anormal, criando falsos positivos, se fossem apenas considerados os pontos de corte já referidos de 80% para o FEV_1 e 0,7 para a relação FEV_1/CVF . Pelo contrário, sem a introdução da noção do “Limite Inferior do Normal” trabalhadores mais jovens poderiam ser também considerados falsos negativos (132, 138, 139).

Na área da avaliação espirométrica de trabalhadores saudáveis, verifica-se muitas vezes a presença de valores normais ou mesmo acima do esperado. A avaliação longitudinal ao longo do tempo é particularmente importante para muitos trabalhadores saudáveis, cuja função pulmonar basal está acima da média ($> 100\%$ do previsto). Uma vez que tais trabalhadores começam a sua vida laboral muito acima da média, podem experimentar um declínio significativo da função pulmonar, sem cair abaixo do LIN, apenas numa avaliação transversal. Se houver um registo seriado espirométrico de alta qualidade, uma avaliação longitudinal pode revelar deterioração funcional respiratória significativa, de forma mais precoce (132, 140).

De acordo com as recomendações internacionais na área da espirometria, torna-se também fundamental verificar a presença (ou não) de reversibilidade após a inalação de broncodilatador (habitualmente um β_2 -agonista de curta duração de ação, como o salbutamol ou a terbutalina), uma vez que a sua presença está mais relacionada com patologia obstrutiva de tipo asmático (tal como a asma ocupacional), ao contrário da DPOC (nomeadamente as formas de etiologia ocupacional) que apresenta escassa ou nenhuma reversibilidade. Para este efeito, considera-se como resposta positiva à broncodilatação um aumento de pelo menos 12% e 0,2L no FEV_1 ou na CVF (63, 136, 141).

Por outro lado, é necessário considerar que nem todas as alterações profissionais respiratórias de tipo obstrutivo se enquadram apenas na asma ocupacional e na DPOC; com efeito, outras situações clínicas, com atingimento parenquimatoso profissional, podem causar alterações deste tipo, como é o caso de algumas pneumoconioses como a silicose (em que a resposta ao broncodilatador é, por vezes, surpreendentemente positiva) e das pneumonites de hipersensibilidade, pelo seu componente bronquiolítico (o que levou alguns autores a denominarem esta entidade de “bronquíolo-alveolite”) (142).

Como já foi referido anteriormente, a monitorização seriada da função ventilatória, dentro e fora do local de trabalho, tem particular importância no diagnóstico de alguns quadros profissionais, tais como a asma ocupacional, em que a variabilidade quer das medições espirométricas, quer do débito expiratório máximo instantâneo (DEMI) ao longo do dia de trabalho e fora dele se tornam fundamentais para estabelecer um nexo de causalidade (63).

Esta missão torna-se agora mais facilitada pela existência de equipamentos que permitem uma medição seriada com memória dos valores produzidos, bem como de *softwares* e recomendações para a interpretação dos resultados e sua eventual variabilidade circadiana ou relacionada com a prestação laboral (81, 143-145). As medições seriadas do DEMI são habitualmente mais simples de efetuar pelo trabalhador dentro e fora do local de trabalho relativamente à espirometria, podendo ser realizadas com recurso a vários equipamentos pouco dispendiosos (“*peak-flow meters*”). Contudo, pode existir uma variabilidade significativa nos valores obtidos (146, 147).

A monitorização seriada do DEMI, dentro e fora do local de trabalho, apresenta sensibilidade e especificidade razoáveis, bem como elevada concordância com os testes de provocação específica (148, 149). É recomendável a obtenção de medições durante o período de pelo menos quatro semanas a trabalhar e d pelo menos uma semana em ausência do local de trabalho, obtendo várias medidas ao longo do dia, sendo que variações de mais 20% do DEMI são sugestivas de asma ocupacional (65, 149, 150).

1.2.1.1.2 Medição dos volumes pulmonares estáticos (técnicas de pletismografia corporal e diluição gasosa)

No âmbito da patologia ocupacional respiratória, a determinação dos volumes pulmonares não mobilizáveis revela-se como fundamental em várias circunstâncias. Assim, estudos de função ventilatória exigindo equipamentos mais complexos e de menor portabilidade são necessários sobretudo para confirmar e caracterizar melhor as síndromas funcionais restritivas, que se

associam de forma mais notável aos quadros de pneumoconiose e de pneumonite de hipersensibilidade, causando, muitas vezes, diminuição significativa da capacidade pulmonar total (CPT) e do volume residual (VR) (151-154).

De modo geral, considera-se como método prioritário para a medição dos volumes não mobilizáveis (volumes estáticos) a pletismografia corporal total. Podem ser usados outros métodos, nomeadamente técnicas de diluição de azoto, ou de gases inertes como o hélio e ainda métodos radiográficos (151, 155-157).

O método mais preciso é, de facto, a pletismografia corporal, que fornece uma estimativa da capacidade pulmonar total, independentemente da presença de obstrução ao fluxo de ar. As estimativas por diluição gasosa de azoto ou hélio, com técnicas “*multi-breath*” ou “*single breath*” subestimam a capacidade pulmonar total na presença de obstrução do fluxo aéreo (155). Esta situação pode torná-las menos fiáveis em algumas situações ocupacionais, em que a medição desta capacidade é fundamental e em que podem existir, de forma concomitante, alterações obstrutivas, como acontece, por exemplo em alguns casos de pneumonite de hipersensibilidade.

1.2.1.1.3 Avaliação da transferência de gases – capacidade de difusão do monóxido de carbono (DL_{CO})

Inúmeras doenças profissionais respiratórias cursam com alterações das trocas gasosas, provocando uma diminuição da capacidade de difusão do oxigénio e do dióxido de carbono a nível da membrana alvéolo-capilar (7). Entre os quadros clínicos mais frequentes que causam esta alteração funcional, citam-se as pneumoconioses, as pneumonites de hipersensibilidade e a DPOC grave com componente enfisematoso (158-164).

A DL_{CO} reflete a capacidade do monóxido de carbono (CO) em se difundir para a corrente sanguínea através da membrana alvéolo-capilar. A sua unidade de medida é ml/min/mm Hg, ou mmol/min/Kilopascal, no Sistema Internacional (SI). Por outro lado, a DL_{CO} é um parâmetro muito sensível nas doenças intersticiais pulmonares, uma vez que começa habitualmente a estar diminuída antes da alteração da CPT (151, 165, 166). Esta característica torna-a muito útil no seguimento e rastreio de trabalhadores expostos. Entre os principais ajustamentos que se podem fazer na determinação da DL_{CO} , citam-se o Volume Alveolar (que representa uma estimativa da CPT, usando um método de diluição gasosa) e a hemoglobina do indivíduo a monitorizar (o que é fundamental em quadros de anemia) (151).

O Volume Alveolar pode ser medido no mesmo equipamento e em simultâneo com a determinação da DL_{CO} , e a DL_{CO} ajustada para o volume alveolar (DL_{CO}/VA) e representa a capacidade de difusão alveolar nos alvéolos que contribuem para a ventilação do indivíduo, isto é, determina se os alvéolos disponíveis do indivíduo estão a fazer as trocas gasosas com o sangue de forma normal (151).

São múltiplas as causas que podem causar diminuição da DL_{CO} , para além das pneumoconioses e das pneumonites de hipersensibilidade; entre elas citam-se: ressecação pulmonar prévia, DPOC, patologia intersticial pulmonar diversa (sarcoideose, pneumonites medicamentosas, fibrose pulmonar), doenças vasculares pulmonares (tromboembolia, hipertensão pulmonar, vasculites), edema pulmonar cardiogénico, consolidação parenquimatosa, proteinose alveolar (151).

1.2.1.1.4 Provas de provocação brônquica inespecífica e específica

Este tipo de estudos desempenha um importante papel, quer no diagnóstico diferencial de diversa patologia ocupacional respiratória, quer ainda na sua melhor caracterização para efeitos de reparação médico-legal. Apresentam particular utilidade no diagnóstico de asma brônquica, embora a sua positividade nem sempre corresponda a um diagnóstico definitivo.

O fármaco mais usado para testar a presença de hiper-reatividade brônquica inespecífica é a metacolina, que é um derivado da acetilcolina e cuja ação se centra na estimulação colinérgica dos recetores do músculo liso da parede brônquica. Uma resposta considerada como significativa é representada pela queda do FEV_1 igual ou superior a 20% do seu valor basal. O grau de hiper-reatividade está dependente da dose ou concentração de metacolina (PD_{20} ou PC_{20}) que resulta numa resposta de broncoconstrição desta magnitude; quanto mais baixa a dose ou concentração de metacolina necessária, maior o grau de hiper-reatividade brônquica (151).

Trata-se de um teste muito sensível e pouco específico. A grande maioria dos doentes com asma brônquica têm uma prova positiva; contudo, alguns doentes com asma bem controlada podem ter um teste negativo. Outras doenças podem condicionar positividade na provocação brônquica inespecífica (rinite alérgica, sarcoideose, DPOC, fibrose quística, infeção respiratória recente, insuficiência cardíaca congestiva) (151, 167, 168).

O primeiro passo no diagnóstico de uma asma ocupacional é verificar se o doente tem asma. Uma prova de provocação brônquica inespecífica pode auxiliar significativamente esta

primeira fase do diagnóstico, no entanto a sua negatividade não exclui o diagnóstico de asma ocupacional, particularmente quando os trabalhadores efetuam a prova sem estarem correntemente a trabalhar.

Provas de provocação com metacolina podem ser realizadas no final da semana normal de trabalho e repetidas novamente após uma ausência laboral de 14 dias (63). Uma diferença de três ou mais vezes na concentração de metacolina necessária para provocar um decréscimo de 20% no FEV₁ (PC₂₀) indica os trabalhadores que são mais sensíveis a um agente no local de trabalho (169).

Por outro lado verifica-se uma persistência significativa de hiper-reatividade brônquica em trabalhadores com síndrome de disfunção reativa das vias aéreas (168).

Têm grande importância as provas de provocação brônquica específica (*“specific inhalation challenge”*) com compostos usados no local de trabalho. Através destes testes procura-se simular, em condições laboratoriais, as circunstâncias ocupacionais em que o trabalhador se encontra habitualmente. O seu objetivo essencial é estabelecer umnexo de causalidade inequívoco entre uma exposição ocupacional e uma patologia respiratória, sendo que, de modo geral, o seu principal campo de utilização é a asma ocupacional, sobretudo imunológica ou alérgica (170-172).

Os avanços na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos da asma nos últimos anos têm dado particular importância à distinção entre agentes que causam inflamação das vias aéreas e hiper-reatividade brônquica inespecífica, descritos como “indutores” e aqueles que despoletam broncospasmo em indivíduos com hiper-reatividade brônquica inespecífica, mas sem induzir inflamação das vias aéreas, conhecidos como “incitadores”. De modo conceptual, só os agentes indutores podem causar asma (pois induzem broncospasmo, inflamação e hiper-reatividade brônquica inespecífica), enquanto os incitadores aumentam a frequência dos sintomas de asma nos indivíduos com doença prévia ou coexistente (170).

A diferenciação de asma ocupacional imunológica de asma agravada pelo trabalho é determinante, nomeadamente em termos médico-legais, pois a primeira pode exigir a completa remoção da exposição ocupacional, pelo risco da persistência de estímulo ocupacional agravar progressivamente o quadro clínico, enquanto a asma provocada por agentes físicos ou substâncias irritativas do local de trabalho pode ser mais facilmente combatida por medidas de higiene laboral e por otimização da terapêutica anti-asmática (170).

As provas de provocação brônquica específica com agentes laborais representam um importante recurso no diagnóstico dos quadros de asma ocupacional e auxiliam o diagnóstico diferencial quando há vários agentes indutores potencialmente presentes no local de trabalho, sendo fundamental, em inúmeras situações, distinguir qual a etiologia específica (171). Assim, para vários autores, os testes de provocação específica no local de trabalho ainda são considerados o “*gold standard*” para a confirmação inequívoca do diagnóstico. O seu uso deve ser ponderado caso a caso e nem sempre são indispensáveis (60, 69, 75, 78, 79, 142, 173).

Muito recentemente, a *European Respiratory Society* organizou uma *task force* com o intuito de criar recomendações para o uso consensual das provas de provocação específica a nível europeu. Segundo estas recomendações, considera-se como resposta positiva uma queda do $FEV_1 \geq 15\%$ na espirometria após a exposição ao agente ocupacional, face aos valores basais. De acordo com esta *task force*, a prova de provocação específica é especialmente útil quando: pode ser efetuada com eficiência; é exigido o nível de confiança mais elevado; o doente já não está exposto ocupacionalmente; há necessidade de identificar um agente particular ou há suspeição de se tratar de um agente indutor não reconhecido previamente (171).

Não obstante ser uma das técnicas mais dispendiosas no diagnóstico de asma ocupacional, é a que melhores resultados apresenta para o seu diagnóstico definitivo, podendo identificar mais 28% de casos quando comparada com a análise da expectoração induzida e mais 48% quando comparada com a medição seriada do DEMI (174).

Por outro lado, embora com um uso menos generalizado, as provas de provocação específica podem, também, ser usadas no diagnóstico de pneumonites de hipersensibilidade de etiologia profissional, embora não haja neste momento, critérios standardizados para a sua realização nesta patologia (175).

1.2.1.1.5 Gasometria arterial

Não obstante não poder ser considerado método não invasivo, o estudo dos gases arteriais é habitualmente uma das vertentes do estudo funcional respiratório, por isso é mencionado nesta parte do texto, em sequência lógica com a avaliação da função respiratória. O estudo dos gases arteriais pode dar informações muito úteis e é usado sobretudo nos doentes com doenças restritivas ocupacionais, onde se destacam as pneumoconioses e as pneumonites de hipersensibilidade. A obtenção de amostras pode ser efetuada quer em repouso quer após esforço, podendo dar importantes informações terapêuticas, nomeadamente no que toca à prescrição de oxigenioterapia de apoio à deambulação e de oxigenioterapia domiciliária de

longa duração, em fases mais avançadas de doença e também para efeitos médico-legais (142).

1.2.1.1.6 Prova da marcha dos seis minutos e prova de esforço cardio-respiratória

Em situações mais complexas, nomeadamente para avaliar estadiamento e prognóstico face a cirurgia de ressecção ou de transplante pulmonar em doentes com doença pulmonar avançada, pode ser necessário o recurso a provas de marcha ou de esforço, em que a função ventilatória do doente ocupacional grave é avaliada de forma mais exaustiva. Estes exames também podem ser úteis na prescrição do treino de exercício e na avaliação dos resultados obtidos com a adoção de programas de reabilitação respiratória (176-178).

1.2.1.2 Imagiologia torácica

O recurso à imagiologia torácica e sobretudo à radiologia torácica, revela-se fundamental na avaliação não invasiva das doenças ocupacionais pulmonares (179). Para além da sua enorme importância na avaliação diagnóstica diferencial, na monitorização da terapêutica instituída e da evolução da doença no tempo, tem um papel de relevo na atribuição da incapacidade resultante das exposições profissionais, em concomitância com o estudo funcional respiratório (180).

A contribuição da radiografia do tórax e da tomografia computadorizada para a avaliação de indivíduos com suspeita de doença pulmonar ambiental ou ocupacional divide-se em cinco áreas-chave: como uma ajuda para o diagnóstico, para a quantificação da gravidade da doença, no estabelecimento do prognóstico, como uma ferramenta de rastreio e para a identificação de doenças coexistentes ou diagnósticos diferenciais alternativos (181).

As principais doenças ocupacionais respiratórias em que a radiologia torácica pode dar um maior contributo são as pneumoconioses, as pneumonites de hipersensibilidade profissionais, as neoplasias pulmonares de etiologia profissional, as bronquiolites e as bronquiectasias de etiologia profissional. Na asma ocupacional e na DPOC de etiologia ocupacional, as alterações radiológicas são bastante inespecíficas e revestem sobretudo os aspetos de hiper-insuflação torácica e por vezes de espessamento brônquico (182).

As perturbações respiratórias induzidas pelo amianto geram alterações radiológicas muito diversas consoante o tipo de atingimento: derrame pleural, placas pleurais, atelectasias redondas, espessamento pleural difuso, alterações intersticiais, com pequenas opacidades irregulares, lineares ou reticulares, predominando nas bases pulmonares, na asbestose e

alterações extensas da pleura, por vezes com encarceramento pulmonar e derrame pleural associado nos casos de mesotelioma (182-184).

Na silicose, as alterações radiológicas podem ser classificadas como silicose aguda (com opacificação homogénea de ambos os pulmões, semelhante à proteinose alveolar), silicose simples (com múltiplos nódulos de 1 a 8 mm de diâmetro, homogéneos e predominando nos lobos superiores), silicose complicada (com imagem radiológica sugestiva da coalescência dos nódulos silicóticos e evolução para maciços fibróticos que podem ocupar grandes segmentos pulmonares) e complicações da silicose (enfisema pericatricial, pneumotórax, micetoma, micobacterioses). Alterações similares são observáveis nos doentes com pneumoconiose do trabalhador do carvão (182, 185).

Nas pneumonites de hipersensibilidade profissionais, as alterações podem ser agudas (opacidades bilaterais homogéneas e simétricas, similares ao edema pulmonar), subagudas (com opacidades “em vidro despolido”, nódulos centrilobulares e hiper-insuflação, melhor apreciadas na tomografia computadorizada de alta resolução – TCAR) e crónicas (opacidades reticulares, distorção pulmonar, bronquiectasias de tração e aspetos de destruição pulmonar com “favo de mel” – *honeycombing* – na TCAR, predominando nas zonas superiores e médias do pulmão e poupando relativamente as bases) (182, 186).

Por forma a homogeneizar critérios de interpretação das radiografias torácicas nas pneumoconioses, a OIT desenvolveu recomendações internacionais para a sua classificação. Contudo, esta classificação, cuja última revisão foi efetuada em 2011, não define entidades patológicas, nem tem implicações diretas nos valores indemnizatórios por doenças profissionais, tendo sido criada para uso clínico, rastreio e vigilância de trabalhadores expostos em ambientes profissionais empoeirados (36).

A Tomografia por Emissão de Positrões (PET) pode dar algumas indicações úteis, sobretudo no diagnóstico das neoplasias pulmonares ocupacionais ou no diagnóstico diferencial de imagens nodulares ou pseudo-nodulares do pulmão; contudo, sobretudo nos casos de fibrose maciça progressiva, a sua interpretação oferece algumas dúvidas, uma vez que pode haver captação aumentada do radionuclídeo usado, sem haver neoplasia concomitante (181).

1.2.1.3 Fração exalada de óxido nítrico (F_ENO)

O óxido nítrico (NO) foi reconhecido nas últimas décadas como um mediador biológico de importância determinante na fisiologia e fisiopatologia humanas (187-189).

Desde a primeira menção, nos anos setenta por Murad (190), ao efeito relaxante do óxido nítrico sobre a musculatura lisa de brônquios de bovino, até à descoberta posterior por Furchgott do *Endothelium-derived relaxing factor* (EDRF) (191) e a sua identificação como sendo correspondente à molécula simples de NO em 1987 (192, 193), foi-se estabelecendo uma compreensão crescente face ao seu importante papel como mediador ubíquo em diversas reações bioquímicas humanas e animais, tendo sido extensamente estudado, sobretudo na área respiratória e cardíaca; particular importância tem a sua ação como ativador generalizado da guanil-ciclase, o que provoca um relaxamento da musculatura lisa, atividade plaquetária e neurotransmissão central e periférica. Em âmbito fisiológico, a libertação de NO pelas células endoteliais ou pelos nervos, contribui para processos homeostáticos gerais, sendo também libertado, como mecanismo primário de defesa, pelo sistema imunológico; contudo, se a sua produção é excessiva, a libertação de NO pode contribuir para processos de inflamação e de disfunção cardiovascular (194).

A ubiquidade do NO e a sua capacidade de realizar diferentes funções em órgãos distintos resulta essencialmente da presença de várias isoformas da enzima NO-sintase (NOS), já referenciadas por Moncada em 1993 (195).

Entre os vários mecanismos efetores do NO a nível humano, citam-se: ativação da guanil-ciclase [com correspondente aumento intracelular do monofosfato cíclico de guanosina (cGMP), que é, por exemplo, responsável pelo mecanismo de vasodilatação induzido pelos nitratos]; interações com diversas enzimas (sintases do NO, arginases e ciclo-oxigenase); interações com o ião superóxido e formação de peroxinitrilo; interação com tióis; mutagénese do ADN e citotoxicidade direta (194).

As funções do NO como mediador biológico são em parte atingidas por mecanismos altamente diferenciados de regulação. Em 1991, pela primeira vez, Gustafsson e col. identificaram a produção endógena de NO no sistema respiratório, fazendo a sua identificação no ar exalado de coelhos, cobaios e humanos através de técnicas de quimioluminescência, diazotação e espectrometria de massa (196).

No sistema respiratório, o NO é produzido por uma grande variedade de linhas celulares, sendo gerado pela oxidação da L-arginina, reação que é catalizada pelas três isoformas

distintas de NOS (neuronal – nNOS, indutível – iNOS e endotelial – eNOS). Enquanto o NO proveniente da nNOS e da eNOS parece ser modulador do tônus brônquico, o produzido pela iNOS apresenta-se como mediador pró-inflamatório, com efeito imunomodulador. A produção de NO sob condições de stresse oxidativo gera espécies reativas de azoto, que se comportam como agentes fortemente oxidantes (189).

Vários grupos de investigação concluíram que os valores medidos de NO estavam elevados na população asmática e baixos nos fumadores (197-199), podendo ser explicados pelas diferentes expressões da NOS (189). Desde o início dos anos 90, inúmeros estudos têm vindo a comprovar valores elevados de NO a nível do ar exalado de asmáticos, transformando-o num válido mediador para biomonitorização (199-206).

Dressel e col. verificaram as potenciais alterações induzidas no NO exalado pela presença de hábitos tabágicos, concomitância de infeções e morfótipo de 897 indivíduos estudados. Dos valores médios determinados, a presença de alergia respiratória alterava os valores num fator de 1,5; o tabaco em 0,63 e a presença de infeção em 1,24. Os autores postulavam que desde que estes fatores de correção fossem tidos em linha de conta, a monitorização do NO mantinha a sua total fiabilidade e interesse, uma vez que os fatores que a influenciam parecem ser independentes entre si (207).

A fração exalada de óxido nítrico ($F_E\text{NO}$), passou a ser motivo de investigação e de ensaios clínicos alargados, sobretudo a nível da asma brônquica, tendo sido desenvolvidos vários equipamentos portáteis (201, 205, 208-211), com recurso a sensores eletroquímicos e de quimioluminescência para a sua determinação, o que faz desde logo despertar o seu interesse na área ocupacional.

A sua medição está fortemente dependente de critérios uniformes e estandardizados, nomeadamente pela sua dependência de um débito homogéneo do fluxo exalado (212). Nesse sentido, foram publicadas em 2005 recomendações conjuntas e estandardizadas para a sua monitorização pela *European Respiratory Society* e pela *American Thoracic Society* (213) e mais tarde, em 2011, esta última Sociedade publicou as suas recomendações para a interpretação dos níveis da $F_E\text{NO}$ em situações clínicas (188).

Numa recente avaliação de 4718 indivíduos nos EUA através do *National Health and Nutrition Examination Survey 2007-2010*, Brody e col. concluíram que a média geométrica da $F_E\text{NO}$ foi de 8,3; 12,1 e 16,2 partes por bilião (ppb) para o sexo masculino nas classes etárias de 6 a 11 anos, 12 a 19 anos e 20 a 79 anos respetivamente e de 8,4; 10,9 e 12,6 ppb para as mulheres

nas mesmas faixas etárias. Em geral, os níveis da $F_{E}NO$ aumentaram com o aumento da idade ($p < 0,001$) e da altura ($p < 0,001$) (214).

Os valores da $F_{E}NO$ estão essencialmente dependentes da produção do NO a nível de várias populações celulares do parênquima pulmonar e das vias respiratórias, da difusão do NO para a circulação capilar e da ventilação alveolar e brônquica (189), podendo ser representadas por um modelo bi-compartimental do pulmão (compartimento não-expansível: vias de condução; compartimento expansível: bronquíolos respiratórios e alvéolos) (189, 215). Inclusive, muito recentemente, Paredi e col. sugeriram uma metodologia para determinar a proveniência mais central ou periférica do NO exalado, através de modelização das determinações a distintos débitos expiratórios, de forma relativamente simples e sem necessidade de recurso a equipamento sofisticado ou modelização matemática complexa (216).

A $F_{E}NO$ tem igualmente sido usada para monitorizar as exacerbações de asma brônquica, bem como o efeito dos tratamentos anti-inflamatórios (nomeadamente corticóides inalados) sobre os recetores respiratórios da parede brônquica (189, 217).

Por outro lado, a nível da DPOC têm surgido alguns estudos referentes à $F_{E}NO$, havendo a sugestão de que na DPOC severa e em doentes que continuam a fumar, os níveis monitorizados são significativamente inferiores (218, 219). Nas exacerbações agudas de DPOC, a $F_{E}NO$ pode estar elevada e ainda existem algumas controvérsias quanto ao seu papel na monitorização da resposta ao tratamento com corticóides sistémicos e inalados nesta doença (220, 221).

Em ambiente ocupacional, a $F_{E}NO$ tem sido largamente usada, verificando-se que está muito relacionada com a inflamação brônquica de tipo eosinofílico (222). Com efeito, Berry e col. verificaram uma correlação estatisticamente significativa entre a $F_{E}NO$ e o número de eosinófilos na expetoração induzida, considerando que a sua monitorização atinge importância fundamental neste tipo de inflamação da via aérea, sobretudo em asmáticos (223).

No âmbito da saúde ocupacional respiratória, a $F_{E}NO$ tem vindo a ser utilizada essencialmente na monitorização da resposta a agressões inalatórias potencialmente causadoras de asma ocupacional (quer por exposição a alergénios de alto peso molecular, quer a irritantes e a alergénios de baixo peso molecular), bem como na investigação da exposição a endotoxinas potencialmente causadoras de pneumonites de hipersensibilidade profissionais e ainda como auxiliar na monitorização de provas de provocação brônquica específica (222).

Os primeiros estudos utilizando a monitorização do NO em ambiente ocupacional remontam a 1998 e foram realizados por Adisesh e col., na monitorização de asma ocupacional em trabalhadores de laboratórios de experimentação animal, verificando-se uma correlação positiva entre a gravidade dos sintomas e o NO nasal e exalado (224).

Chan-Yeung e col. verificaram uma correlação significativa entre a eosinofilia da expetoração e os níveis de $F_{E}NO$ em trabalhadores expostos a cedro vermelho (*western red cedar*), sem contudo se verificar uma correlação significativa com a função respiratória ou a presença de hiper-reatividade brônquica (225).

De forma global, vários autores referem que a $F_{E}NO$ aumenta nos trabalhadores expostos e com risco para asma ocupacional e que existe uma relação positiva entre os seus níveis e a hiper-reatividade brônquica (226-229).

Tossa e col. seguiram prospetivamente vários aprendizes de distintas ocupações e concluíram que se verificava um aumento da $F_{E}NO$ desde o início da exposição (cabeleireiros, padeiros, pasteleiros) com uma correlação significativa com o desenvolvimento de hiper-reatividade brônquica (OR de 2, IC:1,21-3,32), quer em atópicos quer em não atópicos; a medição regular da $F_{E}NO$ pode, segundo estes autores, ser usada de forma fácil na monitorização de indivíduos expostos a agentes potencialmente indutores de asma ocupacional (230, 231).

Segundo Moore e col. a $F_{E}NO$ pode ajudar a separar duas variantes de asma ocupacional. Uma delas apresenta valores mais altos de $F_{E}NO$ e hiper-reatividade brônquica medida pela prova de metacolina significativamente mais aumentada, de forma independente face ao agente etiológico, atopia prévia, FEV_1 previsto e uso de corticoide inalado. Aparentemente a $F_{E}NO$ está mais aumentada em indivíduos com inflamação eosinofílica, podendo estar normal na outra variante, em situações em que existe uma preponderância de inflamação de outro tipo, nomeadamente neutrofílica (232).

Em vários estudos de exposição ocupacional a agentes de baixo peso molecular e a irritantes, também se verificaram correlações positivas entre exposição, sintomatologia e $F_{E}NO$, nomeadamente em trabalhadores da pasta de papel, com exposição a látex, a isocianatos e a cloro usado na desinfeção de piscinas (233-236). Curiosamente, a exposição a cimento parece fazer diminuir os níveis da $F_{E}NO$, entre o início e o fim do turno de trabalho (237).

No âmbito da exposição a alergénios orgânicos de alto peso molecular, diversos estudos têm investigado as alterações da $F_{E}NO$ induzidas após exposição profissional. Kolbeck e col.

observaram que a $F_{E}NO$ estava diminuída após provocação inespecífica com histamina em voluntários expostos a poeiras orgânicas de pocilgas, embora não apresentasse alterações significativas nas medidas basais efetuadas (238). Heldal e col. não observaram alterações significativas da $F_{E}NO$ em trabalhadores de esgotos com exposição a níveis elevados de endotoxinas, pelo que o valor da $F_{E}NO$ pode ser limitado nestas situações (239). Precisamente para obviar este fenómeno e tal como descrito anteriormente, vários grupos têm tentado criar metodologia que possa monitorizar o NO proveniente apenas da fração alveolar, o que, em princípio, teria maior significado nos quadros clínicos em que a área respiratória predominantemente envolvida é a parenquimatosa alveolar e não a árvore brônquica (215, 240-242).

A medição da $F_{E}NO$ também pode ser usada como adjuvante na realização de testes de provocação específica com agentes ocupacionais (228, 243-246). Sastre e col. demonstraram que as reações asmátiformes induzidas por agentes ocupacionais durante este tipo de provocação estavam associadas a um aumento persistente da $F_{E}NO$. Contudo, a capacidade diagnóstica preditiva da $F_{E}NO$ não é suficiente para poder ser usada em substituição da variação do FEV_{1} , devendo, segundo os autores, ser apenas usada como auxiliar na interpretação dos resultados, sendo que um aumento significativo da $F_{E}NO$ é fortemente sugestivo de resposta positiva significativa na provocação específica (246).

Muito recentemente, Walters e col. verificaram que a maioria dos trabalhadores que tinham provas de provocação específica claramente positivas para agentes de baixo peso molecular comuns, não tiveram aumento estatisticamente ou clinicamente relevante na $F_{E}NO$. Segundo estes autores as alterações na $F_{E}NO$ não predizem, de forma direta e isolada, um teste específico positivo (245).

As medições da $F_{E}NO$ podem ser usadas para indicar o desenvolvimento da inflamação das vias aéreas que acompanha a reação asmática tardia verificada após realização de testes de provocação brônquica específica em doentes com uma concentração de NO basal normal ou ligeiramente aumentada (228) e, nesse sentido, têm papel de relevo na interpretação de respostas positivas tardias.

De um modo geral, a monitorização da $F_{E}NO$ em ambiente ocupacional pode ser muito útil, sobretudo no que diz respeito aos quadros clínicos de asma relacionada com o trabalho. Contudo, no que toca à investigação de outras patologias respiratórias e de outros riscos inalatórios, não tem sido observada significativa produção de investigação. Fora do âmbito

desta tese e tanto quanto é do nosso conhecimento, não obstante as significativas relações entre a $F_{E}NO$ e a exposição inalatória a fumo, nenhum trabalho de investigação se debruçou sobre os efeitos da inalação de fumos (que não os provocados pelo tabaco), nomeadamente em profissões de risco como os bombeiros e proteção civil, nas alterações do NO a nível do aparelho respiratório.

1.2.1.4 Condensado brônquico do ar exalado - *Exhaled Breath Condensate* (EBC)

O EBC é seguramente uma das formas de monitorização respiratória de maior desenvolvimento nos últimos anos. Este fenómeno deve-se em grande parte à sua total não invasividade, bem como à capacidade de monitorizar indivíduos em ambientes muito distintos, nomeadamente fora do ambiente laboratorial ou hospitalar, motivo pelo qual se tem vindo a tornar uma técnica particularmente útil em ambiente ocupacional. Não obstante a técnica possuir uma elevada adesão pelos indivíduos a quem se aplica, uma vez que as suas amostras podem ser obtidas num período curto de tempo e com esforço reduzido pela população testada, sem quaisquer riscos inerentes, verifica-se que existem múltiplos aspetos que podem induzir variabilidade e menor discriminação no que toca à interpretação dos resultados obtidos (247-253).

O EBC contém essencialmente vapor de água e fluido que recobre as vias aéreas sob a forma aerossolizada, bem como compostos voláteis que providenciam importante informação sobre as atividades bioquímicas e inflamatórias em curso no pulmão (254).

Embora predominantemente constituído por vapor de água (cerca de 99% do seu volume) (254, 255), o EBC contém importantes compostos voláteis hidrossolúveis (amónia, peróxido de hidrogénio, etanol) e não voláteis (citocinas, nitratos, nitritos, nitrotirosina, nitrosotióis, lípidos, surfactante, iões, produtos de oxidação, adenosina, histamina, acetilcolina, serotonina), entre muitos outros mediadores, intimamente relacionados com a homeostase respiratória (254, 256).

O princípio básico da amostragem das vias aéreas pela recolha de EBC baseia-se no facto de os diversos mediadores serem libertados pelo fluido que recobre as vias aéreas, transportados para o ar exalado e subsequentemente coletados por condensação, no exterior do corpo humano (256).

Os primeiros estudos envolvendo a recolha de EBC foram realizados na Rússia e destinaram-se essencialmente à identificação das características do surfactante pulmonar [Sidorenko, 1980

(257) cit. por Kharitonov, 2001 (258)]. Desde essa data, milhares de estudos têm vindo a ser publicados nesta área, refletindo o seu enorme potencial (250, 256, 259). Em 1979, Larson e col. desenvolveram, também, um método inovador para medir o conteúdo de amónia em condensado respiratório (260).

O EBC é originado em todas as áreas do sistema respiratório (orofaringe, trato respiratório e alvéolos), embora a origem exata dos marcadores individuais não tenha ainda sido determinada. É postulado que o fluxo turbulento de ar exalado cause a aerossolização do fluido que recobre o sistema respiratório, embora se compreenda que as macromoléculas de maiores dimensões possam ter menor passagem para o EBC (250).

O EBC pode ser visto como uma técnica diagnóstica não invasiva, alternativa e/ou complementar ao LBA e à expetoração induzida, no estudo da patologia respiratória (261).

Uma das desvantagens potenciais do EBC é a necessidade de análise laboratorial subsequente da amostra recolhida, uma vez que não existem ainda formas standardizadas de efetuar determinações *on-line*, em tempo real, tal como acontece com a F_eNO (250, 254, 262).

Diferentes perfis de biomarcadores no EBC podem refletir variados aspetos da inflamação pulmonar ou stresse oxidativo. A identificação dos distintos perfis dos biomarcadores detetáveis no EBC pode ajudar, quer no diagnóstico diferencial de diversas doenças, quer ainda no acompanhamento das respostas à terapêutica instituída, o que pode, por exemplo, ter importância significativa em ensaios clínicos randomizados (259).

Nas ciências ambientais, o EBC constitui uma alternativa atraente a biomarcadores estabelecidos, pois permite um procedimento de amostragem mais simples, não invasivo e que pode ser eficientemente aplicado a numerosos indivíduos. Em contraste com as medidas ambientais no ar, água, solo, alimentos, etc., a monitorização de um biomarcador reflete a interação específica de um indivíduo com o meio ambiente, representa todas as vias de exposição e fornece uma medida da dose interna. Os biomarcadores do ar exalado têm vantagens distintas, nomeadamente quando comparados com os biomarcadores em sangue ou urina, uma vez que a amostragem é não-invasiva, fornece um volume de amostra essencialmente ilimitado e podem ser amostrados com frequência ou até mesmo, futuramente, em tempo real (263).

A colheita do EBC tem vindo a ser efetuada através do recurso a vários sistemas, alguns dos quais criados laboratorialmente de forma mais ou menos artesanal e que consistem

essencialmente numa câmara de colheita, mantida refrigerada artificialmente e associada a um bocal e a uma válvula unidirecional (259).

No entanto, e sobretudo devido à necessidade cada vez maior de haver critérios de colheita estandardizados, foram criados comercialmente três sistemas para colheita homogénea do EBC: *EcoScreen*[®] e *EcoScreen*[®] II (*Jaeger Toennies*, Hoechberg, Alemanha) e o sistema *RTube*[®] (*Respiratory Research, Inc.*, Charlottesville, Virginia, EUA).

A empresa *Jaeger Toennies* descontinuou recentemente a comercialização do sistema *EcoScreen*[®] e mantém apenas a produção e comercialização do *EcoScreen*[®] II, cuja criação pretende permitir a separação da proveniência alveolar ou das vias respiratórias, dos principais biomarcadores medidos. São equipamentos algo volumosos, embora transportáveis, que congelam a amostra de condensado numa pequena cápsula plástica contida num cilindro de aço que é arrefecido permanentemente a cerca de -10 °C. Devido às suas dimensões, dificilmente se poderia utilizar este tipo de equipamento para colheitas em ambiente ocupacional, motivo pelo qual tem vindo a ter grande sucesso recente o equipamento *RTube*[®] desenvolvido nos EUA.

Este equipamento consta de um tubo de polipropileno com características especiais, associado a uma válvula unidirecional para evitar a contaminação salivar da amostra e que se encontra introduzido num cilindro de alumínio, o qual é congelado previamente à amostragem, sendo conservada a sua temperatura através de uma manga de material isolante. Em ambos os sistemas a colheita é bastante fácil e acessível, uma vez que só é necessário que o indivíduo em estudo respire pela boca, durante cerca de 15 minutos a volume corrente, até ser recolhida uma amostra de cerca de 1-2 ml de EBC. Esta deve ser de imediato congelada a temperaturas de -70 ° a -80 °C, até ser processada laboratorialmente (250). O desenvolvimento de sensores seletivos para a deteção de biomoléculas específicas na respiração de forma imediata está neste momento em fase de desenvolvimento, mas não substitui atualmente a necessidade de processamento laboratorial da amostra (259).

A variabilidade potencialmente observada na amostragem do EBC, bem como várias considerações de ordem técnica, que se prendem não só com o equipamento, mas também com a metodologia usada para a determinação quantitativa dos distintos biomarcadores, fez com que em 2005 fossem publicadas recomendações conjuntas pela *American Thoracic Society* e *European Respiratory Society*, na sequência da criação de uma *task force* específica para o EBC, cujos objetivos essenciais foram o desenvolvimento de diretrizes para coleta de

EBC e medição de biomarcadores exalados, criação de recomendações sobre o seu uso potencial, bem como reconhecimento dos limites dos biomarcadores exalados e destaque das áreas em que é necessária investigação futura (250).

Geralmente, com 10 minutos de respiração em volume corrente, 1-3 mL de EBC podem ser coletados em indivíduos adultos (aproximadamente 100 $\mu\text{L}/\text{min}$ de EBC, com variação entre 40-300 $\mu\text{L}/\text{min}$). Na maior parte dos estudos, o tempo de colheita da amostra é de 10 a 15 minutos e é recomendado que seja efetuada com o indivíduo a respirar normalmente, sem polipneia ou aumento do volume respirado (250).

Algumas estratégias metodológicas têm sido equacionadas quanto à necessidade (ou não) de entrar em linha de conta com potenciais fatores de diluição da amostra. Diversos autores têm utilizado algumas estratégias para tentar aferir esse fator de diluição, nomeadamente através do volume exalado, iões exalados, conteúdo de ureia, concentração proteica ou condutância da amostra liofilizada (255, 264-267). Essas estratégias não são infelizmente aplicáveis aos compostos voláteis do EBC e embora a diluição possa ser um fator com influência, é pouco provável que as alterações observadas nos níveis de mediadores nas doenças respiratórias possa ser completamente explicada por alterações na formação ou libertação de gotículas de EBC (250).

1.2.1.4.1 Marcadores de inflamação e de stresse oxidativo e nitrosativo no EBC

Diversas biomoléculas têm vindo a ser observadas e estudadas no EBC de indivíduos saudáveis e em várias patologias respiratórias. A maior parte das determinações tem sido efetuada com recurso a técnicas de imunoensaio; contudo e sobretudo devido às quantidades muito reduzidas presentes a nível do EBC (e atendendo, também, ao facto de 99% da sua constituição ser vapor de água), dá-se neste momento primazia a técnicas mais complexas e com melhor poder discriminatório, tais como a cromatografia líquida de elevada performance (HPLC), cromatografia gasosa (GC), espectrometria de massa (MS) e combinação de ambas (GC/MS). De facto, parte da variabilidade das concentrações dos biomarcadores no EBC pode estar dependente da técnica analítica usada. Alguns *kits* disponíveis de imunoensaio não se encontram correntemente validados para as determinações de quantidades muito diminutas de biomoléculas existentes no EBC (251).

Existem três aspetos relacionados com a origem dos marcadores no EBC: a sua fonte celular; o compartimento do sistema respiratório em que são produzidos (zona de condução *versus* zona respiratória); e a medida em que o EBC reflete a real composição de fluido de revestimento

das vias aéreas (268). Contrariamente à metodologia mais invasiva (nomeadamente biópsias brônquicas), o EBC não é apropriado para estudar as células inflamatórias do sistema respiratório, não fornecendo informação direta sobre as fontes dos biomarcadores. Por outro lado, se as concentrações de um biomarcador estiverem dependentes do débito respiratório, é provável que esse biomarcador seja originário das vias respiratórias e não dos alvéolos. Assim, o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) parece pertencer ao primeiro grupo, enquanto que, em contraste, o 8-isoprostano, prostaglandina E_2 (PGE_2), aldeídos e glutatião aparentemente pertencem ao segundo grupo, de origem alveolar (268).

Exceto para o H_2O_2 , a maioria dos biomarcadores estudados no EBC mostra uma estabilidade e reprodutibilidade quando são efetuadas medições nos mesmos indivíduos em diferentes horas do dia e em dias diferentes (269-271).

1.2.1.4.1.1 pH

Vários processos bioquímicos envolvidos nas doenças respiratórias são dependentes do pH. Em diversas doenças respiratórias (asma, DPOC, infeções) pode-se observar uma tendência para a acidificação das vias respiratórias, com a conseqüente diminuição do pH. Aparentemente, o pH das vias respiratórias é regulado homeostaticamente no sentido de prevenir a citotoxicidade e melhorar as respostas de defesa inata do hospedeiro (272).

É relativamente difícil medir o pH das vias respiratórias diretamente *in vivo*, sendo que a metodologia usada, nomeadamente o tipo de elétrodo usado, bem como a potencial acidificação induzida pela instilação prévia de lidocaína, aumentam significativamente a variabilidade das medições efetuadas (272).

As secreções aspiradas de indivíduos saudáveis mostram um pH médio de $7,73 \pm 0,54$ (273), dados estes que são comparáveis aos determinados no EBC: $7,65 \pm 0,2$ (274).

A acidificação das vias respiratórias pode estar presente em várias doenças ou ser causada por ambientes poluídos. As características clínicas resultantes da inalação acídica incluem inflamação das vias aéreas, hiper-reatividade brônquica, obstrução reversível das vias aéreas, produção aumentada de secreções e tosse. A acidificação exógena da via respiratória mimetiza muita da patologia respiratória, nomeadamente asma, DPOC e fibrose quística (272).

Há cada vez mais evidência que os mecanismos de acidificação respiratória, muito dependentes de fenómenos inflamatórios e da libertação de citocinas Th1 (que podem induzir

três vias distintas de acidificação das vias aéreas) contribuem para a fisiopatologia destas doenças, bem como em casos de agressão aguda do pulmão (272).

Deste modo, o pH do EBC pode dar indicações úteis, embora inespecíficas, quanto à acidificação respiratória presente em várias doenças, bem como à eventual resposta às terapêuticas instituídas, tornando-o um válido biomarcador em várias circunstâncias (275).

Tecnologicamente, poderá parecer que a medição do pH é relativamente fácil, usando para o efeito uma sonda com elétrodo de determinação do pH (275, 276). Contudo, vários problemas podem surgir na sua avaliação (277). Mantém-se o debate quanto ao facto de o pH medido no EBC colhido em volume corrente refletir ou não a acidificação das vias respiratórias inferiores, uma vez que o alto conteúdo de amónia oral poderia interferir nos resultados (278).

Nos indivíduos saudáveis, o pH medido imediatamente após a recolha do EBC tende a ser instável, motivo pelo qual, por forma a manter critérios de qualidade na sua medição, se considera como critério de qualidade a realização de uma standardização gasosa, libertando o CO₂ presente através da de-aeração com um gás inerte, nomeadamente o argón. Isto faz com que o pH vá subindo gradualmente até um valor estável e reproduzível (250, 279).

Entre os quadros clínicos em que se observam reduções significativas do pH no EBC, citam-se a asma (280-282), DPOC (283-285), fibrose quística, bronquiectasias (286, 287) e Síndrome de Dificuldade Respiratória do Adulto (ARDS – *Acute Respiratory Distress Syndrome*) (288, 289).

1.2.1.4.1.2 Peróxido de hidrogénio (H₂O₂)

O H₂O₂ é detetável no EBC, mas é seguramente um dos compostos voláteis mais instáveis e como tal, a sua monitorização exige medição imediata, podendo os seus valores ser rapidamente alterados (251, 290). Pode estar elevado em casos de asma e de DPOC (282, 291, 292).

A sua determinação exige que as amostras (só após a adição dos reagentes usados nas técnicas de espectrofotometria ou fluorimetria) sejam imediatamente congeladas, uma vez que o H₂O₂ volatiliza com grande rapidez. A sua concentração no EBC, mesmo em indivíduos saudáveis, também está dependente do tabagismo dos indivíduos monitorizados. A comparabilidade deste marcador, no que toca aos valores obtidos em vários estudos, é difícil, uma vez que diversos autores recorreram a técnicas analíticas e procedimentos de recolha bastante distintos (293).

Por outro lado, os valores do H_2O_2 aumentam ao longo do dia e provavelmente com a ingestão de alimentos e bebidas, quer em saudáveis quer em indivíduos com DPOC, motivo pelo qual se trata de um biomarcador muito influenciável por fatores extrínsecos e intrínsecos, o que torna a sua validação algo difícil (293-295). Novas tecnologias estão correntemente a ser desenvolvidas para permitir a medição direta de H_2O_2 no EBC através do recurso a sensores amperométricos com *chips* integrados (296).

1.2.1.4.1.3 Isoprostanos

Os eicosanóides são mediadores lipídicos que incluem os Leucotrienos (LT), Prostaglandinas (PG) e o Tromboxano A₂ (TXA₂) e são considerados como alguns dos biomarcadores mais importantes de stresse oxidativo (297). Os LTC₄, D₄ e E₄ são conhecidos como cisteinil-leucotrienos e contraem a musculatura lisa, aumentam a permeabilidade vascular, estimulam a produção de muco e diminuem a *clearance* muco-ciliar (298, 299). Os Isoprostanos (ou Isoeicosanóides) são compostos semelhantes às prostaglandinas e são produzidos *in vivo* essencialmente pela peroxidação do ácido araquidónico, de forma independente face às ciclo-oxigenases (298, 300).

A família dos F₂-isoprostanos é constituída por 64 compostos, que na sua estrutura são isómeros da prostaglandina F_{2 α} (PGF_{2 α}), sendo considerados atualmente como uns dos biomarcadores de maior confiança na avaliação da inflamação respiratória, nomeadamente no que diz respeito ao stresse oxidativo (251).

A monitorização dos Isoprostanos *in vivo*, nomeadamente em tecidos e/ou fluidos biológicos é extremamente importante pois são estáveis quimicamente e representam alguns dos produtos específicos da peroxidação endógena, sendo detetáveis em todos os tecidos humanos, permitindo assim a definição daquilo que será o intervalo do normal, para efeitos comparativos com o que sucede em algumas doenças (298, 301).

Os seus níveis estão elevados em alguns quadros clínicos em que existe aumento do stresse oxidativo, nomeadamente na asma, DPOC, síndrome de dificuldade respiratória aguda, esclerose sistémica progressiva e nos indivíduos saudáveis fumadores (302-306). A medicação com anti-inflamatórios (nomeadamente glucocorticóides sistémicos e inalados) tem o potencial para descer os níveis de 8-isoprostano no EBC (307, 308).

Entre as metodologias analíticas utilizadas na sua monitorização no EBC, destacam-se a GC/MS, o imunoensaio enzimático e o radioimunoensaio (305, 309-312).

1.2.1.4.1.4 Leucotrienos e prostanóides

Dentro dos eicosanóides, o LTB₄ e os cisteinil-leucotrienos foram já detetados no EBC de indivíduos saudáveis e estão habitualmente elevados em doentes com DPOC, asmáticos e com rinite alérgica, sendo que podem ser úteis na monitorização da terapêutica instituída nestas situações (313-319). O LTB₄ está também elevado em casos de fibrose quística e nas exacerbações da DPOC, havendo uma descida dos seus níveis no EBC após terapêutica antibiótica (320, 321).

A variabilidade induzida pelos métodos analíticos usados é importante, motivo pelo qual se torna fundamental usar técnicas com maior poder de discriminação, nomeadamente HPLC ou LC/MS, em vez de alguns *kits* de imunoensaio enzimático (298, 322).

As concentrações de PGE₂ no EBC estão elevadas na DPOC, correlacionando-se com os níveis de LTB₄ (309). Os níveis elevados de TxB₂, TxA₂, PGD₂ e PGF_{2α} estão presentes em doentes asmáticos, contudo, em alguns estudos estão também presentes em indivíduos saudáveis, não havendo uma correlação quantitativa óbvia entre a sua concentração e a presença de doença (298, 315, 323).

1.2.1.4.1.5 Citocinas

As citocinas (interleucinas, quimiocinas e linfocinas) são pequenas proteínas secretadas pela grande maioria das células nucleadas, tendo um papel fundamental na comunicação intercelular e nos fenómenos de stresse oxidativo. Podem ter efeitos pró ou anti-inflamatórios e têm sido estudadas, de forma ampla, nos fenómenos inflamatórios crónicos de algumas doenças pulmonares (261, 324, 325).

Estando presentes em pequenas quantidades no EBC, têm sido estudadas em diversas patologias respiratórias e extra-respiratórias, nomeadamente na asma, DPOC, fibrose quística, cancro do pulmão e doenças sistémicas do colagénio (320, 326-331).

1.2.1.4.1.6 Espécies reativas de azoto

As espécies reativas de azoto incluem nitrito, nitrato, 3-nitrotirosina (3-NT) e os S-nitrosotióis (RS-NO). Todas derivam do NO e são formadas nas vias aéreas por oxidação do NO (nitrato e nitrito) e por reações do NO com compostos contendo o grupo químico –SH, podendo ser encontradas no EBC. Os seus níveis podem dar uma estimativa aproximada da síntese do NO (261) e podem estar elevados em doentes com asma, DPOC e fibrose quística (332-337).

Como já foi referido anteriormente, o NO desempenha um importante papel nas doenças pulmonares e as alterações induzidas pelo stresse dos produtos do azoto (stresse nitrosativo) contribuem significativamente para a patogénese e evolução clínica de várias doenças respiratórias, como a asma e a DPOC (258, 338). As espécies reativas de azoto modificam várias proteínas em situações de doença respiratória e a magnitude desta modificação correlaciona-se com os graus de stresse oxidativo e de stresse induzido pelo azoto. O NO é de difícil medição em soluções aquosas tais como o EBC, pois é um radical livre que reage muito rapidamente com espécies reativas de oxigénio (ROS), formando vários óxidos de azoto (NO_x). Alguns dos seus metabolitos, o peroxinitrilo e o ácido peroxinitroso, são intermediários instáveis e decompõem-se, produzindo nitrito (NO₂⁻) e nitrato (NO₃⁻) este último mais estável em solução aquosa (338). O fumo do tabaco reduz significativamente os níveis exalados de NO, havendo uma correlação expressiva entre o NO exalado e o consumo tabágico (339). O fumo do tabaco parece fazer elevar os níveis de nitrato, mas não de nitrito, RS-NO e nitrotirosina (340).

O mecanismo de redução do NO nos fumadores parece ser a diminuição da transcrição do mRNA da enzima iNOS nas células epiteliais pulmonares, tal como foi demonstrado por Hoyt em células epiteliais de rato, em linhas celulares de células epiteliais humanas e em culturas de células humanas induzidas a produzir NO (341).

Enquanto as concentrações de nitritos e nitratos são da ordem das µg/L, as de 3-NT e de RS-NO são muito menores, na ordem dos ng/L, necessitando de tecnologia analítica bastante mais sensível (261). Estes últimos compostos são, também, indicadores de fenómenos de stresse oxidativo pulmonar (261).

1.2.1.4.1.7 Aldeídos

Entre os compostos voláteis presentes no EBC, têm vindo a destacar-se o malondialdeído, (MDA) o 4-hidroxinonal (HNE), o hexanal e o heptanal, reconhecidos biomarcadores de peroxidação lipídica e que podem estar aumentados em quadros de doença respiratória (por exemplo na DPOC) (342).

1.2.1.4.2 EBC nas doenças respiratórias ocupacionais

Embora o EBC tenha vindo a ser usado mais extensivamente no estudo da asma e da DPOC em doentes sem óbvia etiologia ocupacional, verifica-se que, pelas características não invasivas no

método de colheita da amostra e pela sua capacidade para analisar múltiplos mediadores voláteis e não voláteis, este método possui grande utilidade no estudo da patologia respiratória profissional, podendo ser usado para investigar os fenómenos de stresse oxidativo e de stresse nitrosativo presentes em várias agressões ocupacionais pulmonares (343, 344).

De uma forma geral, a biomonitorização em ambiente ocupacional recorre essencialmente à determinação das concentrações de substâncias ou dos seus metabolitos em sangue e urina. Contudo, a quantificação da presença sistémica (absorvida) de um determinado elemento ou molécula, pode não ser relevante para a avaliação da exposição de um determinado químico no órgão onde ocorre o primeiro contacto, nomeadamente no aparelho respiratório (343, 345).

A área da exposição a metais pneumotóxicos é um dos ambientes ocupacionais em que o EBC tem sido utilizado, sobretudo por investigadores italianos, nomeadamente na indústria automóvel, naval, militar e da aviação. Vários autores têm usado a presença de traços de determinados metais no EBC (biomarcadores de exposição) para quantificar a exposição potencial de órgãos-alvo nomeadamente o pulmão. Entre os metais estudados citam-se o crómio hexavalente, o cobalto e o tungsténio (346-349).

O EBC é uma matriz com elevado potencial na investigação de biomarcadores de efeito, refletindo potencialmente as reações bioquímicas que ocorrem no fluido que recobre as vias aéreas após a interação com poluentes ocupacionais ou ambientais (343). Assim, podem ser considerados como biomarcadores de efeito presentes no EBC e potencialmente alterados em exposições ocupacionais, substâncias como H_2O_2 , leucotrienos, citocinas, nitrito, nitrato, adenosina, prostaglandinas, 8-isoprostano, aldeídos, pH e amónia, entre outros (350).

A asma é precisamente uma das patologias em que o EBC pode ter maior interesse, observando-se potencialmente diminuição do pH e elevação dos níveis de NO, interferão γ , IL-4, 8-isoprostano, nitrato e nitrito (312, 351-355), sendo que o seu estudo na asma ocupacional pode dar relevantes informações fisiopatológicas (356-360).

Munoz e col. monitorizaram a descida do pH do EBC durante a realização de provas de provocação específica e concluíram tratar-se de um útil marcador no diagnóstico de asma ocupacional (357).

Pelclová e col. monitorizaram a evolução de doentes com asma ocupacional, através de vários biomarcadores no EBC, observando uma correlação negativa entre o 8-isoprostano e o FEV_1 e

a concentração de metacolina (PD_{20}), necessária para gerar uma resposta positiva nas provas de broncoprovocação inespecífica (356).

Ferrazzoni e col. pelo contrário, não verificaram alterações significativas do pH, nomeadamente a sua diminuição, com a exposição a isocianatos; estes autores observaram um aumento do pH no EBC das amostras colhidas na tarde após provas de provocação específica com estes agentes, postulando que os mecanismos envolvidos na asma ocupacional induzida por isocianatos podem ser independentes da acidificação das vias aéreas observada em outras situações de asma atópica (358).

Sánchez-Vidaurre e col. verificaram pelo contrário, em vários casos de provocação específica com distintos agentes ocupacionais, uma relação entre a acidificação do EBC e a presença de uma prova positiva, referindo valores de 79% de sensibilidade e de 100% de especificidade se fosse usada uma queda de 0,4 no pH medido como ponto de corte para uma resposta positiva (361). Vemos pois que a interpretação dos valores do pH do EBC requer investigação futura mais aprofundada (343), uma vez que os resultados de vários estudos são contraditórios, com exposições similares a provocar quer o seu aumento quer a sua diminuição (362, 363).

O EBC também pode ser útil nas exposições a sílica e a amianto (364-367). Pelclová e col. demonstraram que indivíduos com asbestoses mais graves apresentavam níveis mais elevados de cisteinil-leucotrienos e de LTB_4 no EBC, correlacionando-se com as alterações observadas nas provas funcionais e que os níveis de LTD_4 na silicose se correlacionavam com a relação Volume Residual/Capacidade Pulmonar Total, no estudo funcional (364).

Em outros estudos do mesmo grupo de investigação foi observado, também, um aumento do 8-isoprostano em casos de asbestose e silicose (368-370), tendo sido desenvolvido um método de deteção muito eficaz na avaliação do stresse nitrosativo em doentes com asbestose (Cromatografia líquida associada a ionização por eletrospray com espetrometria de massa LC-ESI-MS/MS), verificando níveis elevados de 8-isoprostano, malondialdeído (MDA), e 4-hidroxinonenal (HNE) no seu EBC (365).

O EBC pode inclusive ser útil na diferenciação entre situações clínicas de mesotelioma pleural maligno dentro do mesmo tipo de exposições profissionais (371).

Quanto ao cancro do pulmão ocupacional, apenas um estudo tentou determinar um eventual marcador de exposição: Goldoni e col. mediram os níveis de crómio no EBC de doentes com cancro de pulmão em estádios precoces, operáveis, antes e após a sua ressecção cirúrgica. Não

observaram diferenças significativas, entre os controlos e doentes pré-cirúrgicos, contudo, observaram aumento do crómio no EBC pós-cirurgia, o que pode representar a possibilidade de usar o crómio como marcador de contaminação pulmonar após exposição ocupacional (372).

Nos diversos estudos efetuados e que monitorizaram o EBC em doentes com cancro de pulmão de várias prováveis etiologias, foi demonstrado um aumento do H_2O_2 , fator de crescimento fibroblástico, fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), IL-10, eotaxina, proteína-3 macrofágica e diminuição do pH (329, 373, 374). Estes dados, associados a estudos cada vez mais complexos de proteómica do EBC, fazem pensar que num futuro próximo, o EBC possa ser usado como biomarcador no estudo do risco e da exposição a fatores indutores de neoplasias ocupacionais do pulmão (375).

Por outro lado, a matriz do EBC pode ser usada para determinar a presença de compostos orgânicos voláteis, que podem existir em ambiente ocupacional. Contudo, só raros estudos o fizeram: Maniscalco e col. quantificaram o tolueno presente no EBC após a exposição de nove voluntários saudáveis a este composto e mencionaram a existência de correlação com o seu principal metabolito urinário (ácido hipúrico) (376).

O EBC também pode ser utilizado para a determinação da exposição ocupacional a determinados metais (potássio, crómio, manganês, cobre, zinco, estrôncio, cádmio, antimónio e chumbo), através de técnicas de espectrometria de massa por plasma indutivamente acoplado (377).

1.2.2 Métodos semi-invasivos de avaliação respiratória ocupacional

1.2.2.1 Expetoração induzida

Na última década, a expetoração induzida surgiu como uma técnica útil em ambiente ocupacional, providenciando dados úteis sobre a caracterização das alterações inflamatórias respiratórias; contudo, necessita de equipamento específico e posterior tratamento laboratorial das amostras, por vezes com alguma complexidade, o que faz com que a sua aplicabilidade na área da Medicina do Trabalho esteja algo limitada, nomeadamente quando se pretende a execução de rastreios rápidos de populações laborais, o que com esta técnica resulta difícil (222).

A produção de expetoração é causada pela inalação de soluções isotónicas ou hipertónicas produzidas por um nebulizador ultrassónico, permitindo a recolha de amostras adequadas de

secreções das vias aéreas inferiores para avaliação da inflamação e da sua celularidade diferencial (378).

Desde a primeira descrição de um método padronizado em 1992, houve um aumento expressivo no número de trabalhos em que os investigadores usaram expetoração induzida para estudar vários aspetos da inflamação das vias aéreas, sobretudo nas áreas da asma e da DPOC (379).

Várias circunstâncias devem estar presentes para que se efetue uma recolha de qualidade e esta está sempre dependente da colaboração individual e da proximidade laboratorial, uma vez que a amostra deve ser tratada num período máximo de duas horas. Por outro lado, o exame não é totalmente isento de riscos, uma vez que pode provocar uma reação de broncoconstrição significativa, sobretudo em indivíduos asmáticos, pelo que se sugere a sua realização em ambiente hospitalar, sendo habitualmente efetuada pré-medicação com salbutamol inalado e havendo presença de capacidade instalada de suporte de vida. As recomendações internacionais também sugerem que seja monitorizada a função respiratória, nomeadamente o FEV₁, durante os procedimentos (378).

A expetoração induzida fornece informações quer sobre o material celular quer sobre a fração solúvel presente nas vias aéreas. Tem sido aplicada com sucesso para avaliar a inflamação das vias aéreas na asma e na DPOC, produzindo resultados de confiança e segundo alguns autores, comparáveis a biópsias e ao líquido de lavagem broncoalveolar (LBA). Não obstante ser usada na área da Saúde Ocupacional sobretudo na suspeição de asma ocupacional, a sua utilidade abrange também a DPOC ocupacional, as pneumoconioses, as doenças induzidas pela inalação de metais e outras doenças intersticiais pulmonares de etiologia ocupacional (380).

Diversos estudos têm confirmado a associação entre a exposição a agentes ocupacionais e a presença de inflamação eosinofílica das vias aéreas em indivíduos com asma ocupacional (381). Na maioria dos casos de asma ocupacional, a percentagem de eosinófilos na expetoração aumenta após a exposição a agentes ocupacionais, em comparação com os valores basais, embora também possa ser observado um aumento dos neutrófilos (382). Contudo, a mesma exposição pode ter respostas diferentes em distintos trabalhadores, o que pode corresponder a diferentes fenótipos de asma ocupacional (222).

Baines e col. já tinham distinguido três fenótipos diferentes de asma brônquica através da análise transcriptómica de expetoração induzida (fenótipo eosinofílico, com níveis mais altos de F_ENO e mais baixos de FEV₁, fenótipo neutrofílico, com diminuição do FEV₁ e da CVF e um

terceiro fenótipo com aumento do número de macrófagos e com função ventilatória normal (383).

Por outro lado, o estudo da expetoração induzida no decurso das provas de provocação específica na suspeita de asma ocupacional pode ser extremamente útil, pois evita que a interpretação das mesmas esteja apenas dependente dos valores da função respiratória, mas reflita também mudanças temporais do perfil inflamatório das vias aéreas, durante e após exposição ocupacional a agentes presumivelmente causadores de doença. Assim, a alteração do perfil celular e dos mediadores presentes na expetoração induzida após uma prova de provocação específica, pode ser um precioso auxiliar de diagnóstico (384-388).

De igual modo, o perfil diferencial observado na expetoração induzida pode ter algum significado prognóstico. Lemière e col. mostraram que asmáticos ocupacionais com uma resposta não eosinofílica na prova de provocação específica tinham um maior declínio do FEV₁ não mostrando prospetivamente melhorias significativas do seu grau de hiper-reatividade brônquica (389).

Não obstante a maior utilidade da expetoração induzida na área da Medicina do Trabalho se prender com a asma ocupacional, múltiplos estudos têm mostrado o seu potencial noutras áreas ocupacionais: rastreio de cancro ocupacional (390), monitorização da exposição a amianto (391-393), avaliação da exposição a sílica cristalina e a metais duros através do recurso a técnicas acessórias de microscopia eletrónica de varrimento (394, 395).

Deste modo e não obstante a dificuldade de utilização da técnica dentro do ambiente ocupacional, será lícito afirmar que em ambiente mais clínico e/ou laboratorial, a expetoração induzida poderá ser um importante adjuvante de investigações mais detalhadas sobre etiologia e gravidade das doenças respiratórias ocupacionais.

1.2.3 Métodos invasivos de avaliação respiratória ocupacional

Dentro da metodologia invasiva que tem vindo a ser reconhecida como importante na avaliação de doenças ocupacionais respiratórias, toma particular destaque a broncofibroscopia e as suas técnicas acessórias, nomeadamente a execução e colheita de lavagem broncoalveolar e a possibilidade de execução simultânea de biópsias brônquicas e pulmonares trans-brônquicas. A técnica endoscópica flexível foi desenvolvida nos anos 60 por Ikeda (396, 397) e apresentou desde logo grandes vantagens face à broncoscopia rígida, desenvolvida por Killian e Chevalier Jackson no final do Século XIX e início do Século XX, nomeadamente a sua capacidade de visualizar mais periféricamente a árvore brônquica, a sua mais elevada

aceitação pelos doentes e a capacidade de execução de técnicas acessórias, fundamentais no diagnóstico da patologia principal do sistema respiratório (398, 399).

Entre as técnicas com maior desenvolvimento no estudo invasivo do pulmão surge a lavagem broncoalveolar, que consiste na introdução através do broncofibroscópio (cuja extremidade se encontra encaixada e a isolar um segmento pulmonar) de três a quatro alíquotas de soro fisiológico, de forma sequencial, correspondendo a cerca de 150 a 250 mL de fluido. Este procedimento é executado com bastante facilidade, tolerabilidade, e, desde que as recomendações internacionais sejam verificadas, sem riscos significativos (400-403).

O líquido de lavagem broncoalveolar (LBA) contém inúmeros marcadores moleculares e celulares que representam uma importante informação sobre os processos fisiopatológicos que ocorrem a nível brônquico e pulmonar, motivo pelo qual milhares de estudos têm vindo a ser publicados nacional e internacionalmente sobre as alterações do LBA nas mais variadas situações respiratórias (400, 404).

O LBA é uma ferramenta de grande utilidade na área da saúde ocupacional e ambiental respiratória, não só porque pode expressar os complexos mecanismos fisiopatológicos que ocorrem neste tipo de exposições, mas também porque pode documentar situações específicas tais como a identificação de corpos asbestósicos ou a presença de uma resposta proliferativa nos linfócitos de doentes com beriliose (37).

O LBA pode ser usado para caracterizar pneumonites de hipersensibilidade de etiologia profissional, referindo-se a presença frequente de alveolite linfocítica, ultrapassando, por vezes, 40% de todas as células recolhidas no LBA, com uma relação CD4:CD8 abaixo do normal; os níveis de citocinas também podem estar alterados, nomeadamente a fibronectina e o TGF- β (*transforming growth factor- β*) (405, 406). A presença de um predomínio de polimorfonucleares neutrófilos, fora da fase mais aguda de exposição, pode ser um bom indicador da eventual progressão para quadros mais complexos e graves de fibrose pulmonar (407, 408).

Um dos dados diagnósticos mais importantes recolhidos do estudo da celularidade do LBA é que a presença de valores celulares normais no LBA exclui o diagnóstico de pneumonite de hipersensibilidade, havendo, nessas situações, que pensar noutras doenças intersticiais pulmonares (37).

Em estudos efetuados pelo grupo de trabalho do Centro de Pneumologia da Universidade de Coimbra, foi bem patente a presença deste tipo de alterações no LBA de indivíduos estudados, nomeadamente no que diz respeito à pneumonite de hipersensibilidade do criador de aves (37).

A suberose, provocada pela inalação de cortiça contaminada com *Penicillium glabrum*, também tem sido extensamente estudada em Portugal (53, 54, 409), podendo ter um impacto significativo nos trabalhadores nacionais do sector da cortiça.

Em dados reportados por Morais e col., o LBA mostrava uma alveolite mais intensa na pneumonite de hipersensibilidade do criador de aves, com maior celularidade, maior número de mastócitos e relação CD4:CD8 mais elevada (1,1 vs 0,47) face à suberose (54).

Nas pneumoconioses, o LBA também pode dar importantes informações: na silicose, observa-se habitualmente uma alveolite linfocítica ou mista, com redução da relação CD4:CD8, com expressão aumentada de várias citocinas, nomeadamente as interleucinas 1, 4, 6, 8, 10, 12 e 13, bem como do TNF α , da metaloprotease da matriz (MMP-1), inibidor tissular da metaloprotease 1 (TIMP-1), molécula de adesão intercelular (ICAM-1), TGF β , fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento insulínico (IGF) e PDGF, entre outros (37, 410-413).

Não obstante a sílica poder ser quantificada no LBA de indivíduos expostos, não é um bom discriminador entre indivíduos expostos e doentes (414).

Na asbestose, o LBA pode ser usado para identificar e quantificar as fibras de amianto presentes, para além de habitualmente revelar uma alveolite moderada, linfocítica e/ou neutrofílica, com uma relação CD4:CD8 aumentada (37). No LBA, os corpos asbestósicos estão habitualmente recobertos por material proteico e derivado da ferritina e da hemossiderina, após degradação macrofágica, sendo mais facilmente observáveis em microscopia ótica (415).

A presença de corpos asbestósicos no LBA está associada com uma maior prevalência de sintomas respiratórios, diminuição da função respiratória e alterações parenquimatosas na Tomografia Computorizada de alta resolução (416).

Segundo de Vuyst e col., a quantificação de corpos asbestósicos no LBA reflete a concentração pulmonar de amianto, podendo ser usada como indicador de exposição (417, 418).

Um corpo asbestósico por mL de LBA reflete a presença entre 100 a 10000 corpos asbestósicos por cm³ de pulmão, ou 1000 a 3000 corpos asbestósicos por grama de tecido. Mais de um corpo asbestósico por mL de LBA ou por 10⁶ células representa uma exposição significativa (417-420).

Alexopoulos e col. compararam o LBA e a expetoração induzida em indivíduos expostos a fibras de asbesto crisótilo e concluíram que o perfil celular obtido pelas duas técnicas era similar, havendo também uma correlação entre a presença de corpos asbestósicos nos dois métodos (421). Fireman e col. compararam igualmente ambos os métodos e obtiveram resultados similares em indivíduos expostos a sílica, amianto e berílio, contudo não recuperaram corpos asbestósicos na expetoração induzida (provavelmente pelo facto de os níveis de exposição ocupacional serem apenas moderados) (394).

Na beriliose, o LBA também pode dar importantes informações. O LBA destes doentes apresenta habitualmente um perfil T CD4 (+)(422) com diferenciação TH₁ preferencial (423). O teste de transformação linfocítica mostra que, nos casos de beriliose, os linfócitos recolhidos no LBA e incubados com sais de berílio exibem uma resposta proliferativa significativa, sendo que a análise do LBA constitui o método de eleição nesta pneumoconiose (424).

Por outro lado, a realização de biópsias por broncofibroscopia pode, ainda, obter fragmentos histológicos de brônquio (biópsias brônquicas) ou pulmão (biópsias transbrônquicas), que podem ser extremamente úteis no estabelecimento de diagnósticos diferenciais, o mesmo acontecendo com as biópsias pulmonares transtorácicas guiadas por Tomografia Computorizada. Contudo, por vezes e devido às reduzidas dimensões obtidas neste tipo de biópsia, pode ser necessário o recurso a biópsias pulmonares cirúrgicas (por toracotomia ou por toracosopia), obtendo-se fragmentos pulmonares de maiores dimensões, o que permite uma melhor caracterização dos quadros subjacentes, nomeadamente no que toca aos diagnósticos diferenciais que se colocam, sobretudo entre algumas doenças ocupacionais pulmonares e muita da patologia intersticial pulmonar de etiologia não ocupacional (425-429).

1.3 O CASO ESPECÍFICO DO RISCO OCUPACIONAL EM BOMBEIROS

De uma forma geral, são reconhecidos importantes riscos nas atividades desempenhadas por bombeiros, que se prendem direta ou indiretamente com a eventualidade de ocorrência de sinistros diversos e o aparente aumento da prevalência de doenças crónicas, nomeadamente respiratórias e cardiovasculares (430, 431).

Dentro das suas diversas funções, são precisamente as de combate a incêndio as mais preocupantes, sobretudo no que diz respeito aos incêndios florestais, quer pelo risco de morte por diversas causas, quer pela inalação potencial de inúmeras substâncias tóxicas (430).

Neste âmbito, Portugal é um país particularmente atingido e os últimos anos têm sido dramáticos no que toca à perda de vidas humanas durante o combate aos fogos florestais. Apenas no ano de 2013, arderam em Portugal 140 mil hectares de área verde, o que correspondeu ao terceiro pior ano da última década (em 2003 arderam 430 mil hectares e em 2005, 340 mil hectares). A base de dados nacional de incêndios florestais registou, entre 1 de janeiro e 15 de outubro de 2013, um total de 18.869 ocorrências (3.552 incêndios florestais e 15.317 fogachos) que resultaram em 52.184 hectares de povoamentos e 88.760 hectares de matos ardidos. Na figura 4 apresenta-se a evolução do número de incêndios florestais e a área ardida entre 1980 e 2012.

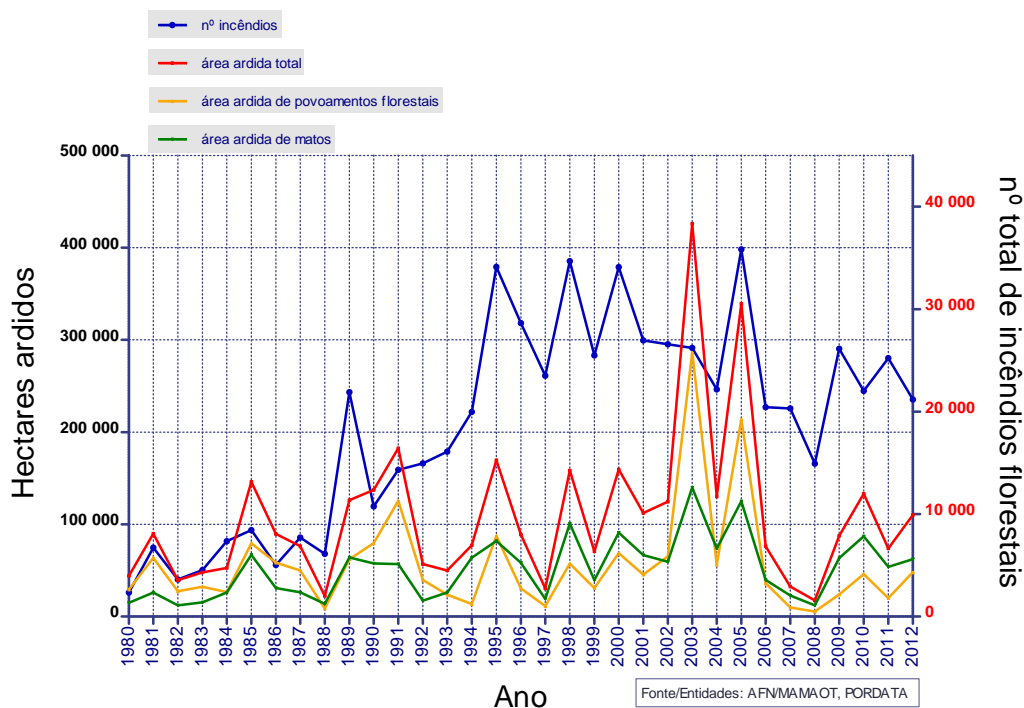


Figura 4. Incêndios florestais e área ardida no Continente português, por ano: 1980-2012
Adaptado de "PORDATA. Incêndios florestais e área ardida – Continente 1980-2012" (432)

Em 2013 registaram-se, também, algumas situações particularmente dramáticas, com o falecimento de 11 bombeiros, de forma diretamente relacionada com os fogos florestais (433).

A ocorrência e extensão dos incêndios florestais é multifatorial, podendo, de forma genérica e no que diz respeito a Portugal continental, ser agrupada em três classes:

- 1) condições de natureza climática e meteorológica;
- 2) estrutura e organização do sistema de prevenção e combate;
- 3) sensibilidade e estrutura da população (433).

Assim se compreenderão as irregularidades temporais dos dados apresentados na figura 4, que estão muito dependentes destas particularidades.

Inúmeros estudos têm dado particular ênfase às alterações de saúde (nomeadamente respiratórias) de bombeiros em diversas situações específicas de risco; foi precisamente isso que aconteceu nos EUA após o atentado terrorista do *World Trade Center* (WTC), em que a exposição maciça verificada nas primeiras horas e dias após o colapso das Torres Gémeas se veio a relacionar com efeitos graves para a saúde do pessoal das forças de segurança e de proteção civil que mais cedo acorreram a este sinistro. As poeiras altamente alcalinas resultantes (pH entre 9 e 11), eram constituídas por partículas contendo (sob a forma pulverizada) cimento, fibra de vidro, amianto, chumbo, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, bifenilos policlorados, dioxinas e furanos. Houve, de igual modo, exposição significativa a matéria particulada, nomeadamente PM_{2,5} que esteve muito elevada nos dias subsequentes (434).

Nas primeiras 24 horas após o ataque ao WTC, 240 bombeiros de Nova Iorque procuraram tratamento médico de emergência; destes, 50 (20,8%) receberam tratamento por sintomas respiratórios agudos causados pela inalação de fumos e poeiras. A avaliação de milhares de bombeiros expostos revelou aumento da tosse, da hiper-reatividade brônquica e do risco de asma (434, 435). Situações de patologia intersticial pulmonar (436-439) e de alguns tipos de cancro, também poderão estar relacionadas com os eventos pós-atentado no WTC (440).

Não obstante este acontecimento ter dado particular importância mediática aos riscos inalatórios dos bombeiros, continua a dar-se mais relevo aos riscos que ocorrem em ambiente confinado, nomeadamente no combate a incêndios industriais ou urbanos (441-443), em que, contudo, são habitualmente usados equipamentos de proteção respiratória com ar comprimido autónomo.

Fabian e col., já em 2014, publicaram um estudo onde caracterizaram as exposições de risco de bombeiros urbanos da cidade de Chicago, maioritariamente envolvidos em incêndios estruturais. Nas determinações efetuadas, estavam muitas vezes ultrapassados os valores máximos de exposição recomendados pela ACGIH, quer para partículas respiráveis, quer para várias substâncias químicas. As partículas que foram coletadas durante os incêndios através de impactadores de uso pessoal, revelaram a presença de agentes com potencial tóxico e/ou carcinogénico (arsénico, cobalto, crómio, chumbo, níquel e fósforo) (444).

Em contraste com a grande quantidade de informação disponível sobre matéria particulada urbana e seu impacto na saúde humana, poucos estudos avaliaram diretamente os efeitos induzidos pelo fumo de combustão de madeiras (445).

No entanto, nomeadamente no caso dos países do sul da Europa, tal como Portugal, terão muito maior significado os riscos globais para a saúde dos bombeiros que resultam dos incêndios florestais, quer pelo número de indivíduos envolvidos, quer pela dificuldade de uso permanente de equipamentos de proteção individual adequados, quer ainda pela maior duração das atividades de combate.

Tem sido exaustivamente estudada a toxicologia específica dos principais efluentes do fogo, onde se destacam inúmeras substâncias com ação asfixiante (monóxido de carbono, ácido cianídrico), irritante (ácido bromídrico, ácido clorídrico, ácido fluorídrico, dióxido de enxofre, substâncias organo-irritantes, tais como: acetaldeído, acroleína, benzeno, crotonaldeído, formaldeído, fenol, tolueno) e gases de estufa como o dióxido de carbono e o metano; também os níveis muito baixos de oxigénio presentes em zonas de incêndio podem ser preocupantes (446). Existem, também, importantes interações entre estes diversos compostos, que estão dependentes dos materiais queimados, com risco adicional de sinergias muito perigosas. No geral, a maior parte das mortes relacionadas com os incêndios ocorre por inalação de monóxido de carbono, com algum contributo de outros gases tóxicos, onde se destaca o ácido cianídrico (447).

Há uma inexistência global de estudos epidemiológicos abrangentes sobre os efeitos dos incêndios florestais na saúde de bombeiros, sendo que a maior parte dos dados que se encontram disponíveis se referem aos EUA. Entre 1910 e 2004, neste país, faleceram 918 bombeiros em situações relacionadas com o combate a incêndios. Entre 1990 e 2008, as três principais causas de mortalidade foram acidentes em aeronaves, queimaduras e enfartes de

miocárdio; o grupo dos bombeiros voluntários foi o de maior risco, sendo que 42% da mortalidade deste grupo específico se verificou por causas cardíacas (430).

1.3.1 Riscos específicos em bombeiros

1.3.1.1 Riscos respiratórios

As perturbações respiratórias de maior preocupação em bombeiros ocupacionalmente expostos (para além do risco eventual de cancro de pulmão) são, sobretudo, as doenças crónicas das vias aéreas (448).

Os primeiros estudos publicados sobre esta matéria nos anos 70 e 80, lançaram uma onda de preocupação generalizada, pois demonstraram um declínio superior ao expectável da função respiratória em bombeiros. A gravidade das alterações estava dependente do tempo e tipo de exposição e do escasso uso de equipamentos de proteção individual. Contudo, a maioria destes estudos referia-se ao combate a fogos urbanos e industriais e não especificamente a incêndios florestais (449-454).

Posteriormente, já nos anos 90, começaram a ser publicados os primeiros estudos que avaliaram o impacto do combate a fogos florestais na função ventilatória, demonstrando quer o decréscimo de vários parâmetros após um turno de trabalho, quer após toda a época de incêndios. Na generalidade, os dados sugerem que o combate a incêndios florestais está associado a discreta diminuição da função pulmonar e aumento da hiper-reatividade brônquica e que estas associações são independentes do tabagismo, asma ou alergias, número de anos como bombeiro, idade, género ou tipo de equipa de trabalho (430, 455, 456).

Em geral, os bombeiros envolvidos em incêndios florestais experimentam uma muito maior exposição ao fumo de incêndios florestais que os membros do público em geral. Os padrões de exposição podem ser intensos, sobretudo nos esforços iniciais de supressão. Os turnos de trabalho são muitas vezes não inferiores a 12-18 horas e em grandes incêndios podem durar muitos dias. No combate aos fogos florestais, não é viável a utilização de um aparelho de respiração auto-suficiente; muitas vezes a única proteção respiratória utilizada é uma bandana de algodão que cobre o nariz e a boca. Além disso, muitas das tarefas de combate a incêndios florestais são fisicamente exigentes e necessitam de taxas de ventilação pulmonar elevada, o que pode resultar em doses inaladas substanciais, devido ao aumento do volume corrente respiratório e da frequência respiratória. Por outro lado, os acampamentos-base onde estes bombeiros repousam, podem prolongar a sua exposição, o que está muitas vezes dependente das características meteorológicas e geográficas locais (457). A inalação de matéria particulada

nos acampamentos pode ser tão ou mais elevada como a própria exposição durante as atividades de combate a incêndios (458).

Alguns estudos têm vindo a abordar quer a caracterização da exposição, quer algumas alterações verificadas em bombeiros envolvidos diretamente no combate a incêndios florestais, sendo que a grande maioria se refere aos EUA.

Materna e col. mediram hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, monóxido de carbono, partículas, aldeídos, sílica cristalina e benzeno em incêndios californianos entre 1987 e 1989; os níveis de formaldeído, de partículas e de monóxido de carbono excederam os limites de exposição ocupacional e, curiosamente, muitos deles estavam mais elevados sobretudo durante as atividades de rescaldo, já sem a presença de chamas vivas. Os autores sugeriram, também, potenciais efeitos sinérgicos entre as várias exposições e reconheceram que os níveis de exposição máxima recomendados para exposições ocupacionais poderão não ser adequados no que toca à proteção de bombeiros florestais (459).

Dunn e col. também verificaram que a maior exposição a monóxido de carbono ocorria nas atividades de rescaldo, nomeadamente quando se efetua a extinção de pequenos focos residuais no final dos incêndios (460).

Rothman e col. avaliaram pela primeira vez as variações dos sintomas respiratórios e da função ventilatória em 69 bombeiros californianos, verificando alterações significativas, sobretudo associadas com a intensidade e as horas de exposição e o aumento das queixas de saúde, nomeadamente pieira, irritação nasal e ocular. No estudo de 8 semanas, vários parâmetros de função pulmonar exibiram quedas significativas, incluindo FEV_1 (-1,2%, IC de -0,5 a -2,0) e FEV_1/CVF (-0,006, IC de -0,001 a -0,01); a CVF também diminuiu, mas sem significância estatística. Os bombeiros que tinham trabalhado mais horas na semana anterior, sofreram os decréscimos maiores na função pulmonar [FEV_1 -2,9% (130 ml) e CVF -1,9% (101 ml)] (461).

Liu e col. avaliaram o efeito da exposição a fumos de incêndios florestais na função respiratória de 63 bombeiros das áreas do norte da Califórnia e do Montana, durante e após a época de incêndios de 1989, verificando reduções individuais médias significativas de 0,09; 0,15 e 0,44 L/seg nos valores pós-temporada de CVF, FEV_1 e DEM_{25-75} , respetivamente, em comparação com os valores pré-temporada. Não foram demonstradas relações significativas entre os parâmetros de espirometria e as co-variáveis género, história de tabagismo, história de asma ou alergias, anos como bombeiro, sintomas respiratórios superiores/inferiores ou tipo de

equipa. Houve, também, um aumento estatisticamente significativo da hiper-reatividade brônquica na prova de metacolina ($p = 0,02$) (455).

Letts et al. realizaram um inquérito de saúde a 78 bombeiros florestais no sul da Califórnia e não observaram alterações significativas na prevalência de sintomatologia, nem associação significativa com a estimativa visual da exposição ao fumo. Houve pequenas alterações não significativas, do FEV₁ e FVC. Contudo, os decréscimos do DEM₂₅₋₇₅ e FEV₁/CVF foram significativos (-2,3%, IC de -4,2 a -0,5% e -0,5%, IC de -1,0 a -0,1%, respetivamente) (462).

Betchley e col. estudaram 76 bombeiros florestais do Oregon antes e após turnos de trabalho e outro grupo de 53 indivíduos, antes e após a época de incêndios (*cross-shift* e *cross-season*). As avaliações entre o início e o fim de turno mostraram decréscimos estatisticamente significativos de CVF: 0,065L/seg, FEV₁: 0,150L/seg e DEM₂₅₋₇₅: 0,496L/seg e no que diz respeito ao decréscimo entre o início e o final da época de incêndios de 0,033 L/seg, 0,104L /seg e 0,275L/seg, respetivamente. As alterações observadas mantiveram-se significativas mesmo após o ajustamento para fatores potenciais de viés (infecção respiratória prévia e alergias respiratórias, entre outros) (463).

Slaughter e col. investigaram os efeitos de curto prazo da exposição a PM_{3,5}, acroleína, formaldeído e monóxido de carbono na função pulmonar de um grupo de 65 bombeiros expostos em incêndios experimentais, observando uma média de exposição diária a partículas muito elevada (882 ug/m³) e também valores elevados de exposição a acroleína, formaldeído e monóxido de carbono. O FEV₁ decresceu 0,125 L após os incêndios; um aumento de 1000 µg/m³ de PM_{3,5}, foi associado a um decréscimo significativo de FEV₁ de -0,030 L. Não foram verificadas associações estatisticamente significativas entre a espirometria e a exposição a acroleína, formaldeído e monóxido de carbono (464).

Reinhardt e Ottmar efetuaram medições entre os bombeiros expostos em 13 incêndios florestais no Oeste dos Estados Unidos entre 1992 e 1995, demonstrando que, embora a maioria das exposições não tenham sido significativas, 3 a 5 por cento excederam os limites de exposição ocupacional para o monóxido de carbono e para alguns irritantes respiratórios. A exposição ao benzeno e a partículas em suspensão não foi significativa, embora os autores reconheçam algumas limitações na medição das últimas. As maiores exposições de curto prazo ocorreram durante as fases iniciais do combate e sobretudo nos bombeiros envolvidos na primeira linha de combate, excedendo em várias ordens de grandeza os limites de exposição ocupacional recomendados. Os valores médios de PM_{3,5} medidos foram de 0,72 mg/m³ (pico

de 2,93 mg/m³) e os de monóxido de carbono foram de 4 ppm (pico ponderado para duas horas de 38,8 ppm). Segundo este estudo, os autores preconizaram que a exposição a acroleína, benzeno, formaldeído e partículas respiráveis poderia ser prevista a partir das medições de monóxido de carbono, uma vez que se obtiveram valores de correlação entre 0,44 e 0,91. Por outro lado, as observações mostraram que a exposição excessiva ao fumo ocorre sobretudo quando os bombeiros realizaram uma tarefa especialmente urgente ou quando o clima (nomeadamente as mudanças da direção e intensidade do vento) ou a alteração da dinâmica do fogo assim o exigiram, fazendo com que muitos bombeiros ignorem a irritação provocada pela exposição ao fumo, enquanto se concentram em tarefas emergentes (465).

Bergström e col. realizaram broncofibroscopia com lavagem broncoalveolar a 13 bombeiros não fumadores. Comparativamente a um grupo controlo, o grupo dos bombeiros mostrou menor recolha do fluido instilado, que apresentava maior quantidade de linfócitos, fibronectina e ácido hialurónico (466).

Gaughan e col. estudaram 17 bombeiros de uma equipa americana durante o combate a um fogo florestal de grandes dimensões. Quantificaram também o levoglucosano, como indicador de combustão de biomassa. Verificaram correlação entre o decréscimo do FEV₁ dos bombeiros e a exposição a concentrações respiráveis mais elevadas de levoglucosano; as concentrações individuais de monóxido de carbono também estavam correlacionadas com a maior exposição a partículas. Contudo, quando foram observados níveis mais baixos de monóxido de carbono, não houve correlações com eventuais níveis mais baixos de partículas (467).

Dunn e col. constataram uma diminuição do FEV₁, bem como um aumento da proteína catiónica eosinofílica (*eosinophilic cationic protein* – ECP) e da mieloperoxidase (MPO) na expectoração e no líquido de lavagem nasal de bombeiros americanos expostos, confirmando aumento da inflamação das vias respiratórias nestes profissionais (468).

Pode também haver alguma dependência entre o tipo de biomassa queimada e as exposições observadas. Em fogos controlados na Carolina do Sul, os níveis mais elevados de exposição a levoglucosano e monóxido de carbono ocorreram em áreas preferencialmente ocupadas por espécies de pinheiro (469).

Durante os períodos do inverno de 2003 e 2004, Adetona e col. investigaram o efeito da exposição em fogos controlados e as potenciais alterações na função ventilatória. A exposição cumulativa ao fumo foi associada a pequenas diminuições na função pulmonar entre os

bombeiros florestais estudados; contudo, para um determinado ponto no tempo durante a estação, cada dia adicional de exposição foi associado a um decréscimo de 24 mL quer na CVF quer no FEV₁ pré-turno (470).

Noutro trabalho liderado pelo mesmo autor, foram estudadas as exposições de PM_{2,5} de bombeiros envolvidos em fogos controlados no sudoeste dos EUA, medindo médias geométricas de exposição a estas partículas de 280µg/m³, muito acima dos níveis recomendados pela ACGIH. Comprovaram uma correlação entre exposição a PM_{2,5} e monóxido de carbono ($r = 0,79$), podendo qualquer uma destas substâncias ser usada para a determinação indireta da exposição (471).

Muito poucos estudos têm abordado as alterações respiratórias de bombeiros florestais fora dos EUA.

Serra e col. avaliaram a função respiratória de 92 bombeiros com atividades de combate a incêndios florestais na Sardenha, usando como controlo 51 polícias (*Carabinieri*). Os bombeiros apresentaram valores significativamente mais baixos de FEV₁, do quociente FEV₁/CVF, do DEM₅₀, do DEM₇₅ e do quociente CVF/DEM₇₅ (472).

Uma população de 108 bombeiros de uma Unidade de Segurança Civil da Córsega foi testada imediatamente após terem sido expostos ao fumo de árvores coníferas. Em comparação com os valores basais, foi observada uma diminuição dos parâmetros da espirometria imediatamente após o final da exposição (FEV₁ -0,53 L; FVC -0,59 L; PEF -53 L/min) e de forma ainda mais notável após 24 horas (FEV₁ -0,28 L; FVC -0,34 L; PEF -45 L/min), curiosamente sem sintomas respiratórios significativos (473).

Em Portugal e com o objetivo principal de caracterizar a função respiratória de bombeiros voluntários portugueses no ativo, expostos a fumos de incêndios florestais, Almeida e col. realizaram um estudo descritivo, transversal e observacional, onde foi verificado um padrão espirométrico obstrutivo num elevado número de bombeiros (11,8%). Contudo, na amostra selecionada de 209 bombeiros, 42,9% dos indivíduos apresentavam hábitos tabágicos regulares. Esta prevalência de padrão obstrutivo era superior à prevalência nacional de DPOC, nomeadamente no grupo com idade inferior a 40 anos (474).

Também Miranda e col. reportaram valores de exposição consideráveis referentes a medições de matéria particulada, SO₂ e NO₂ efetuadas em incêndios florestais experimentais, através de

monitores individuais em bombeiros expostos e da monitorização do ar ambiente (que constituíram a primeira medição do género na Europa) (475).

1.3.1.2 Riscos cardiovasculares

Têm sido propostas várias explicações para a alta mortalidade associada a eventos cardiovasculares entre os bombeiros. Entre elas, destaca-se a exposição ao fumo, diversas substâncias químicas de risco, o esforço físico intenso e variável, o trabalho com equipamentos e materiais pesados, stresse térmico, trabalho por turnos, alta prevalência concomitante de fatores de risco cardiovascular e fatores de stresse psicológico (476-480).

Aparentemente, a maior parte dos eventos descritos em estudos retrospectivos relaciona-se com atividades específicas e episódicas durante o combate a incêndios e não à profissão de bombeiro na globalidade; de facto, no caso dos EUA, onde o início destas atividades é precedido por rigorosos exames médicos e de aptidão física (o que não ocorre regularmente no nosso país), poder-se-ia verificar um viés associado ao “efeito do trabalhador saudável” (481). Contudo, as populações de bombeiros têm exposições episódicas a níveis extremos de desgaste físico e psicológico, associadas a riscos específicos (inalação de monóxido de carbono, outros químicos e matéria particulada, que são conhecidos stressores cardíacos). Aparentemente, os eventos cardíacos em excesso observados nestes grupos estão relacionados não com a profissão, mas antes com atividades específicas da profissão, sendo que as de maior risco são representadas pelas atividades de combate ativo e de pós-incêndio (rescaldo) (476, 481).

Há essencialmente duas linhas de pensamento que sugerem que a patologia cardiovascular possa constituir uma preocupação nestas populações: por um lado a presença de altos níveis de stresse presentes neste tipo de atividade; por outro lado a exposição conhecida a elevados níveis de substâncias com efeitos cardiovasculares previamente conhecidos, nomeadamente o monóxido de carbono (448).

Aparentemente, a causa principal de morte relacionada com o trabalho entre bombeiros dos EUA é a morte súbita cardíaca, responsável por cerca de 50% das mortes em serviço de combate a incêndios, sendo que 90% se deve a eventos coronários agudos, sobretudo em indivíduos com mais de 45 anos (482).

Fatores de risco concomitantes podem contribuir significativamente para esta situação. De acordo com um estudo retrospectivo de Geibe e col., doença coronária prévia, tabagismo e

hipertensão são fortes preditores de mortalidade em bombeiros que apresentam eventos cardiovasculares agudos durante o trabalho (483).

De igual forma, a investigação dos casos de morte súbita cardíaca em bombeiros com menos de 45 anos (até mesmo no grupo <35 anos) aponta para a presença de fatores de risco importantes, também dependentes dos estilos de vida praticados, nomeadamente a maior prevalência de obesidade, doença coronária prévia, hipertrofia ventricular esquerda e/ou cardiomegalia. Dos casos investigados num estudo caso-controlo realizado por Yang e col., 63% dos falecidos por morte súbita cardíaca eram obesos e 67% tinham doença coronária relacionada com a causa primária de morte (482).

No maior estudo relativo a riscos cardiovasculares em bombeiros, publicado até à data, Kales e col. compararam o risco de morte por doença coronária entre bombeiros envolvidos e não envolvidos em tarefas de emergência e obtiveram valores de *odds ratio* de 136 (IC: 101-183) para as atividades específicas de combate a incêndios face à população geral nacional. Foram examinadas todas as 449 mortes ocorridas por eventos cardíacos em bombeiros dos EUA entre 1994 e 2004; através de modelos estatísticos e ficou provado, por exemplo, que durante as atividades de extinção de incêndios (não obstante representarem apenas 1-5% do total de horas de trabalho anual de um bombeiro), ocorriam 30% do total de mortes súbitas cardíacas dentro dos casos estudados (477).

Angerer e col. avaliaram o stresse cardiocirculatório de 49 jovens bombeiros profissionais durante um incêndio experimental de 30 minutos, obtendo valores de frequência cardíaca máxima de 177 ± 23 /minuto, o que dificilmente é avaliado numa prova de aptidão física prévia à contratação; durante o combate a incêndio, a frequência cardíaca máxima foi 66% superior à prova de esforço e 84% superior ao exercício anual com equipamento de combate (484).

Para além de inúmeros estudos que relacionam a exposição a matéria particulada com patologia respiratória, cada vez mais publicações mencionam a relação entre exposição a $PM_{2,5}$ e PM_{10} e patologia cardiovascular, o que poderá ser, em parte, responsável pelos resultados de alguns destes estudos (485, 486).

Resulta fundamental a completa avaliação dos parâmetros fisiológicos individuais, previamente à contratação para estas atividades de risco, bem como o seguimento regular e o apoio à adoção de estilos de vida saudáveis como forma principal de redução do risco de morte súbita cardiovascular (481, 487).

1.3.1.3 Outros riscos

Os bombeiros florestais enfrentam uma série de agentes de stresse, ocupacionais e ambientais, durante as suas atividades. O impacto individual que a disrupção do sono, a exposição ao fumo e a temperaturas muito elevadas provocam em medidas distintas de desempenho das tarefas cognitivas e físicas, é relativamente bem conhecido e envolve habitualmente uma diminuição da *performance* em testes cognitivos e de destreza e discriminação visual e auditiva. Em contraste, os efeitos sinérgicos destes agentes sobre o desempenho humano não foram pesquisados em detalhe (488).

Por outro lado, e atendendo a que a grande maioria dos bombeiros se encontra exposta com regularidade a agentes potencialmente carcinogénicos, vários estudos têm avaliado a eventual relação entre exposição ocupacional e determinados tipos de neoplasias (489-491).

LeMasters e col. publicaram em 2006 uma metanálise de 32 estudos relativos ao risco de cancro em bombeiros, onde calcularam estimativas de risco que mostravam uma associação provável entre a profissão e mieloma múltiplo, linfoma não-Hodgkin, cancro da próstata e do testículo (490).

Da mesma forma, a Agência Internacional para a Investigação do Cancro (IARC) reviu 42 estudos e relatou riscos significativos para cancro testicular, prostático e linfoma não-Hodgkin. No entanto, dada a evidência limitada, a IARC classificou as exposições ocupacionais dos bombeiros no Grupo 2B (possíveis carcinogénicos para os seres humanos) (492).

Mais recentemente, já em 2014, foram publicados dois estudos com amostras significativas: Pukkala e col. efetuaram uma análise baseada em dados censitários de cinco países nórdicos (total de 15 milhões de indivíduos), incluindo 16422 bombeiros do sexo masculino, com avaliação das razões padronizadas de incidência (RPI); um excesso moderado de risco (RPI=1,06; IC 1,02 a 1,11) foi calculado para a doença neoplásica em geral. Foram, também, determinados riscos aumentados, essencialmente na população com mais de 70 anos, para cancro de pele, mieloma múltiplo, adenocarcinoma do pulmão e mesotelioma (RPI de 1,4; 1,69; 1,9 e 2,59, respetivamente) (493).

Um estudo similar foi realizado por Daniels e col. avaliando a mortalidade e a incidência de cancro numa coorte de bombeiros de São Francisco, Chicago e Filadélfia, entre os anos de 1950 e 2009). A mortalidade por todas as causas foi bastante próxima do esperado (razão padronizada de mortalidade de 0,99; IC: 0,97 a 1,01). Contudo, verificou-se um excesso de

mortalidade e de incidência de cancro, sobretudo do aparelho digestivo e respiratório. O método utilizado baseou-se no sistema de análise *NIOSH Life Table Analysis System* (494).

Note-se que a maior parte destes estudos sobre incidência e mortalidade por cancro não são específicos de bombeiros florestais; contudo, Booze e col. avaliaram alguns riscos de saúde característicos da exposição a 15 químicos presentes no fumo dos incêndios florestais (vários aldeídos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, monóxido de carbono, benzeno e partículas respiráveis). O benzeno e o formaldeído apresentaram um risco superior de cancro, sendo que a acroleína e as partículas respiráveis demonstraram razões de risco superiores a 1 (495).

Reinhardt e Ottmar efetuaram extenso trabalho de caracterização das exposições específicas dos bombeiros florestais, dando principal destaque à matéria particulada, formaldeído e acroleína, que se encontravam quantitativamente correlacionados com os níveis de exposição a monóxido de carbono, permitindo a eventual extrapolação das exposições globais a partir da monitorização desta substância. As exposições mais significativas verificaram-se nos fogos controlados (usados regularmente por vários serviços florestais, antes da época de incêndios, para reduzir a biomassa e os subsequentes riscos de combustão), de forma mais expressiva do que no combate a fogos florestais (496).

Mais recentemente, alguns autores debruçaram-se sobre a capacidade de o fumo de incêndios florestais induzir stresse sistémico oxidativo e nitrosativo em bombeiros expostos. Contudo, muito poucos estudos têm avaliado alterações de stresse oxidativo ou nitrosativo em indivíduos expostos a fumo de combustão vegetal. A quantidade vasta de compostos já identificados no fumo destes incêndios, inclui gases de estufa (dióxido de carbono, metano, dióxido de enxofre), compostos fotoquimicamente reativos (compostos orgânicos voláteis não metânicos, monóxido de carbono, óxidos de azoto) e partículas. Entre estas substâncias encontram-se compostos como a acetona, tolueno, xileno, etilbenzeno, hexano, etano, *n*-butano, isopreno, ácido fórmico, ácido acético, propenal (acroleína), furanos, amónia, acetonitrilo e ácido cianídrico (497, 498). Não obstante haver alguma dependência do tipo de biomassa combustível, na generalidade verifica-se a presença, no fumo destes incêndios, de inúmeras substâncias que podem exercer os seus efeitos potenciais por mecanismos de stresse oxidativo ou nitrosativo. Os compostos presentes nestes fumos contêm radicais livres com potencial para gerar espécies reativas de oxigénio (499, 500).

Barregard e col. expuseram voluntários saudáveis a fumo de combustão de madeira em cabinas, em condições experimentais, verificando um aumento do óxido nítrico exalado, do MDA no condensado brônquico e da proteína sérica das células de Clara, em concentrações de exposição sobreponíveis às observadas em ambientes domésticos com fumo (501).

Noutro estudo da mesma equipa, em condições similares, verificou-se um aumento dos níveis séricos de amiloide A (um fator de risco cardiovascular), bem como do fator VIII plasmático e da relação fator VIII/fator von Willebrand e ainda aumento da excreção urinária de 8-iso-prostaglandina-2-alfa (8-isoprostano) (502).

Adetona e col. analisaram os níveis de malondialdeído (MDA) e 8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina (8-oxo-dG) urinários em 19 bombeiros florestais antes e após incêndios prescritos, usando estes compostos na monitorização de stresse oxidativo, uma vez que o 8-oxo-dG é o marcador mais estudado de oxidação do ADN e o MDA é o principal produto da peroxidação de ácidos gordos polinsaturados. Observaram valores elevados de 8-oxo-dG urinário, quando comparados com outros estudos sobre este metabolito na população geral, embora não tivessem observado alterações significativas dos valores de ambos os compostos antes e após exposição (503).

Hejl e col. demonstraram um aumento estatisticamente significativo da IL-8 sérica em bombeiros americanos expostos, em fogos controlados. Na globalidade, as concentrações séricas de IL-8, Proteína C Reativa (PCR) e ICAM-1 (*Intercellular Adhesion Molecule -1*) aumentaram em mais de 50% das amostras ao longo do turno de trabalho, sendo contudo, necessários mais estudos para compreender as respostas fisiológicas subjacentes aos efeitos adversos deste tipo de exposição, nomeadamente no que diz respeito às respostas inflamatórias desencadeadas (504).

Swiston e col. avaliaram diversos parâmetros sistémicos e respiratórios de bombeiros florestais antes e após um dia de exposição, tendo verificado um aumento estatisticamente significativo de granulócitos na expetoração induzida, bem como de leucocitose e aumento dos níveis séricos de IL-6, IL-8 e proteína-1 quimiotática de monócitos (MCP-1), concluindo que a exposição aguda a fumo de fogos florestais induz uma resposta inflamatória sistémica e local (445).

Em resumo e não obstante a existência de um número limitado de estudos específicos sobre os riscos ocupacionais de bombeiros expostos a fumo de fogos florestais, a generalidade do conhecimento atual aponta múltiplos riscos, mas com claro predomínio respiratório e

cardiovascular; sendo Portugal um país fortemente assolado por estes eventos, será natural assumir a necessidade de produção científica dedicada ao tema.

1.4 O CASO ESPECÍFICO DA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL A SOLVENTES

A classe química dos solventes engloba um extenso e heterogéneo grupo de substâncias muito voláteis e com grande capacidade de absorção através da via respiratória. Por outro lado, o seu baixo peso molecular e lipofilicidade promovem uma rápida absorção cutânea. A sua principal forma de eliminação é através da metabolização hepática, mediada pelo citocromo P450; contudo, em algumas circunstâncias, como é o caso do benzeno, este fenómeno pode gerar metabolitos com elevada toxicidade (505).

Um grande número de solventes apresenta características que permitem a sua classificação na família dos Compostos Orgânicos Voláteis (COV). Contudo, a própria definição de COV é distinta entre vários organismos ou países. A *Environmental Protection Agency* (EPA) dos EUA define COV como qualquer composto de carbono (excluindo o monóxido de carbono, dióxido de carbono, ácido carbónico, carbonetos e carbonatos metálicos e o carbonato de amónia) que participe em reações atmosféricas fotoquímicas (506).

A nível da União Europeia, e segundo a Diretiva 2004/42/C, um COV é qualquer composto orgânico que apresente um ponto de ebulição inferior ou igual a 250 °C, medido a uma pressão atmosférica de 101,3 kPa (1 atmosfera) (507). Previamente, a Diretiva 1999/13/CE definia um COV, em termos funcionais, como sendo um composto orgânico com uma pressão de vapor maior ou igual que 0,01 KPa, a uma temperatura de 20 °C, ou tendo uma volatilidade correspondente, sob circunstâncias particulares de uso (508). Mais recentemente, foi publicado o novo *standard* europeu sobre testes de COVs (*standard* CEN/TS 16516).

Uma das aplicações mais importantes dos COVs é na área dos solventes industriais. O termo "solvente orgânico" será, então, entendido como um nome genérico para um grupo de compostos químicos ou misturas, que são líquidos a uma temperatura variando entre cerca de 0 a 250 °C. São voláteis e relativamente inertes do ponto de vista químico. Os solventes são utilizados industrialmente para extrair, dissolver ou suspender materiais não solúveis na água (por exemplo, gorduras, lípidos, resinas e polímeros) (509).

Entre os principais solventes orgânicos com potencial uso ou presença frequente em ambiente ocupacional, encontram-se compostos como hidrocarbonetos aromáticos (benzeno, tolueno, xilenos), hidrocarbonetos alifáticos (n-hexano, *white spirit*), hidrocarbonetos clorados

(diclorometano, clorobenzeno, tetracloroetileno), álcoois, ésteres de ácidos carboxílicos, cetonas, éteres de glicol e amidas (509).

A taxa com que os COVs entram e saem do sistema respiratório é principalmente uma função da distribuição destes compostos entre os compartimentos lípidicos e aquosos do organismo. Os compostos com elevada solubilidade lipídica serão armazenados nos tecidos gordos (lipofilicidade) e acumulam-se, dependendo da extensão e duração da exposição. A cinética dos COVs durante a fase de exposição mostra um rápido aumento inicial estabilizando posteriormente, o mesmo acontecendo durante a fase de eliminação (redução inicial rápida da concentração do COV, que diminui ao longo do tempo) (509).

O sistema respiratório é a principal via de absorção de COVs em condições ambientais e ocupacionais, verificando-se um aumento da pressão parcial alveolar do vapor correspondente do COV, durante a exposição. A absorção sistémica é determinada por duas ordens de variáveis, as características do composto (coeficiente de partição sangue alveolar/ar alveolar) e do indivíduo (volume ventilatório, frequência respiratória, gradiente de difusão alveolar, tipo e carga de trabalho). A absorção de gás aumenta em proporção com a magnitude da diferença da sua pressão parcial entre o sangue venoso capilar pulmonar e os alvéolos pulmonares. Esta diferença diminui quando todos os tecidos do corpo atingem o equilíbrio com a pressão parcial alveolar. Uma vez no sangue, a absorção tissular é determinada pela perfusão dos tecidos-alvo e pelo coeficiente de partição entre o sangue e estes órgãos (509). Assim, a concentração de um determinado solvente no ar alveolar pode constituir uma forma de avaliar a extensão da exposição, o que já foi determinado em circunstâncias experimentais, para o tolueno e *m*-xileno (510).

Entre as indústrias com maior utilização de solventes orgânicos citam-se as do calçado, plásticos, resinas, tintas e vernizes, produção e reparação automóvel, lavandarias a seco e impressão tipográfica (492, 511-514).

A grande maioria dos estudos relativos aos efeitos agudos destes tóxicos na saúde diz respeito às alterações do Sistema Nervoso Central (SNC), com sinais e sintomas variando desde a depressão ligeira do SNC, com tontura, sonolência, apatia (efeitos procurados pelos toxicodependentes inaladores de cola) até à indução de anestesia e mesmo morte (515, 516).

Alguns solventes específicos (*n*-hexano, metil-*n*-butilcetona) podem causar uma neuropatia periférica caracterizada pela perda de sensibilidade distal, progressiva, podendo evoluir para défices motores significativos e mesmo para parésia total. Outros, como é o caso do benzeno,

podem induzir aplasia medular, hepatotoxicidade (tetracloroeto de carbono, clorofórmio, dimetilformamida), toxicidade para o sistema reprodutor (óxido de etileno, éteres de glicol) e dermatites. Por outro lado, vários solventes orgânicos aumentam o risco de algumas neoplasias (leucemias, linfomas, mieloma múltiplo) e podem, também, ter um efeito similar nos filhos de pais ocupacionalmente expostos (517-520).

Do ponto de vista respiratório, a exposição a solventes orgânicos tem sido relacionada com queixas de tosse e dispneia, pieira, aumento do volume de expetoração, decréscimo da função respiratória (sobretudo em fumadores) e potencial aumento da prevalência de asma e de apneia do sono (521-527).

Asmáticos expostos a solventes orgânicos durante 90 minutos mostraram diminuição significativa do FEV₁, o que pode significar um comportamento pró-inflamatório destes compostos na via aérea (528) .

Çakmak e col. avaliaram as alterações respiratórias de indivíduos expostos a solventes orgânicos em fábricas de armamento; em não fumadores, os sintomas relacionados com asma foram mais prevalentes em trabalhadores expostos do que nos não expostos (39,7% vs 21,7% OR 2,4; IC a 95%: 1,3 a 4,3; $p=0,003$). A análise de regressão logística efetuada mostrou que o tabaco e a exposição a solventes são fatores independentes para sintomas relacionados com asma (529). Um estudo posterior com o mesmo grupo ocupacional exposto sugeriu que, longitudinalmente, a exposição crónica a baixas doses de solventes não tinha afetado negativamente a função pulmonar, tendo, contudo, aumentado a prevalência de asma, de forma estatisticamente significativa (523).

Num estudo de coorte realizado nos EUA pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), 7828 trabalhadores da indústria do calçado foram acompanhados, correspondendo a 300777 pessoas/ano; Lehman e Hein verificaram a persistência de um excesso de mortalidade por cancro do pulmão ao longo do seguimento (razão padronizada de mortalidade = 1,36; IC a 95%: 1,19 a 1,54) (530).

A indústria do calçado pertence ao sector produtivo estratégico nacional. Segundo a Central de Balanços do Banco de Portugal-2011, a indústria do calçado representava 4% das empresas, 3% do volume de negócios e 6% do número de pessoas empregadas nas indústrias transformadoras, com particular impacto nos distritos de Aveiro, Porto e Braga (531). Segundo dados de 2013, este sector emprega mais de 35 mil pessoas e a sua produção ronda os 74

milhões de pares por ano. No último ano, o número de pares produzido em média, por cada trabalhador, aumentou 4%, estando próximo dos 2100/ano (532).

Muitos dos processos de fabrico necessários são ainda manuais e os solventes orgânicos constituem uma das principais fontes de risco, sobretudo na utilização de colas e líquidos dissolventes (colagem e preparação das solas, montagem e acabamento) (533).

Em 1999, Mayan e col. efetuaram a avaliação de 100 empresas de calçado do Norte de Portugal, detetando 22 compostos orgânicos distintos em 1161 amostras ambientais e individuais avaliadas. O tolueno e o *n*-hexano eram as mais frequentes (>90%), bem como a acetona. De acordo com as médias ponderadas determinadas, 57,6% estavam acima dos valores recomendados quer pela norma Portuguesa NP 1796, quer pela Norma Europeia EN 689, quer ainda pelos *Threshold Limit Values* (TLV) da ACGIH (533).

A monitorização biológica pode ser importante nestes trabalhadores, nomeadamente através da determinação de metabolitos urinários de alguns solventes orgânicos, tais como a 2,5 hexanediona (2,5 HD), que resulta da metabolização do *n*-hexano e é o seu metabolito mais perigoso, responsável pelas potenciais alterações neurológicas (534, 535).

Num estudo realizado em Portugal por Mayan e col., foram avaliados 45 trabalhadores expostos a colas na indústria do calçado nacional, verificando-se uma correlação linear entre este metabolito urinário e a exposição a *n*-hexano, com diferenças estatisticamente significativas face ao grupo controlo (535).

As exposições ocupacionais na indústria do calçado podem induzir alterações significativas na saúde, nomeadamente a nível genotóxico, tal como ficou demonstrado pelo número aumentado de alterações morfológicas de linfócitos periféricos documentadas por Pitarque e col. (536). Também Heuser e col. detetaram a presença de lesões do ADN em trabalhadores brasileiros da área do calçado, mostrando que 25% destas alterações podiam estar associadas a polimorfismos genéticos do GSTP1 e do CYP2E1 (537).

A nível renal, a exposição a tolueno na indústria do calçado pode causar lesão tubular, o que é sugerido pelos níveis elevados de *n*-acetil-beta-D-glucosaminidase presentes em trabalhadores expostos (538).

Tal como em outras profissões, também a exposição múltipla e cumulativa a misturas de solventes orgânicos pode provocar alterações neuro-comportamentais significativas em trabalhadores deste ramo (539).

Não obstante a limitação legal ao uso do benzeno, a indústria chinesa mantém a sua presença na composição de alguns produtos (sobretudo colas) usados nas empresas produtoras de calçado; mesmo após a redução do valor de exposição ocupacional estabelecido, as medições de exposição ao benzeno, embora com níveis mais baixos, sugerem que muitas instalações apresentam concentrações do químico que ainda estão acima do permitido (540).

Raros estudos têm avaliado potenciais alterações respiratórias induzidas pelas exposições verificadas na indústria do calçado. Paggiaro e col. mencionam a presença de queixas significativas de tosse, expetoração e hiper-reatividade brônquica persistente em trabalhadores italianos do sector industrial do calçado (541).

Maniscalco e col. monitorizaram o óxido nítrico exalado (F_eNO) em 17 trabalhadores e 10 controlos, demonstrando um aumento em indivíduos expostos a solventes orgânicos (de 9,1 ppb para 12,8 ppb de F_eNO , em média, ao longo do turno). Os autores advogam que estímulos pró-inflamatórios no local de trabalho, tais como o tolueno ou o xileno, podem aumentar a expressão da nitratosintase indutível (NOS) (542).

O condensado respiratório (EBC) poderá ser também uma matriz para a determinação de solventes orgânicos tais como o tolueno. Maniscalco e col., naquele que foi aparentemente o único estudo até à data recorrendo a EBC na exposição a COVs, encontraram uma correlação significativa entre os níveis de tolueno ambiental e tolueno no EBC no final da exposição de voluntários saudáveis e entre os níveis aumentados de tolueno no EBC e do seu metabolito urinário, o ácido hipúrico (376).

Por outro lado, outra das áreas de atividade com extensa exposição a COVs é a da indústria produtora e transformadora de plásticos. Em Portugal, e segundo as Estatísticas da Produção Industrial 2012, a fabricação de artigos de borracha e de matérias plásticas ocupa o 8º lugar no *ranking* das vendas de produtos e prestação de serviços, correspondendo a um valor de 3218038000 euros, no ano de 2012, vindo a subir progressivamente no *ranking* da produção industrial no nosso país (543).

Diversos riscos de saúde são, também, observados na indústria transformadora de plásticos, com emissão potencial de COVs na sequência do aquecimento e fusão da matéria-prima, antes de esta ser colocada nos moldes, na limpeza e desengorduramento das peças e na sua estampagem/pintura. A estes riscos somam-se os específicos da exposição ao estireno, substância química largamente usada nesta indústria, como precursor de polímeros mais complexos e que possui efeitos nocivos sobre a pele, sistema nervoso central e periférico,

sistema digestivo, sistema reprodutor e aparelho respiratório, sendo considerado um possível carcinogénio (2B) pela IARC (544-548).

Por outro lado, estão descritos casos de patologia respiratória do tipo intersticial em trabalhadores expostos aos vapores resultantes do aquecimento de polímeros plásticos sintéticos (549). A febre por inalação de vapores de polímeros é um quadro clínico essencialmente ocupacional, resultante da exposição aos fumos que são produzidos quando polímeros contendo flúor, tais como o Politetrafluoroetileno (PTFE), também conhecido como Teflon, são aquecidos acima de 300 °C (550).

A presença de isocianatos associados a solventes orgânicos na indústria de componentes plásticos pode potenciar o risco de desenvolvimento de doenças ocupacionais respiratórias onde se destaca a asma ocupacional (551-554).

Khaliq e colaboradores observaram uma diminuição significativa da função ventilatória num grupo de trabalhadores expostos na indústria dos componentes de plástico, provavelmente associada aos múltiplos estímulos inalatórios, nomeadamente químicos, nas suas funções. Foram observados valores significativamente mais baixos de vários parâmetros espirométricos (DEM_{25} ; DEM_{50} , DEM_{25-75} , CVF, FEV_{1} , VVM e VRE, entre outros), comparativamente a um grupo controlo (555). Fenómenos de stresse oxidativo foram também observados neste tipo de indústria; trabalhadores expostos tinham níveis mais elevados de malondialdeído (MDA) e mais baixos de glutatião reduzido, face a grupo controlo, com valores espirométricos estatisticamente mais baixos (545).

1.5 SÍNTESE

De forma global e entre os múltiplos riscos presentes nos mais diversificados ambientes de trabalho, poder-se-á afirmar que o Sistema Respiratório é, não só uma das vias de absorção preferencial de químicos e partículas, como também é um dos alvos principais no que toca à indução de lesão ocupacional. Entre as principais doenças ocupacionais encontram-se precisamente as patologias respiratórias, em que se destacam a asma ocupacional, as pneumoconioses, as pneumonites de hipersensibilidade e as neoplasias pulmonares de etiologia profissional.

A evolução da incidência e da prevalência destas doenças tem sido heterogénea entre os diferentes países, traduzindo as características específicas do mercado laboral, do desenvolvimento de práticas adequadas em Saúde e Segurança no Trabalho, do quadro legislativo e da investigação e desenvolvimento nestas áreas.

Portugal, não obstante pertencer ao grupo das economias de mercado desenvolvidas, apresenta aspetos laborais particulares, muito dependentes da evolução histórica e das suas características sócio-económicas, o que motivou provavelmente o elevado número de pensionistas com incapacidade para o trabalho causada por doença profissional reconhecida.

Diversos grupos profissionais apresentam riscos inalatórios elevados, nomeadamente os expostos na indústria transformadora e na indústria química. Outras ocupações de alto risco são, por vezes, menos valorizadas no que toca a potenciais efeitos a longo prazo, como é o caso dos bombeiros e dos profissionais da proteção civil.

A avaliação respiratória dos trabalhadores expostos tem sofrido grande evolução nos últimos anos, havendo uma tendência crescente para uma abordagem multidisciplinar e, sempre que possível, com recurso a novas metodologias não invasivas e sem risco associado para os indivíduos monitorizados. As técnicas de avaliação não invasiva podem vir a ter um grande potencial no diagnóstico e acompanhamento das doenças ocupacionais respiratórias e sobretudo na monitorização ocupacional regular, detetando alterações precoces e reversíveis e evitando a progressão de quadros clínicos complexos e de potencial gravidade. Entre elas têm vindo a obter particular destaque a avaliação do óxido nítrico no ar exalado e o estudo de múltiplos parâmetros e biomarcadores no condensado respiratório. O seu papel nestas patologias de etiologia profissional virá provavelmente a ter desenvolvimentos significativos nos próximos anos.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

- Contribuir para o estudo integrado e não invasivo das alterações respiratórias potencialmente induzidas por exposições ocupacionais inalatórias, através de metodologia inovadora e, desta forma, detalhar e pormenorizar estratégias em Medicina Preventiva, no ramo da Saúde Ocupacional, que possam ser utilizadas na vigilância, rastreio e hierarquização de riscos profissionais em populações mais vastas e diversificadas, potencialmente expostas a múltiplos riscos respiratórios.

2.2 ESPECÍFICOS

- Criar estratégias e aplicar metodologias, com particular destaque para a F_ENO e o EBC, que permitam o estudo não invasivo mais aprofundado dos fenómenos fisiopatológicos potencialmente induzidos por estímulos ocupacionais.
- Avaliar a aplicabilidade potencial destas técnicas em populações profissionalmente expostas a riscos inalatórios diversos.
- Contribuir para o estabelecimento de abordagens ocupacionais com uma perspetiva maioritariamente preventiva, em que se pretendam reconhecer, *ab initio*, alterações de saúde mínimas, precoces e como tal, passíveis de ser rapidamente corrigidas pela intervenção nos locais e técnicas de trabalho.
- Estudar grupos populacionais saudáveis e regularmente expostos a diversos estímulos ocupacionais no seu dia-a-dia, estabelecendo, para o efeito, um Estudo de Caso, referente a uma amostra populacional representativa e paradigmática da multiplicidade dos riscos inalatórios profissionais. Assim, será avaliada uma amostra constituída por várias dezenas de bombeiros portugueses, regularmente envolvidos no combate a incêndios florestais. Como objetivo específico, pretende-se caracterizar este grupo profissional, de forma inovadora, através da monitorização contínua e em tempo real dos riscos efetivos, em termos inalatórios e da modelação temporo-espacial durante as atividades de combate a incêndio, avaliando potenciais alterações respiratórias relacionadas com as exposições de risco, através de metodologia não invasiva.
- Contribuir para o estudo da aplicabilidade da metodologia não invasiva de avaliação ocupacional respiratória em grupos industriais de risco, recorrendo e integrando

OBJETIVOS

simultaneamente parâmetros funcionais, inflamatórios, de stresse oxidativo e nitrosativo e de exposição individual, selecionando para o efeito, indivíduos ocupacionalmente expostos na indústria nacional do calçado e da produção e transformação de produtos de plástico.

- Estudar as associações potenciais entre as alterações funcionais respiratórias e dos biomarcadores avaliados e os valores de monitorização ocupacional individual nas diversas amostras estudadas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

No que diz respeito à metodologia utilizada, esta tese é constituída por três estudos de investigação, que envolveram diferentes amostras ocupacionalmente expostas a riscos distintos, em vários ambientes ocupacionais.

3.1 PROJETO FUMEXP

A base fundamental para o desenvolvimento e aplicação de técnicas e métodos não invasivos de monitorização em ambiente ocupacional de indivíduos expostos a riscos inalatórios, foi desenvolvida no âmbito do Projeto FUMEXP – *“Exposição de bombeiros ao fumo e consequentes efeitos na saúde”*, sob financiamento da Fundação para a Ciência e Tecnologia (PTDC/AMB/66707/2006; FCOMP-01-0124-FEDER-007023) e que envolveu a parceria multidisciplinar de três Instituições: Departamento do Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro (Coordenação do Projeto), Centro de Pneumologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra e Associação para o Desenvolvimento da Aerodinâmica Industrial, da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Entre os seus principais objetivos, este Projeto visou analisar o efeito do fumo dos incêndios florestais na saúde dos bombeiros, com base na estimativa da sua exposição individual a poluentes atmosféricos através de:

1. Monitorização de poluentes atmosféricos em ambiente de incêndio experimental e real.
2. Modelação da qualidade do ar.
3. Avaliação e monitorização de múltiplos parâmetros em bombeiros de quatro corporações participantes.

O Projeto FUMEXP englobou a realização de quatro tarefas principais durante três anos, várias delas ocorrendo em paralelo (Quadro 4):

- Tarefa 1 – Medição da exposição ao fumo;
- Tarefa 2 – Modelação da exposição ao fumo;
- Tarefa 3 – Avaliação dos efeitos do fumo na saúde dos bombeiros;
- Tarefa 4 – Integração e síntese.

Durante a sua realização, verificou-se uma total colaboração e abordagem multidisciplinar entre os diversos intervenientes das equipas de investigação, permitindo complementar cada tarefa e realizar os objetivos pretendidos. Tal só se tornou possível pela forma como as três

Instituições conseguiram interagir e pela excelente resposta que o Projeto teve nas Corporações envolvidas.

Quadro 4. Cronograma do Projeto FUMEXP

Tarefas	Ano I	Ano II	Ano III
Tarefa 1	[Barra de tarefa 1]		
Tarefa 2		[Barra de tarefa 2]	
Tarefa 3	[Barra de tarefa 3]		
Tarefa 4			[Barra de tarefa 4]

Procurou-se estabelecer a ponte entre as medições da exposição individual e a avaliação não invasiva dos parâmetros de saúde, permitindo, se possível, a análise integrada da relação causa-efeito entre a exposição e as alterações na saúde e contribuindo para o conhecimento das condições reais de trabalho dos bombeiros envolvidos no combate a fogos florestais.

3.1.1 Caracterização da amostra do Projeto FUMEXP

Na população portuguesa de bombeiros envolvidos em atividades de combate a fogos florestais procedeu-se à seleção de uma amostra de 40 indivíduos da Região Centro de Portugal. Tratou-se de uma amostra de conveniência, com recurso a voluntários saudáveis, a quem foi previamente apresentado o Projeto, seus objetivos e âmbito. Como critérios de não inclusão, estabeleceram-se o tabagismo, doença ativa (nomeadamente, respiratória, alérgica, cardiovascular, inflamatória sistémica) e, no caso de bombeiros voluntários, o exercício de uma profissão concomitante com risco inalatório elevado. Após o contacto inicial com várias corporações, foi obtido o consentimento escrito e informado dos participantes.

A dimensão da amostra foi estabelecida com base nos recursos humanos e materiais disponíveis e que possibilitassem a exequibilidade das monitorizações necessárias ao desenvolvimento do Projeto. Não tendo sido possível obter o número pretendido ($n=40$), a amostra foi constituída por 38 bombeiros das seguintes corporações:

- Bombeiros Sapadores de Coimbra – BSC ($n=10$)
- Bombeiros Municipais da Lousã – BML ($n=8$)
- Bombeiros Voluntários de Albergaria-a-Velha – BVA ($n=10$)
- Bombeiros Voluntários de Castanheira de Pêra – BVCP ($n=10$).

A amostra foi constituída por 38 indivíduos. Referem-se as suas principais características no Quadro 5. A razão de género foi de 34 homens (89%)/4 mulheres (11%) (Figura 5).

Quadro 5. Caracterização da amostra do Projeto FUMEXP

Características da amostra		
<i>n</i> = 38	Idade	Altura
Média	29,92	173,24
Desvio Padrão	7,07	6,28
Percentil 25	23,75	169,75
Percentil 50 (mediana)	30	172,50
Percentil 75	32,50	178,00

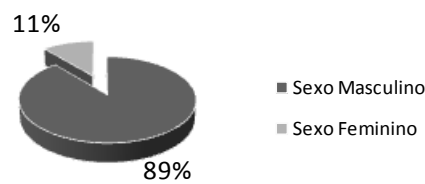


Figura 5. Distribuição por gênero

No início do Projeto, toda a amostra foi observada clinicamente pela equipa médica do Centro de Pneumologia da Universidade de Coimbra, através de exame médico detalhado com registo da história clínica prévia, antecedentes pessoais e familiares, história profissional, hábitos e exame objetivo pormenorizado. Todos os elementos da amostra foram considerados clinicamente saudáveis, não se identificando patologia ativa nem hábitos ou alterações clínicas relevantes para o estudo.

Foi aplicado o inquérito de saúde SF-36 v2 (Anexo 1) traduzido e validado para português por Ferreira e col. (556, 557), no início e no final do Projeto. Foi também obtido o inquérito SF-6D, cuja elaboração resulta das questões respondidas no inquérito SF-36, não sendo, por isso, necessária a aplicação de novas perguntas (558).

Atendendo ao elevado custo dos monitores individuais utilizados e à cabimentação financeira do Projeto, tornou-se inviável a aquisição de equipamentos para todos os elementos da amostra. Desta forma foi constituída uma subamostra de dez bombeiros, distribuídos pelas quatro corporações: três da Associação dos Bombeiros Voluntários de Albergaria-a-Velha; dois dos Bombeiros Voluntários de Castanheira de Pêra; dois dos Bombeiros Municipais da Lousã e três dos Bombeiros Sapadores de Coimbra.

Contudo, nas determinações dos ensaios de campo do triénio 2008-2010 e em todas as ocorrências de fogo real, sempre que havia pelo menos um bombeiro da amostra original

($n=38$) envolvido, a equipa médica era acionada para efetuar as determinações dos parâmetros de saúde.

Como o Projeto FUMEXP envolveu uma equipa multidisciplinar constituída não só por médicos mas por investigadores de várias áreas (Engenheiros do Ambiente, Engenheiros Mecânicos e outros Investigadores na área do Ambiente), todos os dados clínicos ficaram exclusivamente na posse e sob controlo do coordenador médico do Projeto.

As tarefas de monitorização e modelação da exposição ambiental e individual ao fumo ficaram sob a responsabilidade da equipa coordenadora do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro; as tarefas logísticas, de preparação e segurança dos ensaios de campo da Gestosa (fogos prescritos) ficaram sob a responsabilidade da equipa da Associação para o Desenvolvimento da Aerodinâmica Industrial da Universidade de Coimbra. A integração e síntese teve a colaboração das três equipas envolvidas no Projeto.

3.1.2 Equipamentos de monitorização ambiental da qualidade do ar

Durante os ensaios experimentais de 2008 e 2009, foram determinados valores de concentração de poluentes no ar (PM_{10} , CO e NO_x), através de um laboratório móvel de monitorização da qualidade do ar, da Universidade de Aveiro e que foi localizado em área próxima à da realização dos ensaios, tendo em conta a direção do vento (Figuras 6 e 7). Foram, também monitorizados em tempo real os vários parâmetros meteorológicos, através de uma estação meteorológica instalada neste laboratório e duas estações móveis adicionais.



Figura 6. Laboratório móvel de qualidade do ar (A); Analisadores de PM_{10} , CO, NO_x (B)



Figura 7. Laboratório móvel de qualidade do ar exposto à coluna de fumo proveniente da queima de uma parcela durante o ensaio “Gestosa 2009”

No Quadro 6 estão referenciados os equipamentos e características que este laboratório móvel permitiu monitorizar.

Quadro 6. Monitorização em laboratório móvel de qualidade do ar

Poluente	Tipo de dados (medições em contínuo)	Designação do equipamento
PM ₁₀	Médias de 15 min	Environment MP101M
NO _x	Médias de 15 min	Environment AC31M
CO	Médias de 1 min	Environment CO11M

3.1.3 Equipamentos de monitorização ocupacional individual

3.1.3.1 Monitorização de gases

Após a revisão da literatura no que diz respeito ao tipo de agentes agressivos potencialmente presentes no fumo resultante dos incêndios florestais, foram selecionados os seguintes compostos para monitorização individual, quer nos ensaios de campo, quer em incêndios experimentais: compostos orgânicos voláteis (COV), dióxido de azoto (NO₂), oxigénio (O₂), monóxido de carbono (CO) e partículas com diâmetro aerodinâmico equivalente ou inferior a 2,5 µm (PM_{2,5}). Na base da seleção dos equipamentos estiveram características de fiabilidade, portabilidade, robustez, facilidade de operação e possibilidade de recolha contínua de dados. Para COVs, NO₂ e O₂ foi usado o equipamento GasAlertMicro 5 PID da *BW Technologies* e para a monitorização do CO foi usado o equipamento GasAlertextreme da mesma firma (Figura 8), cujas características principais se apresentam no Quadro 7.



Figura 8. Detetor de gases Micro 5 PID (A) e detetor de CO GasAlertextreme (B)

Quadro 7. Intervalos de medição e resolução dos equipamentos

Gases	Intervalo de medição	Resolução	Equipamento
O ₂ (%)	0-30	0,5	Detetor de gases Micro 5 PID
NO ₂ (ppm)	0-99,9	0,1	Detetor de gases Micro 5 PID
COV (ppm)	0-1000	1	Detetor de gases Micro 5 PID
CO (ppm)	0-1000	1	Detetor de CO GasAlert extreme

Estes equipamentos destinam-se a monitorizar a exposição individual aos gases selecionados, sendo sobretudo usados em atmosferas de risco, nomeadamente ocupacionais.

O GasAlertMicro 5 PID permite visualizar e armazenar, simultânea e continuamente, as concentrações de gases [em ppm, LEL (*Lower Explosive Limit*) % ou % v/v]. Pesa 370 g e a sua bateria recarregável tem uma autonomia até 12 horas em operação contínua. Permite que a aquisição de dados seja configurável entre 1 a 127 segundos e com um cartão de memória de 32 Mb consegue armazenar 2 meses de dados em contínuo (com intervalos de amostragem de 5 segundos). Todos os monitores foram calibrados diariamente.

O GasAlertextreme permite visualizar e armazenar, em contínuo, a concentração de CO (ppm). A sua bateria tem uma vida útil de 2 anos. Tem um peso de 82 g. Permite, também, que a aquisição de dados seja configurável entre 1 a 127 segundos.

Para a calibração dos sensores de COV e NO₂ foi utilizado gás de calibração isobutileno numa concentração de 100 ppm e NO₂ a 10 ppm, respetivamente. Para a calibração diária do sensor de CO utilizou-se gás de calibração de 100 ppm.

3.1.3.2 Monitorização de partículas

Para a monitorização de partículas $PM_{2,5}$ recorreu-se ao equipamento de monitorização pessoal SIDEPAK AM510 da empresa *TSI Inc.* (Figura 9).



Figura 9. Equipamento de monitorização de partículas Sidepak AM510

Este equipamento permite um ajustamento do caudal de amostragem entre 0,7 a 1,8 L/min. As concentrações de $PM_{2,5}$ são apresentadas e armazenadas em tempo real (mg/m^3). Tem uma capacidade de armazenamento de 31000 pontos, que corresponde a 21 dias de aquisição de dados, se for selecionado um intervalo de amostragem de 1 minuto. Este pode ser definido entre 1 segundo a 1 minuto. O equipamento tem um peso de 460 gramas. A bateria tem uma duração variável, em função do caudal utilizado, entre 9,2 a 11,5 horas. No Quadro 8 referem-se alguns dos dados técnicos do equipamento.

Quadro 8. Especificações de medição de $PM_{2,5}$ do SIDEPAK AM510

PM (μm)	Intervalo de medição (mg/m^3)	Resolução (mg/m^3)
2,5	0,001 - 20	0,001

3.1.4 Monitorização do posicionamento

Para a consolidação da base experimental do Projeto revelou-se fundamental o conhecimento da localização dos bombeiros, quer durante as atividades de combate a incêndio real, quer durante os ensaios experimentais. Assim e após ter sido devidamente autorizada, de forma individual, por cada bombeiro, a recolha da sua posição geográfica apenas durante estas atividades, selecionou-se um sistema de posicionamento global (GPS) WBT-201 da empresa *Wintec Wireless Electronics*, que apresenta uma autonomia da bateria de 15 horas e tem uma capacidade de aquisição de 131072 pontos, com precisão de localização de 2,5 metros. (Figura 10).



Figura 10. Sistema de posicionamento GPS Wintec WBT-201

3.1.5 Ensaios de Campo 2008, 2009 e 2010 – incêndios florestais experimentais

Os ensaios de campo são uma importante fonte de dados de investigação no estudo do comportamento do fogo florestal, sendo utilizados para efeitos de pesquisa de múltiplas variáveis envolvidas e tendo potencial interesse no treino das práticas de combate. O mesmo ensaio de campo pode ser usado por distintas equipas de investigação e entre as suas principais vantagens, como complemento essencial aos ensaios em laboratório, destaca-se o facto de serem realizados à escala real, com vegetação natural, com todas as suas propriedades inalteradas.

A Associação para o Desenvolvimento da Aerodinâmica Industrial (ADAI) é especialista neste âmbito e ao longo das últimas duas décadas tem vindo a desenvolver vasta investigação na área dos incêndios florestais, nomeadamente através do Centro de Estudos sobre Incêndios Florestais e do seu Laboratório (criado na Serra da Lousã em 1999). Os ensaios de campo decorrem habitualmente na zona de Castanheira de Pêra, no campo de ensaios da Gestosa.

Este local oferece excelentes condições, nomeadamente apoio logístico, declive e vegetação homogéneos e segurança e facilidade de acesso, motivo pelo qual tem sido visitado por várias equipas nacionais e estrangeiras que nele têm vindo a desenvolver as suas pesquisas.

Nos anos de 2008, 2009 e 2010, durante o início do mês de maio e no âmbito do Projeto FUMEXP, realizaram-se vários ensaios de queima controlada, por forma a monitorizar a exposição dos bombeiros ao fumo, bem como investigar as potenciais alterações nos parâmetros de saúde determinados antes e após a exposição, permitindo assim uma melhor compreensão dos fenómenos envolvidos e preenchendo lacunas no seu conhecimento.

As parcelas de queima fizeram parte do campo de ensaios da Gestosa numa área devidamente autorizada e sob administração da Comissão de Compartes dos Baldios do Coentral (Figura 11).

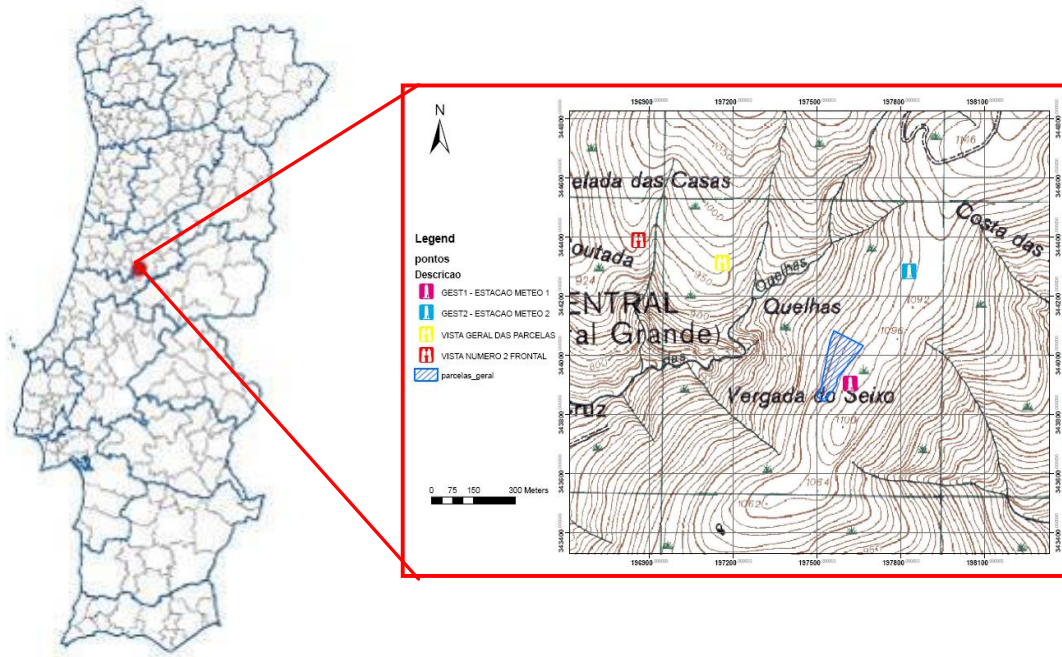


Figura 11. Localização das Parcelas de Ensaio

A preparação das parcelas foi efetuada três meses antes dos ensaios. Estas estavam instaladas em encostas com declives entre os 16° e os 27° , sendo as exposições principais a Noroeste. Na área de estudo, a temperatura média anual era 11°C e a precipitação média anual era de 760 mm, com um défice de água no solo entre julho e setembro.

Resulta fundamental o conhecimento e a caracterização das principais espécies vegetais presentes. As espécies dominantes na área de estudo foram a *Erica australis*, a *Erica umbellata*, a *Chamaespartium tridentatum* e o *Halimium ocymoides*. Foi também efetuada a caracterização da vegetação quanto à sua humidade e dimensão (a espécie de maiores dimensões foi a *Erica australis*, que também era a que ocupava a maior parte do terreno). A grande maioria das parcelas envolvidas tinham um coberto vegetal de 100%. A espécie com maior massa volúmica foi a *Chamaespartium tridentatum* com $3,42\text{ kg/m}^3$.

Em 2008 e 2009 as áreas de estudo foram divididas em sete e quatro parcelas respetivamente, com formas regulares e dimensões variáveis. Em 2008 as parcelas variaram entre 874 e 2820 m^2 e em 2009 entre 1800 e 6057 m^2 .

Nos ensaios “Gestosa 2010”, a área de estudo foi dividida em 6 parcelas; contudo, por questões de segurança associadas à direção e intensidade do vento, foram queimadas apenas três parcelas. Nas Figuras 12 e 13 apresenta-se o aspeto de algumas das parcelas preparadas para o Projeto FUMEXP.

Nas Figuras 14 a 16, observam-se as queimas de algumas parcelas nos anos de 2008, 2009 e 2010.



Figura 12. Disposição das áreas de estudo no ensaio de campo "Gestosa 2008"

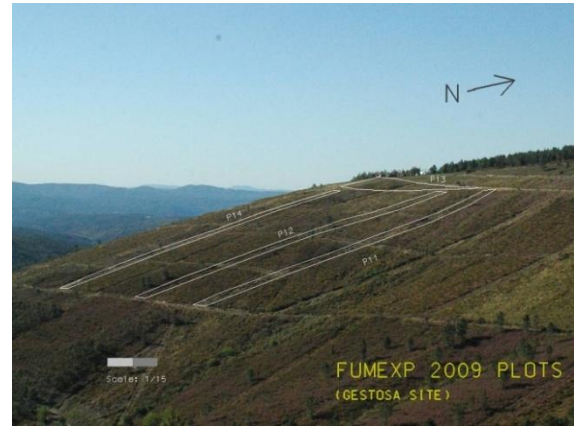


Figura 13. Disposição das áreas de estudo no ensaio de campo "Gestosa 2009"



Figura 14. Queima de parcelas durante o ensaio de campo "Gestosa 2008"



Figura 15. Queima de parcelas durante o ensaio de campo "Gestosa 2009"



Figura 16. Queima de parcelas durante o ensaio de campo "Gestosa 2010"

Por forma a avaliar os dados meteorológicos durante os ensaios experimentais, foram instaladas estações meteorológicas portáteis (duas unidades nos ensaios de 2008 e uma unidade nos ensaios de 2009 e 2010). No Quadro 9 apresentam-se os principais parâmetros meteorológicos observados durante os ensaios experimentais.

Quadro 9. Dados meteorológicos para os ensaios 2008, 2009 e 2010

Parcela	Velocidade do vento (m/s)	Direção do vento	Temperatura (°C)	Humidade (%)
Gestosa 2008				
P01	1,5	S	19,4	32,8
P02	2,2	O	20,2	35
P03	3,8	NO	20,2	48,2
P04	3,3	SE	17	58,5
P05	2,8	SE	17,7	57,6
P06	0,9	SE	17,6	19,2
P07	2,2	O	17,8	15,6
Gestosa 2009				
P11	2,2	SE	21	31
P12	1,9	SE	22	28,4
P13	6,2	NE	24,6	21,6
P14	7,8	NO	22,3	22,3
Gestosa 2010				
P1203	3,1	E	12,5	46
P1202	2,3	S	14,3	37,5
P1201	3,2	SO	16,5	37

Nas Figuras seguintes (17 a 20) observam-se alguns dos bombeiros monitorizados durante os ensaios de campo.



Figura 17. Ensaios de campo (a)



Figura 18. Ensaios de campo (b)



Figura 19. Ensaios de campo (c)



Figura 20. Ensaios de campo (d)

3.1.6 Monitorização em ocorrências de incêndio real

Durante os anos de 2008, 2009 e 2010, a subamostra constituída pelos dez bombeiros previamente referenciada em 3.1.1. esteve envolvida ativamente no combate a fogos florestais reais. Após formação específica dos referidos bombeiros antes do início do Projeto, estes foram instruídos no sentido de usar os quatro equipamentos de monitorização já descritos em 3.1.3. e 3.1.4. em todas as ocorrências de fogo florestal a que acorressem. Foram criados manuais específicos para cada equipamento, em linguagem clara e dada formação contínua para a sua utilização.

Todos os indivíduos da subamostra sabiam como utilizar os equipamentos, uma vez que todos os fogos florestais reais em que foram monitorizados ocorreram após o primeiro ensaio “Gestosa 2008” e foi precisamente nesta ocasião que foram esclarecidas todas as dúvidas sobre o funcionamento do equipamento.

A equipa de investigação do Departamento do Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro esteve permanentemente contactável, caso houvesse alguma situação anómala relativa aos equipamentos.

Dois elementos da equipa médica do Centro de Pneumologia da Universidade de Coimbra estiveram contactáveis por telemóvel, em permanência, 24/24 horas, durante as épocas de incêndio do triénio 2008-2010. Os bombeiros da subamostra contactavam de imediato esta equipa logo que regressavam da zona de incêndio, permitindo que pelo menos um dos elementos da equipa estivesse presente à sua chegada ao quartel ou à zona de *debriefing* ou de segurança, efetuando as monitorizações de saúde no mais curto intervalo de tempo após a exposição.

Desenvolveu-se uma total confiança e colaboração entre as equipas de investigação e o grupo de bombeiros estudado, o que fez com que fosse possível a avaliação dos parâmetros de saúde em múltiplas ocasiões e sempre que houve ocorrências, independentemente da hora do dia ou da noite.

3.1.6.1 Caracterização da época de incêndios 2008, 2009 e 2010

No Quadro 10 e na figura 21, caracterizam-se as ocorrências totais nacionais registadas para os anos de 2008 a 2010, segundo os dados definitivos registados pela Autoridade Florestal Nacional (559).

Quadro 10. Estatística anual de fogos florestais no período de 2008 a 2010.

Ano	Nº ocorrências			Área Ardida (ha)		
	Fogachos	Incêndios	Total	Povoamento	Mato	Espaço Florestal (povoamento+mato)
Ano 2008	12339	2591	14930	5461,3	12103,4	17564,8
Ano 2009	20274	5862	26136	24097,4	63323,4	87420,8
Ano 2010	18056	3970	22026	46079,5	87011,3	133090,7

Adaptado de *Estatística - dados sobre incêndios florestais nacionais. 2010* (559).

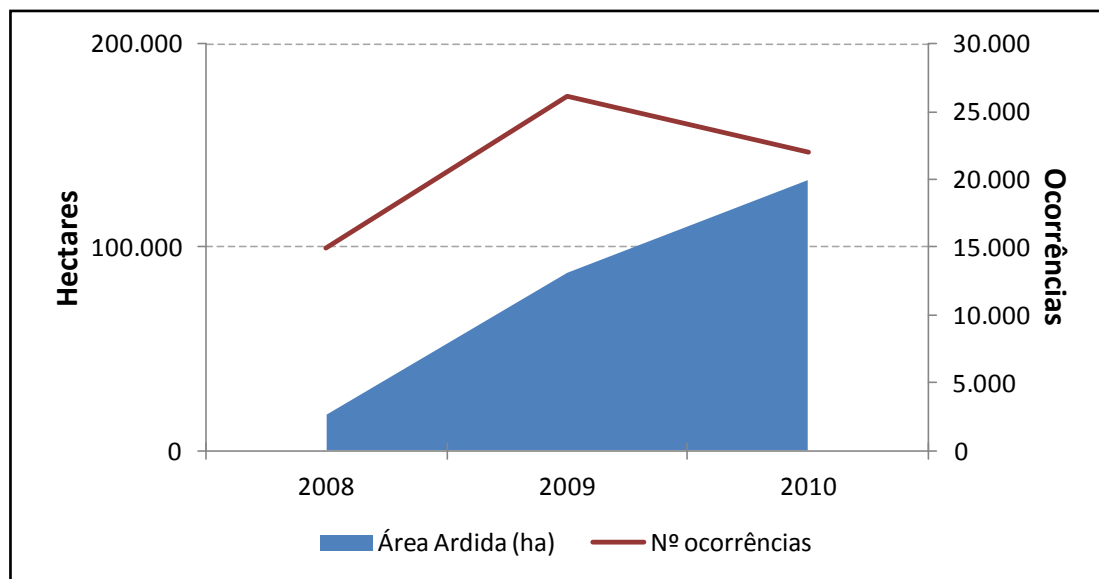


Figura 21. Número de ocorrências e área ardida no período de 2008 a 2010.
Adaptado de *Estatística - dados sobre incêndios florestais nacionais. 2010* (559)

Durante o período de estudo do Projeto FUMEXP, o ano de 2008 foi o de menor número de ocorrências, o que também se traduziu num menor número de chamadas por parte dos bombeiros da subamostra estudada.

3.1.7 Monitorização dos efeitos do fumo dos incêndios florestais na saúde dos bombeiros expostos

3.1.7.1 Espirometria

Toda a amostra foi estudada através de espirometria para avaliação da sua função respiratória. Foram determinados dois tempos para a sua realização: durante o mês de abril de 2008, antes do início da época de incêndios e antes do primeiro ensaio de campo “Gestosa 2008”, e, comparativamente, após o final da época de incêndios de 2010.

Foi usado um espirómetro regularmente calibrado da marca *Micromedical*, modelo *MicroLab* Cat. No. ML3500 (Micro Medical Ltd, Rochester, Kent) (Figuras 22 e 23). Foram medidos os parâmetros espirométricos FEV₁ (volume expiratório máximo no 1º segundo, ou *forced expiratory volume 1st second*), CVF (capacidade vital forçada ou *forced vital capacity*), quociente FEV₁/CVF, DEMI (débito expiratório máximo instantâneo, ou *peak expiratory flow*), DEM₅₀ (débito expiratório mediano a 50% da CVF ou F₅₀), DEM₂₅ (débito expiratório mediano a 25% da CVF ou F₂₅) e DEM₂₅₋₇₅ (débito expiratório mediano entre 25 e 75% da CVF ou *median expiratory flow 25-75*).

Figura 22. Espirômetro *MicroLab* Cat. No. ML3500

Figura 23. Realização de espirometria

A metodologia usada cumpriu as recomendações internacionais da ATS/ERS (136) e as determinações foram efetuadas por uma equipa de técnicas superiores de Cardiopneumologia, com larga experiência nesta área. Os resultados foram expressos em percentagem do valor previsto, segundo as equações derivadas da base de dados da *European Community for Steel and Coal* (ECCS).

3.1.7.2 Fração de óxido nítrico no ar exalado ($F_{E}NO$)

Toda a amostra foi submetida à determinação da fração de óxido nítrico no ar exalado ($F_{E}NO$) através de um equipamento *NIOX MINO*[®], da firma sueca *Aerocrine* (Figuras 24 e 25). Este equipamento apresenta uma elevada reprodutibilidade e consistência, possuindo um filtro específico para evitar a contaminação com os valores de óxido nítrico do ar ambiente e um sistema de pré-calibração incorporado. O equipamento possibilita, também, a quantificação do óxido nítrico no ar ambiente exterior, o que se pode tornar particularmente relevante em dias de maior calor ao permitir avaliar a possibilidade de interferência entre o óxido nítrico no ambiente e os valores determinados. Foram efetuadas determinações a toda a amostra, quer antes, quer após os ensaios de campo da Gestosa, quer ainda após incêndios reais, em todos os bombeiros envolvidos (e não apenas à subamostra monitorizada). De acordo com o preconizado nas recomendações da ATS e da ERS, a determinação da $F_{E}NO$ foi efetuada antes da espirometria (213).



Figura 24. Equipamento *NIOX MINO*® para determinação da $F_{E}NO$



Figura 25. Determinação de $F_{E}NO$ após um ensaio de campo

3.1.7.3 Monóxido de carbono e percentagem de carboxihemoglobina

No ano de 2008, estes parâmetros foram monitorizados em toda a amostra, com recurso ao equipamento *Smoke-check* da firma *Micromedical*. Este equipamento permitiu a monitorização de quatro classes intervalares quantitativas (0-6 ppm; 7-10 ppm; 11-20 ppm e >20 ppm). Posteriormente, nos anos 2009 e 2010, as determinações foram efetuadas com o equipamento *MicroCO*® (*Micromedical Viasys*), que permitiu realizar avaliações quantitativas entre os 0 e os 100 ppm de CO, com intervalos de uma unidade (Figuras 26 e 27).

Foram realizadas determinações a toda a amostra no início do Projeto e também aos elementos da amostra que participaram nos ensaios de campo e após incêndio real, tal como sucedeu com a $F_{E}NO$.



Figura 26. Equipamento *MicroCO*®



Figura 27. Determinação do CO e %COHb após um ensaio de campo

3.1.7.4 Condensado brônquico no ar exalado (*Exhaled breath condensate* – EBC)

A colheita do EBC foi efetuada com recurso ao dispositivo *Rtube*[®], da empresa *Respiratory Research Inc.*, Austin, Texas, EUA. Trata-se de um equipamento constituído por um tubo descartável de polipropileno, com válvulas unidirecionais para evitar a contaminação salivar da amostra e um bocal. Este tubo é introduzido num cilindro de alumínio que se encontra a temperaturas negativas (cerca de -10°C) e protegido por uma manga de material isolante. De acordo com as especificações da empresa fornecedora deste equipamento, as amostras foram obtidas com os bombeiros a respirar tranquilamente em volume corrente, durante um período de 15 minutos, o que possibilita a recolha de um volume de cerca de 1 a 2 mL de condensado (Figura 28).



Figura 28. Recolha de EBC

Após a sua recolha, estes tubos eram transportados no frio dentro de uma arca frigorífica conectada ao sistema de bateria do automóvel, mantendo-se a temperaturas muito baixas. À chegada ao Laboratório do Centro de Pneumologia da Universidade de Coimbra, as amostras eram prontamente pipetadas para tubos *ependorf*, identificadas e congeladas a -80°C . Os procedimentos efetuados seguiram as recomendações estandardizadas internacionais (250).

Dado que o EBC é seguramente um dos mais inovadores e promissores métodos de avaliação respiratória não invasiva, com excelentes resultados e aceitação por parte dos indivíduos em quem é recolhido (tal como foi detalhadamente referido no sub-capítulo 1.2.1.4.) e a sua utilidade e alcance em ambiente ocupacional está ainda a atravessar uma fase pioneira, foi dado particular relevo à sua determinação.

Atendendo à limitada experiência nacional nesta área e após múltiplos contactos internacionais, estabeleceu-se uma profícua parceria com uma das equipas mais diferenciadas neste âmbito, a do Professor Massimo Corradi do Departamento de Medicina Clínica da Universidade de Parma, referência mundial na área da investigação do condensado brônquico no ar exalado e líder na análise de aldeídos nesta matriz. Por outro lado, o Professor Corradi é também especialista em Pneumologia e em Medicina do Trabalho, facto que facilitou a interação multidisciplinar que motivou a realização desta tese.

Após reuniões entre os investigadores de ambas as Instituições, foram escolhidos os parâmetros de maior relevo a analisar nas amostras de EBC.

Selecionaram-se os seguintes:

- Arginina
- Ornitina
- Prolina
- 4-Hidroxiprolina
- Citrulina
- Isoleucina
- Leucina
- Tirosina
- Dimetilarginina assimétrica (ADMA)
- Dimetilarginina simétrica (SDMA)
- 8-isoprostano
- Nitratos
- Malondialdeído (MDA)
- 4-hidroxinonenal (HNE)

Foram efetuadas múltiplas colheitas de EBC aos elementos da amostra envolvidos nos ensaios de campo (pré e pós exposição) e após incêndio real.

As determinações de todos os parâmetros do EBC foram realizadas no Laboratório de Toxicologia Industrial do Departamento de Medicina Clínica da Universidade de Parma.

Os elevados parâmetros de controlo de qualidade usados obrigaram a que, em raras ocasiões, algumas amostras fossem descartadas, devido a potencial contaminação salivar, não obstante o equipamento de colheita RTube® ter válvulas para evitar esta situação. Como a contaminação salivar pode alterar os valores medidos nas amostras, sempre que analiticamente se suspeitou da presença deste tipo de alteração, não se consideraram, para efeitos de investigação, os respetivos valores; desta forma, todos os valores apresentados

correspondem a amostras totalmente validadas de EBC, representando 93,3% do total de amostras colhidas.

3.1.7.4.1 Método de determinação do perfil de aminoácidos no EBC

Para a avaliação do perfil de aminoácidos relevantes no EBC, escolheu-se a técnica de Cromatografia Líquida – Espectrometria de Massa em *tandem* (LC-MS/MS - *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry*), devido à sua grande fiabilidade e rigor, não obstante a sua complexidade. Descreve-se seguidamente e em mais detalhe o método desenvolvido e utilizado por Andreoli e col. neste Laboratório de referência.

3.1.7.4.1.1 Materiais

Os padrões analíticos de referência para o monohidrocloreto de L-Arginina (Arg, 98%), N^G,N^G-Dihidrocloreto de Dimetiarginina (ADMA), N^G,N^G-Dimetil-L-arginina di(p-hidroxiazobenzeno-p-sulfonato) salino (SDMA, >99%), L-Prolina (Pro, >99%), *trans*-4-Hidroxi-L-prolina (4-OH-Pro, >99%), monohidrocloreto de L-Ornitina (Orn, >99%), L-Citrulina (Citr, >98%), L-Leucina (Leu, >98%), L-Isoleucina (Ile, >98%), L-Tirosina (Tyr, >98%) e ácido fórmico foram adquiridos à empresa *Sigma–Aldrich*. Os compostos estáveis marcados com isótopos e usados como padrões internos, *i.e.*, L-Arginina: HCL (U-¹³C₆, 98%; U-¹⁵N₄, 98%) e Dimetilarginina assimétrica-HCl: H₂O (2,3,3,4,4,5,5-D₇, 98%), foram obtidos na empresa *CIL (Cambridge Isotope Laboratories, Inc. EUA)*.

A água com grau adequado para HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), o metanol e o acetonitrilo usados para preparar a fase móvel e os tratamentos das amostras foram fornecidos pela empresa *Merck (VWR International Srl)*.

3.1.7.4.1.2 Instrumentação e condições analíticas

Todas as amostras de estudo e amostras calibradoras foram analisadas num equipamento *Agilent HP 1100 Series* HPLC, consistindo de uma bomba binária, um *autosampler* com termóstato e um desgaseificador a vácuo. O sistema de cromatografia líquida foi acoplado a um espectrómetro de massa triplo-quádruplo *AB Sciex API 4000™* equipado com uma fonte de tipo *Turbolon Spray®* (TISP). Foi usado um *software Analyst® 1.5.1* no controlo instrumental. A separação cromatográfica foi realizada numa coluna *Atlantis® dC₁₈* (*Waters, Milford, MA, EUA*) usando uma proporção variável de 10 mM de ácido fórmico aquoso (solvente A) e metanol/acetonitrilo (95/5, v/v; solvente B) como fase móvel. Efetuou-se a seguinte programação de eluição: 0% de solvente B, pausa de 0,5 min; de 0% a 98% de solvente B em

1,0 min (gradiente linear); 98% solvente B, pausa de 4 min; de 98% a 0% de solvente B em 0,5 min (gradiente linear); 0% solvente B, pausa de 10 min, de volta à condição inicial. O tempo total de execução foi de 16 min. As primeiras e as últimas partes da passagem cromatográfica (0-0,5 e 8,8-16 min, respetivamente) foram desperdiçadas usando uma válvula de 10 portas (*Valco Systems, Houston, Texas, EUA*). A taxa de fluxo foi de 0,2 mL/min; o volume de injeção foi 5 µL. A temperatura do *autosampler* foi de 10 °C.

O espectrómetro de massa foi operado em modo de íão positivo com taxas de fluxo de gás de cortina, taxas de gás 1 e de gás 2 de 25, 50 e 50 *psi*, respetivamente. A tensão de pulverização iónica foi de 5500 V e a temperatura da fonte foi de 675 °C. Para todas as alíquotas, os parâmetros foram otimizados através da infusão de 2 µM de solução para cada um, em 50/50 (v/v) solvente A/solvente B e posteriormente refinados por FIA (análise de injeção de fluxo) usando as mesmas soluções padrão puras.

3.1.7.4.1.3 Soluções padrão

Soluções padrão (no intervalo de 5-200 mM) de Arg, Pro, Citr, Orn, 4-OH-Pro e ADMA foram preparadas em água e as de Leu, Ile, Tyr e SDMA foram preparadas em água e NH₄OH até à solubilização completa do padrão. Estas soluções são estáveis durante 6 meses, desde que armazenadas a -20 °C. Uma solução contendo 8 mM de Orn, 800 µM de Arg, Pro, Citr, Leu, Ile e Tyr, 200 µM de 4-OH-Pro e 80 µM de ADMA e SDMA, foi preparada diariamente em água. Esta solução foi adicionalmente diluída para preparar os padrões de calibração para o EBC. A água também foi usada para a preparação das soluções de padrão interno, de modo a atingir a concentração de 5 µM de Arg-¹³C₆-¹⁵N₄ e 200 nM de ADMA-d₇ (*Mix* de padrões internos).

3.1.7.4.1.4 Preparação das amostras

Após descongeladas, as amostras de EBC foram centrifugadas a 10000 rpm durante 5 minutos. Subsequentemente, 54 µL de cada amostra foram adicionados a 6 µL de mistura de padrões internos e injetados duas vezes no sistema de HPLC.

3.1.7.4.1.5 Validação metodológica

- Linearidade e limites de deteção

A linearidade do método foi determinada em amostras de EBC adicionando os padrões de calibração, em diferentes níveis. Em detalhe, as concentrações adicionadas variaram de 25 a 2000 nMol/L para Orn; 2,5 a 200 nMol/L para Arg, Pro, Citr, Leu, Ile e Tyr; 0,625 a 50 nMol/L para 4-OH-Pro e 0,25 a 20 nMol/L para ADMA e SDMA. As curvas de calibração foram

construídas por meio de análise de regressão linear das proporções de áreas de analito/padrão interno *versus* a concentração de alíquota injetada. Uma vez que uma amostra “padrão” ou “branca” de EBC não está disponível, os limites de detecção (*limit of detection*: LODs, como uma relação sinal-ruído de 3:1) e os limites de quantificação (*limit of quantification*: LOQs, como uma relação sinal-ruído de 10:1) de todas as alíquotas foram determinados em água. Para a Arg-¹³ C₆ e ADMA-d₇ foi possível determinar LODs e LOQs também na matriz (LODs na gama 0,02-0,26 nMol/L e LOQs na gama 0,08-0,88 nMol/L).

- Precisão e exatidão das determinações

As precisões intra e inter-dia foram calculadas em todos os níveis de concentração dos intervalos de calibração pela determinação das concentrações dos analitos numa amostra especial de EBC (*spiked/pooled*) e injetada seis vezes no mesmo dia e três vezes em cinco dias diferentes, respetivamente, tendo todas as variações medidas sido menores que 10%.

3.1.7.4.2 Análise de 8-isoprostano e nitratos no EBC

Os nitratos e o 8-isoprostano foram medidos através de ensaios disponíveis comercialmente (*Cayman Chemical Company*, Ann Arbor, Michigan, EUA), de acordo com os protocolos dos fabricantes.

- O *kit* de Imunoensaio enzimático (*Enzymatic Immunoassay* – EIA) para 8-isoprostano é um imunoensaio muito sensível na detecção deste mediador a nível de várias matrizes biológicas (nomeadamente plasma, urina e EBC).

O ensaio é baseado na competição entre 8-isoprostano e um conjugado de 8-isoprostano-acetilcolinesterase (AChE) para um número limitado de pontos específicos de ligação 8-isoprostanos no soro de coelho. O complexo de anti-soro de 8-isoprostano de coelho liga-se a um anticorpo monoclonal IgG (adicionado previamente no poço da placa de ensaio). Seguidamente o reagente de Ellman contendo o substrato para a AChE é adicionado. O produto resultante desta reação tem uma cor amarela que o distingue, absorvendo a luz num comprimento de onda de 412 nm. Assim, a intensidade da cor produzida pela reação é inversamente proporcional à quantidade de 8-isoprostano livre presente na amostra.

O primeiro passo da análise consistiu na preparação das várias soluções usadas, nomeadamente o padrão interno de 8-isoprostano para Imunoensaio Enzimático (*Enzymatic Immunoassay* – EIA), a solução de *tracer* de 8-isoprostano-AChE e de anti-soro.

Posteriormente foi efetuada a preparação das placas para EIA, com a adição sequencial de reagentes e de 50 µl de amostra por poço. Cada placa foi incubada durante 18 horas a 4 °C. Seguiu-se a adição de Reagente de Ellmann e após um período de 120 minutos no escuro, as placas foram lidas num comprimento de onda de 405 a 420 nm e efetuada a leitura das curvas e os cálculos adequados para a quantificação de 8-isoprostano por amostra. O limiar de detecção desta técnica é muito baixo – na ordem de escassos picogramas por mL de amostra.

- O *kit* de ensaio fluorimétrico para **nitrato/nitrito** fornece um método preciso para a quantificação de níveis totais de nitrato/nitrito em fluidos biológicos, sendo adequado para a sua determinação no EBC.

O primeiro passo do procedimento analítico foi a conversão de nitrato em nitrito utilizando a nitrato-reductase. No segundo passo é adicionado 2,3-diaminonaftaleno (DAN), em solução ácida, seguido-se a adição de NaOH que melhora a detecção do produto fluorescente, 1(H) naftotriazol. A medição da fluorescência deste composto determina com precisão a concentração de NO₂⁻ (nitrito).

Preparação dos reagentes: Foi efetuada a preparação dos reagentes adequados: 1) Solução tampão; 2) Nitrato-reductase; 3) Cofatores enzimáticos; Soluções padrão de nitrato e nitrito; 6) Reagentes fluorimétricos DAN e NaOH.

Realização do Imunoensaio fluorimétrico: Foram adicionados volumes de 10 a 20 µL de EBC e de soluções padrão aos reservatórios da placa de imunoensaio, completando 80 µL e seguidamente foram adicionados os cofatores enzimáticos e a nitrato-reductase. A placa foi incubada a temperatura ambiente e posteriormente foram acrescentadas as soluções de DAN e de NAOH.

Cada placa foi lida num fluorómetro utilizando um comprimento de onda de excitação de 360-365 nm e um comprimento de onda de emissão de 430 nm.

Este ensaio fluorométrico deteta quantidades tão pequenas como 30 nM de nitrito na mistura de reação final (<4 pmol em 0,12 ml). Quando são utilizados 20 µL de amostra, o limite de detecção para o nitrito na amostra original é cerca de 0,2 µM.

3.1.7.4.3 Análise de aldeídos no EBC

Considerou-se, também, como muito relevante para os riscos inalatórios ocupacionais no âmbito desta tese, a análise quantitativa de aldeídos no EBC. A sua medida representa um potencial biomarcador do efeito de stresse oxidativo (560).

Foi usada uma técnica desenvolvida no Laboratório de Toxicologia Industrial do Departamento de Medicina Clínica da Universidade de Parma por Andreoli e col. (560) já previamente utilizada com sucesso: Cromatografia Líquida/Espectrometria de Massa *Tandem* com Ionização Química à Pressão Atmosférica (*Liquid Chromatography/Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry - LC/APCI-MS/MS*). Através deste método, foram determinadas as concentrações dos dois aldeídos que a equipa de investigação considerou mais relevantes: malondialdeído (MDA) e 4-Hidroxinonenal (4-HNE).

3.1.7.4.3.1 Materiais

Os reagentes malondialdeído (MDA) sal de tetrabutylamónia (pureza 98%), acroleína (95%), padrões de n-alcanal (n-hexanal, C6; n-heptanal, C7; n-nonanal, C9 >95%), 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH, 97%), ciclohexanediona (DCC, 97%), ácido tiobarbitúrico (TBA, 98%) e hidroxitolueno butilado (BHT, 99%) foram adquiridos à firma *Sigma-Aldrich* (Milão, Itália). Todos estes padrões foram utilizados sem mais purificação: o 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE, 98%) dissolvido em etanol (87,6 e 64,0 mM) foi adquirido à firma *Cayman Chemicals* (Michigan, EUA). A água com grau de pureza HPLC, metanol e o acetonitrilo foram adquiridos à firma *LabScan* (Dublin, Irlanda). O ácido acético de grau de pureza (> 99%) e o ácido fórmico (> 98%) foram adquiridos à firma *Sigma-Aldrich*.

3.1.7.4.3.2 Instrumentação e condições analíticas

Os padrões de calibração para a determinação da gama de resposta linear foram preparados por diluição em série para as concentrações apropriadas no intervalo de 1 nM a 500 µM. Três amostras de cada padrão de calibração foram derivatizadas e injetadas individualmente. Para a análise quantitativa de aldeídos no EBC, quatro soluções padrão contendo 1 µM, 500 nM, 250 nM e 100 nM de aldeídos foram preparadas diariamente por diluição da solução com água.

3.1.7.4.3.3 Preparação dos derivados de dinitrofenilhidrazona (DNPH)

Foi efetuada uma derivatização dos aldeídos pela mistura de soluções padrão e das amostras recolhidas do EBC com 100 µL do agente de derivatização (solução de DNPH) e mantida à temperatura ambiente durante 1 hora. A amostra derivatizada foi posteriormente otimizada

com ácido acético e ácido fórmico. Em seguida, um volume de 20 µL das amostras derivatizadas foi injetado diretamente no sistema LC/APCI-MS/MS. Cada amostra foi injetada duas vezes.

3.1.7.4.3.4 Sistema LC/APCI-MS/MS

Foi utilizado um cromatógrafo líquido *Perkin Elmer* série 200 (Norwalk, Connecticut, EUA), juntamente com um espectrômetro de massa triplo-quádruplo *PE-Sciex API 365* (*AB Sciex*, Concord, Canadá), equipado com uma interface para ionização química à pressão atmosférica (APCI). As injeções das amostras foram realizadas utilizando um *autosampler* automático *ASPEC XL* (*Gilson*, Villiers-le Bel, França).

3.2 PROJETO DE INVESTIGAÇÃO NA INDÚSTRIA

No intuito de alcançar os objetivos programados e para alargar o horizonte de aplicabilidade das técnicas utilizadas no Projeto FUMEXP, estabeleceu-se um protocolo de investigação que foi desenvolvido a nível industrial em duas empresas da Região Centro do País. Após o estabelecimento de contactos com algumas empresas com potencial risco inalatório, através dos seus Serviços de Saúde e Segurança no Trabalho e estudada a sua integração no tecido empresarial português quanto à produtividade, capital humano e expectável desenvolvimento futuro, selecionaram-se duas, uma no setor do calçado e outra no sector da produção de peças e componentes de plástico moldado e injetado. Passa-se a descrever a amostra e a metodologia usada neste Projeto.

3.2.1 Indústria do calçado

3.2.1.1 Amostra

Após visitas às instalações fabris de uma empresa nacional de calçado, em conjunto com a administração, encarregados de produção, técnico de higiene e segurança e médico do trabalho, selecionou-se o sector com maior exposição a compostos orgânicos voláteis (COVs), sobretudo constituídos por solventes orgânicos: secção de colagem e montagem de calçado. Nessa secção as trabalhadoras manuseiam os vários componentes das peças de calçado efetuando a sua limpeza, colagem e montagem (Figuras 29 e 30).



Figura 29. Limpeza de solas



Figura 30. Colagem de tacões

Nesta secção trabalhavam 11 funcionárias, motivo pelo qual se selecionou toda a população como amostra.

Juntamente com o médico de trabalho da empresa, foram analisados os registos clínicos atualizados e colhida história clínica detalhada. Não foram detetadas alterações significativas no exame clínico. Nenhum dos elementos da amostra era fumador ou se encontrava a fazer medicação para patologias respiratórias e/ou alérgicas.

A média da idade foi de 43,73 ±7,82 anos. A média da altura foi de 155,6±6,19 cm (Quadro 11).

Quadro 11. Caracterização da amostra da indústria do calçado

Características da amostra		
n = 11	Idade	Altura
Média	43,73	155,64
Desvio Padrão	7,82	6,19
Percentil 25	35	150
Percentil 50 (mediana)	46	155
Percentil 75	51	158

3.2.1.2 Monitorização ocupacional da amostra

Oito dos onze elementos da amostra foram monitorizados durante todo o dia de trabalho com os equipamentos *GasAlertMicro 5* PID já descritos em 3.1.3.1., para COVs totais e NO₂. Não foi possível monitorizar toda a amostra, por questões técnicas.

3.2.1.3 Monitorização dos potenciais efeitos da exposição ocupacional na saúde dos trabalhadores

3.2.1.3.1 Espirometria

Toda a amostra foi estudada através de espirometria para avaliação da sua função respiratória. Foram determinados dois tempos para a realização da espirometria: antes do início do turno do primeiro dia semanal de trabalho e no final do turno do último dia de trabalho. O turno realizado pela amostra foi diurno fixo.

Foi usado um espirómetro regularmente calibrado da marca *MICROMEDICAL*, modelo *MicroLab* Cat. No. ML3500 e a metodologia usada cumpriu as recomendações internacionais da ATS/ERS previamente descritas.

3.2.1.3.2 Fração de óxido nítrico no ar exalado ($F_{E}NO$)

Toda a amostra foi submetida à determinação da fração de óxido nítrico no ar exalado ($F_{E}NO$) através de um equipamento *NIOX MINO*[®], da firma sueca *AEROCRINE*, antes do início e no final da semana de trabalho, utilizando a metodologia e as recomendações previamente descritas em 3.1.7.2.

3.2.1.3.3 Condensado brônquico no ar exalado (*Exhaled breath condensate* – EBC)

Foram colhidas duas amostras de EBC a toda a amostra, antes do início e no final da semana de trabalho, usando os dispositivos *Rtube*[®] descritos em 3.1.7.4. As amostras foram tratadas da mesma forma que as que tinham sido recolhidas durante o Projeto FUMEXP.

Determinaram-se os mesmos parâmetros já selecionados nesse Projeto. A metodologia analítica foi a previamente descrita no sub-capítulo 3.1.7.4.

Na Figura 31 observa-se a colheita de amostra de EBC, antes do início do trabalho.



Figura 31. Colheita de amostra de EBC antes do início do trabalho

3.2.2 Indústria de componentes plásticos

3.2.2.1 Amostra

Tal como aconteceu na empresa de calçado, após visitas às instalações fabris e reunião conjunta com os elementos da equipa de Saúde e Segurança do Trabalho, selecionaram-se os sectores com maior exposição a compostos orgânicos voláteis (COVs), sobretudo constituídos por solventes orgânicos: tampografia, colagem e respetiva manutenção de uma empresa da indústria plástica. Nestas secções e após limpeza/desengorduramento, as peças plásticas, depois de injetadas e desmoldadas, são montadas, coladas e estampadas com tintas de diversas cores. De igual modo, foram analisados os registos clínicos atualizados e efetuada história clínica detalhada. Também não foram detetadas alterações significativas no exame

clínico. Nenhum dos elementos da amostra era fumador ou se encontrava a fazer medicação para patologias respiratórias e/ou alérgicas.

A média da idade foi de 37,13±11,52 anos; a média da altura foi de 168,88±8,22 cm. No Quadro 12 apresentam-se os dados da amostra.

Quadro 12. Caracterização da amostra indústria de plásticos

Características da amostra		
<i>n</i> = 8	Idade	Altura
Média	37,13	168,88
Desvio Padrão	11,52	8,22
Percentil 25	28,5	168,0
Percentil 50 (mediana)	34,0	169,50
Percentil 75	47,8	172,75

A razão de género foi de 6 homens (75%)/2 mulheres (25%) (figura 33).

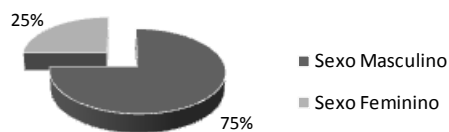


Figura 32. Razão de género da amostra da indústria de plásticos

3.2.2.2 Monitorização ocupacional da amostra

Todos os elementos da amostra foram monitorizados durante todo o dia de trabalho com os equipamentos *GasAlertMicro 5* PID já descritos em 3.1.3.1., para COV e NO₂ (Figuras 33 e 34).

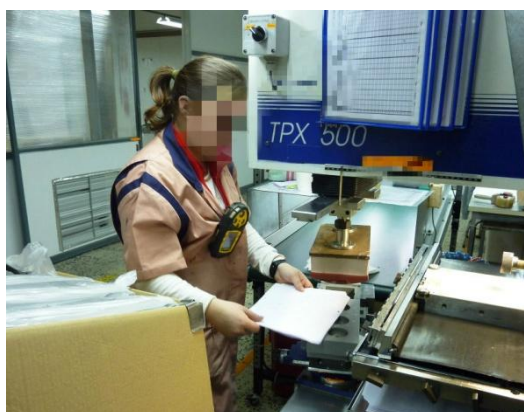


Figura 33. Monitorização no local de trabalho (a)



Figura 34. Monitorização no local de trabalho (b)

3.2.2.3 Monitorização dos potenciais efeitos da exposição ocupacional na saúde dos trabalhadores

Em toda a amostra foram determinados os parâmetros ventilatórios por espirometria, os níveis da $F_{E}NO$ e recolhidas duas amostras de EBC, antes do início e no final da semana de trabalho, tal como previamente descrito nos subcapítulos anteriores. A metodologia analítica do EBC foi a previamente descrita no subcapítulo 3.1.7.4.

3.3 AMOSTRA CONTROLO

Foram efetuadas as mesmas determinações referidas nos projetos experimentais (3.1. e 3.2.) utilizando as mesmas metodologias, numa amostra controlo de indivíduos saudáveis ($n=9$) e sem profissão de risco inalatório.

A média da idade foi de $28,33 \pm 6,86$ anos; a média da altura foi de $170,11 \pm 9,53$ cm; a média de peso foi de $65,89 \pm 14,93$ Kg (Quadro 13).

Quadro 13. Caracterização da amostra controlo

Características da amostra controlo		
$n = 9$	Idade	Altura
Média	28,33	170,11
Desvio Padrão	6,86	9,53
Percentil 25	23,0	161,0
Percentil 50 (mediana)	25,0	169,0
Percentil 75	34,0	179,5

A razão de género foi de 5 homens (56%)/4 mulheres (44%) (Figura 35).

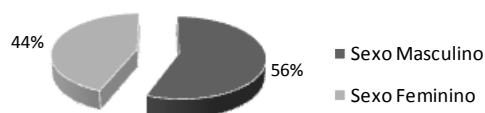


Figura 35. Razão de género da amostra controlo

3.4 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

O tratamento estatístico foi efetuado através dos *softwares IBM SPSS Statistics® versão 20* da empresa *IBM Inc.* e *GraphPad Prism® versão 5.03* da empresa *GraphPad Software Inc.*

Numa primeira fase todos os dados das amostras foram analisados em termos descritivos. Posteriormente, foi efetuada a pesquisa de diferenças e/ou de correlações entre os dados obtidos.

A escolha da realização de testes paramétricos e não paramétricos é um processo complexo e que não deve basear-se apenas num único teste de normalidade. Desta forma, a escolha do tipo de metodologia usado na análise das eventuais diferenças entre amostras e suas potenciais correlações, baseou-se na análise prévia e detalhada da distribuição dos valores das amostras. Foram analisados os histogramas/polígonos de frequências das respetivas distribuições, sua assimetria e curtose e aplicados testes de normalidade (teste Shapiro-Wilk, teste Kolmogorov-Smirnov com a variação de Lilliefors e teste d'Agostino). Os *outliers* e os extremos das amostras foram analisados e tidos em consideração. Sempre que existentes, foram assinaladas as diferenças estatisticamente significativas e a metodologia usada na sua determinação:

Para a análise das diferenças entre a amostra controlo e as amostras em estudos de exposição utilizou-se o teste U de Mann-Whitney ou o teste t de Student para a diferença entre duas médias.

Para a análise das diferenças na mesma amostra em dois tempos distintos, utilizou-se o Teste t de Student para amostras emparelhadas ou o teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas (*Wilcoxon matched-pairs signed-ranks*).

Sempre que aplicável, utilizou-se o modelo estatístico *General Linear Model* para controlar os vieses potencialmente induzidos pelas diferenças de género e/ou idade das amostras em comparação.

A associação entre duas variáveis foi estudada através dos testes de Spearman ou de Pearson.

O nível de significância estatística escolhido foi de $\alpha = 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 RESULTADOS DO PROJETO FUMEXP

4.1.1 Monitorização da qualidade do ar nos Ensaios de Campo da Gestosa

Durante os ensaios de campo “Gestosa 2008” e “Gestosa 2009” foi efetuada a monitorização da qualidade do ar através do laboratório móvel da Universidade de Aveiro.

Foram monitorizados os poluentes PM₁₀, CO e NO₂. Para se poder ter uma perceção da ordem de grandeza dos mesmos, apresentam-se no Quadro 14 os requisitos legais de qualidade do ar definidos pela legislação europeia (Diretiva n.º 2008/50/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de Maio), que foi transposta para o direito nacional no Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro (561), que fixa os objetivos para a qualidade do ar ambiente tendo em conta as normas, as orientações e os programas da Organização Mundial da Saúde, destinados a evitar, prevenir ou reduzir as emissões de poluentes atmosféricos.

Quadro 14. Requisitos legais de qualidade do ar

Poluente	
Dióxido de azoto (NO ₂)	Valor limite horário para população em exposição não ocupacional
	200 µg/m ³
Partículas em suspensão (PM ₁₀)	Valor limite - média por período de 24 horas
	50 µg/m ³
Partículas em suspensão (PM _{2,5})	Valor limite - média anual
	25 µg/m ³ (2010); 20 µg/m ³ (2015)
Monóxido de carbono	Média por períodos de oito horas
	10 mg/m ³
Ozono	Limiars de informação e alerta para o ozono
	Limiar de informação: 180 mg/m ³ ; limiar de alerta: 240 mg/m ³

A monitorização destes poluentes esteve muito dependente da direção e intensidade do vento nos dias dos ensaios de campo e da posição relativa do laboratório móvel de qualidade do ar na zona de segurança pré-estabelecida, não traduzindo na totalidade as alterações produzidas pelos fumos de incêndios florestais. Por outro lado, durante a fase de queima ativa, a formação de colunas de convecção, com elevação da pluma de fumo, não permitiu a monitorização direta ao nível do laboratório móvel; desta forma, os valores registados traduzem essencialmente o período final da queima das parcelas. Em ambos os ensaios, de 2008 e de 2009, a pluma de fumo atingiu o laboratório móvel, mas fê-lo por períodos não muito longos, não permitindo uma monitorização prolongada. No Quadro 15 apresentam-se os valores observados no que diz respeito a médias horárias. A *negrito* estão assinaladas as

excedências face aos requisitos legais (com a ressalva de que o normativo legal para as PM₁₀ se refere a períodos de 24 horas).

Quadro 15. Concentrações médias horárias nos ensaios de campo 2008 e 2009

Hora	Ensaio "Gestosa 2008"			Ensaio "Gestosa 2009"		
	CO (µg/m ³)	NO ₂ (µg/m ³)	PM ₁₀ (µg/m ³)	CO (µg/m ³)	NO ₂ (µg/m ³)	PM ₁₀ (µg/m ³)
09:00	0	104	2	0	116	9
10:00	0	92	1	87	74	6
11:00	91	86	0	41	47	0
12:00	0	77	0	73	34	0
13:00	102	60	33	454	32	8
14:00	3169	39	51	143	29	11
15:00	1227	53	289	2183	115	125
16:00	2792	n.d.	102	4049	150	770

n.d.: não disponível

No ensaio "Gestosa 2008" e no que toca a médias de 15 minutos, o valor mais elevado para o CO foi de 6417 µg/m³, para o NO₂ foi de 113 µg/m³ e para as PM₁₀ foi de 596 µg/m³. No ensaio "Gestosa 2009", o valor mais elevado para o CO foi de 5821 µg/m³, para o NO₂ foi de 229 µg/m³ e para as PM₁₀ foi de 1242 µg/m³.

4.1.2 Monitorização ocupacional individual nos Ensaios de Campo da Gestosa

A subamostra de dez bombeiros foi avaliada através dos quatro equipamentos de monitorização individual previamente descritos. Esta amostra não variou de ano para ano e o equipamento numerado que usaram foi o mesmo. Do ponto de vista descritivo, efetuou-se a seguinte nomenclatura:

- Bombeiros 1 a 10 – monitorização durante o ensaio "Gestosa 2008"
- Bombeiros 11 a 20 – monitorização durante o ensaio "Gestosa 2009"
- Bombeiros 21 a 30 – monitorização durante o ensaio "Gestosa 2010".

O sistema de posicionamento GPS permitiu verificar o percurso efetuado por cada bombeiro durante as operações. Na Figura 36 apresenta-se, a título de exemplo, o trajeto de um dos bombeiros no ensaio "Gestosa 2008".

Os dados da monitorização ambiental e individual constantes em "Resultados" constam, entre outros, do Relatório Final do Projeto FUMEXP, apresentado ao painel de avaliação da FCT.

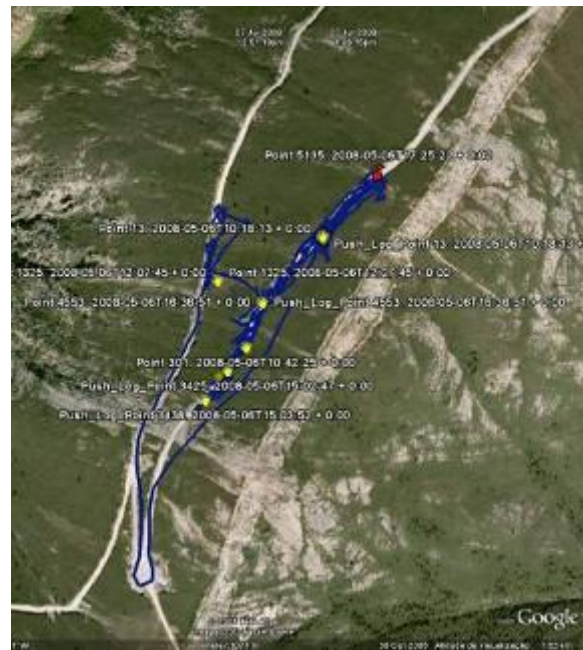


Figura 36. Trajeto do bombeiro 9 durante o ensaio de campo “Gestosa 2008”

Na Figura 37 apresentam-se os principais dados monitorizados, em médias de um minuto por bombeiro, durante os ensaios de 2008 e de 2009.

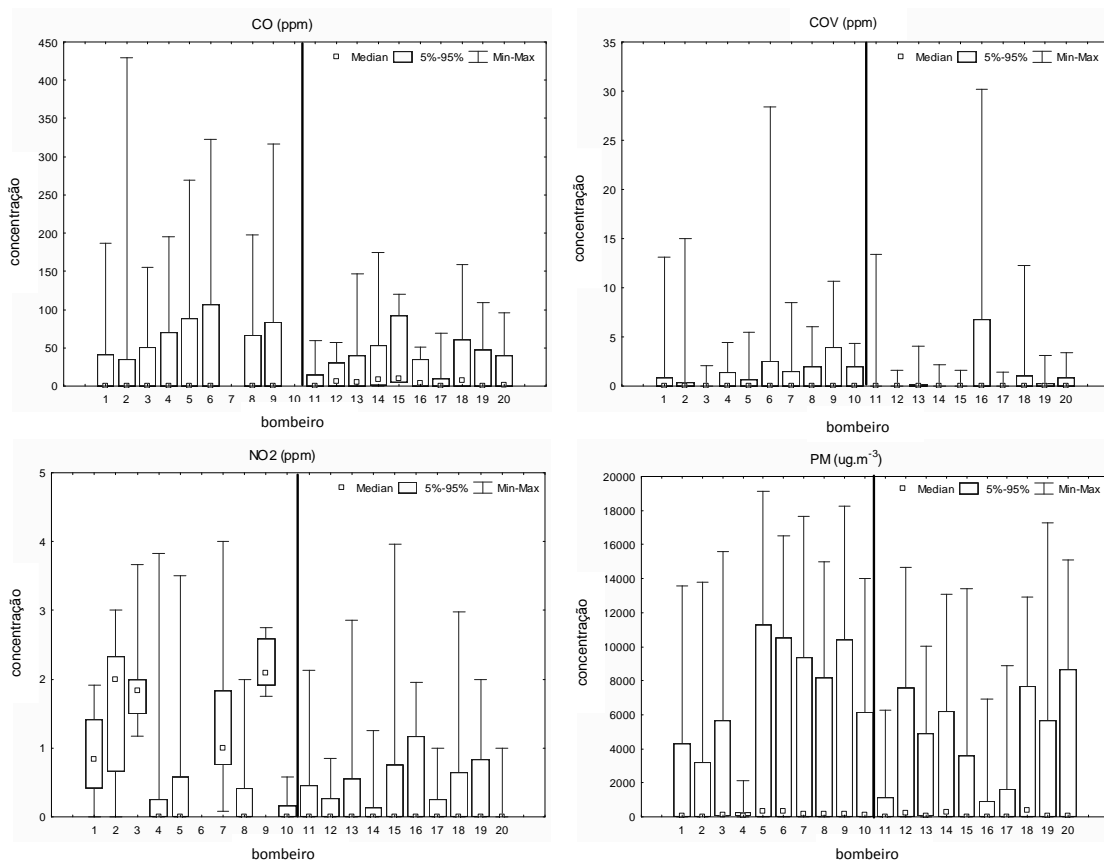


Figura 37. Monitorização individual – médias de 1 minuto para CO, COV, NO₂ e PM_{2,5}

RESULTADOS

Nos Quadros 16 a 18 apresentam-se os dados quantitativos das monitorizações individuais nos ensaios de campo da Gestosa que decorreram no triénio 2008-2010, em termos de médias ocupacionais ponderadas.

Quadro 16. Resultados da monitorização individual no ensaio de campo “Gestosa 2008”

Ensaio "Gestosa 2008"					
Bombeiro	Parâmetro	CO (ppm)	NO ₂ (ppm)	COV (ppm)	PM _{2,5} (µg/m ³)
1	Média ponderada	7,60	0,9	0,19	773,40
	Valor de pico	493,30	3,00	88,00	13593,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	1	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Não	n.a.	n.a.
2	Média ponderada	9,60	1,9	0,28	551,00
	Valor de pico	486,60	9,00	35,00	13768,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	9	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Não	n.a.	n.a.
3	Média ponderada	10,70	1,80	0,03	917,10
	Valor de pico	198,80	8,00	4,00	15590,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Não	n.a.	n.a.
4	Média ponderada	13,10	0,10	0,16	1439,60
	Valor de pico	386,60	33,00	11,00	19953,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	1	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Não	n.a.	n.a.
5	Média ponderada	14,80	0,10	0,12	2196,40
	Valor de pico	499,80	22,00	12,00	19134,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	2	1	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Não	n.a.	n.a.
6	Média ponderada	19,80	n.d.	0,47	2187,50
	Valor de pico	454,40	n.d.	63,00	16516,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	6	n.d.	n.a.	n.a.
	Ultrapassagens ao VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
7	Média ponderada	n.d.	1,10	0,22	2052,80
	Valor de pico	n.d.	10,00	23,00	17635,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	n.d.	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	n.d.	Não	n.a.	n.a.
8	Média ponderada	11,80	0,10	0,19	1435,40
	Valor de pico	376,70	4,00	15,00	14969,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Não	n.a.	n.a.
9	Média ponderada	13,70	2,20	0,69	1829,30
	Valor de pico	421,00	5,00	20,00	18286,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	2	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Não	n.a.	n.a.
10	Média ponderada	n.d.	0,02	0,25	618,50
	Valor de pico	n.d.	4,00	15,00	13989,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	n.d.	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagens ao VLE-CD	n.d.	Não	n.a.	n.a.

VLE-CM: valor limite de exposição-concentração máxima.
n.a.: não aplicável; n.d.: não disponível

Quadro 17. Resultados da monitorização individual no ensaio de campo "Gestosa 2009"

Ensaio "Gestosa 2009"					
Bombeiro	Parâmetro	CO (ppm)	NO ₂ (ppm)	COV (ppm)	PM _{2,5} (µg/m ³)
11	Média ponderada	2,60	0,06	0,00	131,90
	Valor de pico	112,00	16,80	68,00	6257,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Não	Não	n.a.	n.a.
12	Média ponderada	6,80	0,03	0,03	1201,60
	Valor de pico	248,00	2,60	7,00	14663,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Não	n.a.	n.a.
13	Média ponderada	5,80	0,05	0,03	371,50
	Valor de pico	422,00	5,90	29,00	10049,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	1	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Não	n.a.	n.a.
14	Média ponderada	12,50	0,02	0,02	943,70
	Valor de pico	295,00	5,00	15,00	13055,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Não	n.a.	n.a.
15	Média ponderada	19,30	0,11	0,03	456,40
	Valor de pico	287,00	9,70	9,00	13390,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Não	Não	n.a.	n.a.
16	Média ponderada	5,70	0,12	0,86	120,10
	Valor de pico	323,00	5,10	76,00	6934,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Não	Não	n.a.	n.a.
17	Média ponderada	1,30	0,03	0,01	198,00
	Valor de pico	155,00	5,70	5,00	8896,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Não	Não	n.a.	n.a.
18	Média ponderada	12,70	0,09	0,17	1188,30
	Valor de pico	614,00	12,00	59,00	12929,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	1	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Não	n.a.	n.a.
19	Média ponderada	6,10	0,09	0,04	528,90
	Valor de pico	236,00	3,70	12,00	17290,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Não	n.a.	n.a.
20	Média ponderada	4,10	0,09	0,06	1072,90
	Valor de pico	286,00	8,50	6,00	15071,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Não	n.a.	n.a.

VLE-CM: valor limite de exposição-concentração máxima.
n.a.: não aplicável; n.d.: não disponível

Quadro 18. Resultados da monitorização individual no ensaio de campo “Gestosa 2010”

Ensaio "Gestosa 2010"					
Bombeiro	Parâmetro	CO (ppm)	NO ₂ (ppm)	COV (ppm)	PM _{2,5} (µg/m ³)
21	Valor de pico	1000,00	5,40	48,00	20000,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	21	0	n.a.	n.a.
22	Valor de pico	1000,00	4,20	23,00	20000,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	19	0	n.a.	n.a.
23	Valor de pico	989,00	0,80	25,00	20000,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	6	0	n.a.	n.a.
24	Valor de pico	n.d.	n.d.	28,00	20000,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
25	Valor de pico	928,00	4,40	35,00	20000,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	14	0	n.a.	n.a.
26	Valor de pico	560,00	2,20	13,00	20000,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	3	0	n.a.	n.a.
27	Valor de pico	256,00	0,70	2,00	20000,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
28	Valor de pico	198,00	0,60	2,00	20000,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
29	Valor de pico	n.d.	2,90	20,00	20000,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM		0	n.a.	n.a.
30	Valor de pico	878,00	2,00	21,00	20000,00
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	7	0	n.a.	n.a.

VLE-CM: valor limite de exposição-concentração máxima.
n.a.: não aplicável; n.d.: não disponível

Para a compreensão destes quadros torna-se importante conhecer o enquadramento legal atual, no que toca à exposição ocupacional em Portugal e que se baseia sobretudo em três documentos: a Norma Portuguesa NP 1796 de 2007 (562), o Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro (561) e o Decreto-Lei n.º 24/2012, de 6 de Fevereiro (563). Os Valores Limite de Exposição (VLE) constantes da Norma Portuguesa foram essencialmente baseados nos *Threshold Limit Values* da *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH) (564).

Assim:

- Valores Limite de Exposição (VLE): Concentração de agentes químicos à qual se considera que praticamente todos os trabalhadores possam estar expostos, dia após dia, sem efeitos adversos para a saúde.
- Valor Limite de Exposição – Média Ponderada (VLE-MP): Concentração média ponderada para um dia de trabalho de 8 horas e uma semana de 40 horas, à qual se considera que praticamente todos os trabalhadores possam estar expostos, dia após dia, sem efeitos adversos para a saúde. Corresponde ao *Threshold Limit Value - Time-Weighted Average (TLV-TWA)* da ACGIH.

- Valor Limite de Exposição - Curta Duração (VLE-CD): Concentração à qual se considera que praticamente todos os trabalhadores possam estar repetidamente expostos por curtos períodos de tempo, desde que o valor de VLE-MP não seja excedido e sem que ocorram efeitos adversos, tais como: irritação, lesões crónicas ou irreversíveis dos tecidos e narcose (que é suscetível de aumentar a probabilidade de ocorrência de lesões acidentais, comprometer o nível de consciência vígil ou reduzir a capacidade de trabalho). Corresponde ao *Threshold Limit Value – Short Term Exposure Limit (TLV-STEL)* da ACGIH, equivalendo nesta instituição à concentração à qual se acredita que os trabalhadores podem estar expostos continuamente por um curto período de tempo sem sofrer irritação, danos tissulares crónicos ou irreversíveis, efeitos tóxicos dose-dependentes ou narcose de grau suficiente para aumentar a probabilidade de lesões acidentais, prejudicar o auto-salvamento ou reduzir materialmente a eficiência do trabalho. As exposições superiores ao VLE-MP e inferiores ao VLE-CD não devem exceder os 15 minutos, não devem ocorrer mais de quatro vezes por dia e deve haver pelo menos 60 minutos entre exposições sucessivas deste tipo.
- Valor Limite de Exposição - Concentração Máxima (VLE-CM): Concentração que nunca deve ser excedida. Corresponde ao *Threshold Limit Value – Ceiling (TLV-C)* da ACGIH.

Existe ainda um outro valor, emanado pelo *National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)*, que é a Concentração Imediatamente Perigosa para a Vida ou Saúde (CIPVS): concentração atmosférica de qualquer tóxico, corrosivo ou asfixiante que coloque um risco imediato de morte ou que possa resultar em efeitos adversos ou irreversíveis para a saúde ou ainda que possa interferir na capacidade individual para escapar de um espaço confinado (565).

O Quadro 19 apresenta os valores constantes na Norma Portuguesa e em algumas recomendações internacionais.

Quadro 19. Recomendações para limites de exposição ocupacional

Poluente	VLE - MP (Referência)	VLE - CD (Referência)	VLE - CM (Referência)	CIPVS (Referência)
CO	25 ppm (NP 1796:2007)	200 ppm (ASCC)	400 ppm (ASCC)	1200 ppm (NIOSH)
NO ₂	3 ppm (NP 1796:2007)	5 ppm (NP 1796:2007)	20 ppm (NIOSH)	20 ppm (NIOSH)
Partículas respiráveis	3 mg/m ³ (NP 1796:2007)	n.d.	n.d.	n.d.
COVs totais	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Legenda: ASCC: *Australian Safety and Compensation Council* (566). NIOSH: *National Institute for Occupational Safety and Health*. VLE-MP: Valor Limite de Exposição – Média Ponderada (VLE-MP). VLE-CD: Valor Limite de Exposição - Curta Duração. CIPVS: Concentração Imediatamente Perigosa para a Vida ou Saúde.

Durante os ensaios “Gestosa 2008” e “Gestosa 2009” foram determinadas as médias ponderadas de oito horas e de quinze minutos de exposição, bem como os valores de excedência ao limite de exposição de curta duração, que se apresentaram nos Quadros 16 a 18. No ensaio “Gestosa 2010” e por questões técnicas e de segurança, os valores registados foram apenas os de pico.

No ensaio “Gestosa 2008”, devido a problemas pontuais com alguns sensores, não foram registados os valores de exposição ao CO dos bombeiros 7 e 10 e da exposição ao NO₂ do bombeiro 6.

Durante o ensaio “Gestosa 2008”, o valor de VLE-CM para CO foi ultrapassado em cinco dos dez bombeiros monitorizados, sendo o valor mais elevado de 499,8 ppm, muito próximo do valor máximo de deteção do equipamento (500 ppm). No ensaio “Gestosa 2009” alterou-se o sensor de CO usado no equipamento, o que permitiu a determinação de valores até 1000 ppm, atingindo-se valores máximos de 614 ppm. No ano de 2008 todos os bombeiros excederam o VLE-CD, o mesmo acontecendo em cinco situações em 2009. No ensaio de 2010, registaram-se duas ocorrências com valores máximos de CO de 1000 ppm. Quanto ao NO₂, foram observados dois valores superiores ao VLE-CD, no ensaio de 2008 (máximo de 33 ppm).

No que diz respeito aos valores de COVs totais, não existe legislação específica que defina valores limite ou médias ponderadas, tendo sido atingido o valor máximo de 88 ppm. O mesmo acontece para a matéria particulada (PM_{2,5}) proveniente de fogos florestais; o valor máximo atingido por diversas vezes (sobretudo em 2010) foi o do próprio limite máximo de deteção do equipamento (20 mg/m³). A média ponderada mais elevada que foi atingida foi de 2196 µg/m³ no ano de 2008.

A título ilustrativo, apresentam-se na Figura 38 os valores monitorizados em contínuo para PM_{2,5}, COV, NO₂ e CO, do bombeiro 1.

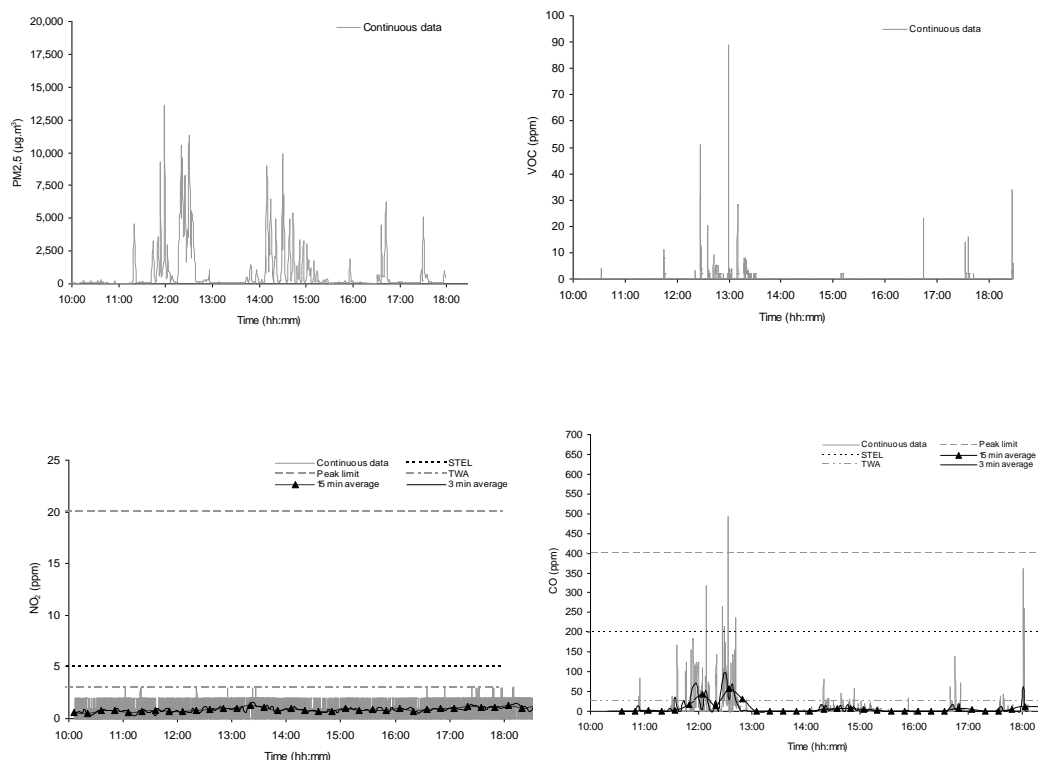


Figura 38. Dados de monitorização em contínuo do bombeiro 1 – Ensaio “Gestosa 2008”

Os picos distintos correspondem à queima intervalada das várias parcelas descritas em 3.1.5.

Note-se que neste tipo de atividade ocupacional, a monitorização através de médias ponderadas ocupacionais (para oito horas diárias de trabalho e cinco dias semanais) pode não ser tão adequada como acontece na maior parte das profissões, devido à grande variabilidade das concentrações dos agentes agressores em intervalos de tempo pouco prolongados. Com efeito, difícil é aceitar a suposição que um bombeiro esteja sempre exposto a fumo de incêndios florestais durante uma semana “normal” de trabalho, de forma regular e homogénea. Nestas situações e para melhor valorizar a quantificação das exposições, as médias horárias poderão fornecer valores úteis.

Assim, no Quadro 20, apresentam-se as médias mais elevadas (horárias ou de 24 horas no caso das $PM_{2,5}$) registadas pelos monitores dos bombeiros nos ensaios de 2008 e de 2009.

Quadro 20. Médias horárias mais elevadas (CO, NO₂ e COV) e médias de 24 h para PM_{2,5}

Ensaio "Gestosa 2008"					Ensaio "Gestosa 2009"				
Bombeiro	CO	NO ₂	COV	PM _{2,5}	Bombeiro	CO	NO ₂	COV	PM _{2,5}
	(µg/m ³)			(µg/m ³ /dia)		(µg/m ³)			(µg/m ³ /dia)
1	32479	2163	1585	260	11	12586	344	54	44
2	73033	4172	3934	184	12	22814	332	526	400
3	47223	3641	415	306	13	32222	485	496	124
4	50881	274	1789	240	14	3909	142	343	315
5	33178	709	599	738	15	36199	884	337	152
6	49078	n.d.	2917	735	16	30669	1544	10342	40
7	n.d.	2599	1838	684	17	4903	132	62	66
8	35847	609	152	479	18	41938	788	1377	396
9	48259	4571	5302	610	19	42023	802	376	176
10	n.d.	82	2097	206	20	17899	1091	1076	358

Um número considerável de valores ultrapassou as recomendações internacionais referentes à qualidade do ar respirável (assinalados a *negrito*), para todos os bombeiros monitorizados: 738 µg/m³ para PM_{2,5} (parâmetro de qualidade do ar: 25 µg/m³); 73033 µg/m³ para CO (parâmetro de qualidade do ar: 30000 µg/m³); 4571 µg/m³ para NO₂ (parâmetro de qualidade do ar: 200 µg/m³); 10342 µg/m³ para COVs totais (parâmetro de qualidade do ar não definido atualmente).

Também os valores instantâneos de concentração obtidos nos vários ensaios de campo para CO e PM_{2,5} (sobretudo durante os ensaios realizados em 2008) foram muito elevados: 600000 µg/m³ para o CO e 19953 µg/m³ para as PM_{2,5}, revelando a intensidade de exposição potencial dos bombeiros em operações de combate de fogos florestais.

Como se pode observar no quadro 21, observaram-se correlações entre os valores de médias ponderadas de CO e de PM_{2,5} monitorizados (rho=0,496. p=0,026; teste de Spearman).

Quadro 21. Correlação entre os valores de monitorização individual nos ensaios de campo

Coeficientes de correlação(rho) nos ensaios de campo			
	COV	NO2	PM _{2,5}
CO	0,151	0,147	0,496*
COV		0,393	0,083
NO2			0,350

*p<0,05

4.1.3 Resultados da monitorização durante fogos reais

Durante o triénio 2008-2010 e sempre que algum dos 10 bombeiros monitorizados participou em atividades de combate a incêndio florestal, foi preenchida uma ficha de ocorrência e cruzados os dados com o posicionamento GPS e com a informação produzida no relatório das Corporações e/ou relatórios da Autoridade Florestal Nacional.

No Quadro 22 apresentam-se estas ocorrências. As áreas florestais foram sobretudo constituídas por resinosas (*Pinus pinaster*, *Pinus pinea*), caducas (*Quercus spp.*, *Castanea sativa*), eucaliptos (*Eucalyptus spp.*) e arbustos (*Erica umbellata*, *Erica australis*, *Chamaespartium tridentatum*).

Na Figura 39 apresenta-se o aspeto de alguns registos de posicionamento GPS de vários bombeiros durante combate a incêndios florestais.



Figura 39. Exemplo de registos de posicionamento GPS durante atividades de combate a incêndios florestais

RESULTADOS

Quadro 22. Fogos florestais 2008-2010, envolvendo bombeiros monitorizados

Bombeiro	Data	Exposição do bombeiro			Localização (Distrito)	Área queimada (ha)	
		Ínicio	Fim	Duração		Floresta	Arbustos
Fogos Florestais 2008							
3	01-08-2008	00:42	01:15	00:33	Coimbra	1,5	1,5
4	16-07-2008	17:35	22:12	04:37	Coimbra	0	0,08
	02-08-2008	15:49	17:51	02:02	Coimbra	0	0,2
5	17-08-2008	12:54	13:53	00:59	Coimbra	0,5	0
	04-10-2008	14:59	17:37	02:38	Coimbra	0	0,02
6	30-07-2008	17:49	20:32	02:43	Coimbra	80	0
	19-08-2008	17:08	17:57	00:49	Coimbra	0	0,02
	23-08-2008	17:15	17:32	00:17	Coimbra	0	0,02
7	31-07-2008	20:32	21:50	01:18	Coimbra	0,1	0
	01-09-2008	15:07	15:22	00:15	Coimbra	0	0,01
9	18-07-2008	16:13	19:22	03:09	Aveiro	1	0
Fogos Florestais 2009							
11	05-08-2009	08:59	10:12	01:13	Leiria	n.d.	n.d.
14	28-07-2009	15:43	17:13	01:30	Coimbra	0,2	0
	01-09-2009	21:33	01:41	04:08	Coimbra	0	n.d.
	05-09-2009	12:20	18:51	06:31	Coimbra	0,6	0
15	15-07-2009	15:26	16:38	01:12	Coimbra	n.d.	n.d.
	17-09-2009	10:23	10:45	00:22	Coimbra	n.d.	n.d.
17	08-09-2009	15:45	17:13	01:28	Coimbra	0,5	n.d.
	12-09-2009	17:32	18:13	00:41	Coimbra	0	0,015
	20-09-2009	10:55	11:25	00:30	Coimbra	n.d.	n.d.
18	13-08-2009	16:09	16:35	00:26	Aveiro	0	0,03
	15-08-2009	17:10	17:44	00:34	Aveiro	n.d.	n.d.
	27-09-2009	14:47	15:06	00:19	Aveiro	0	0,015
	30-09-2009	06:58	10:51	03:53	Aveiro	0	0,5
Fogos Florestais 2010							
23	22-07-2010	16:55	18:02	01:07	Coimbra	n.d.	n.d.
	26-07-2010	13:00	00:00	11	Coimbra	n.d.	n.d.
	27-07-2010	16:30	00:00	07:30	Coimbra	n.d.	n.d.
	05-08-2010	17.20	19:40	01:40	Coimbra	n.d.	n.d.
	10-08-2010	n.d.	n.d.	n.d.	Coimbra	n.d.	n.d.
	11-08-2010	17:34	20:35	03:01	Coimbra	n.d.	n.d.
	30-08-2010	13:40	14:55	01:15	Coimbra	n.d.	n.d.
	30-08-2010	16:37	20:25	03:48	Coimbra	n.d.	n.d.
	03-10-2010	03:49	09:00	05:10	Coimbra	n.d.	n.d.
	03-10-2010	11:12	12:05	00:53	Coimbra	n.d.	n.d.
24	24-07-2010	16:47	20:00	03:13	Coimbra	n.d.	n.d.
	26-07-2010	17:25	23:15	05:50	Coimbra	n.d.	n.d.
	27-07-2010	16:30	23:59	07:30	Coimbra	n.d.	n.d.
	11-08-2010	17:34	20:35	03:01	Coimbra	n.d.	n.d.
25	26-07-2010	18:42	20:42	02:00	Coimbra	5	n.d.
26	28-07-2010	12:48	15:48	03:00	Coimbra	n.d.	n.d.

ha: hectare.; n.d.: não disponível

Nos Quadros 23 a 26 apresentam-se os parâmetros referentes à monitorização individual dos bombeiros expostos em incêndios reais durante o triénio 2008-2010, em termos de médias ponderadas ocupacionais.

Quadro 23. Resultados da monitorização individual nos fogos florestais de 2008

Fogos Florestais 2008						
Bombeiro	Data	Parâmetro	CO (ppm)	NO ₂ (ppm)	COV (ppm)	PM _{2,5} (mg/m ³)
3	01-08-2008	Média ponderada	5,8	1,9	2,3	0,5
		Valor de pico	143	3	5	6,9
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.
4	16-07-2008	Média ponderada	11,6	0,05	1,2	2,1
		Valor de pico	544	4	25	19,7
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	3	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Não	Sim	n.a.	n.a.
	02-08-2008	Média ponderada	22,8	0,17	0,9	n.d.
		Valor de pico	684	6	21	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	6	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Não	Sim	n.a.	n.a.
5	17-08-2008	Média ponderada	12,6	1	0,8	0,9
		Valor de pico	367	3	34	11,3
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Não	Sim	n.a.	n.a.
	04-10-2008	Média ponderada	30,5	0,7	1,2	n.d.
		Valor de pico	422	5	20	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	2	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Não	Sim	n.a.	n.a.
6	30-07-2008	Média ponderada	8,1	n.d.	n.d.	0,6
		Valor de pico	155	n.d.	n.d.	7,5
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
	19-08-2008	Média ponderada	53,4	n.d.	0,8	1,9
		Valor de pico	410	n.d.	12	6,7
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	1	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Não	n.d.	n.a.	n.a.
	23-08-2008	Média ponderada	1,8	n.d.	n.d.	0,09
		Valor de pico	93	n.d.	n.d.	2,6
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
7	31-07-2008	Média ponderada	2,8	1,1	0,04	0,2
		Valor de pico	128	5	5	4,2
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.
	01-09-2008	Média ponderada	8,8	n.d.	n.d.	0,7
		Valor de pico	78	n.d.	n.d.	3,5
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
9	18-07-2008	Média ponderada	n.d.	2,5	0,2	1,2
		Valor de pico	n.d.	7	11	11,1
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM		0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	n.d.	Sim	n.a.	n.a.

n.a.: não aplicável; n.d.: não disponível

Quadro 24. Resultados da monitorização individual nos fogos florestais de 2009

Fogos Florestais 2009						
Bombeiro	Data	Parâmetro	CO (ppm)	NO ₂ (ppm)	COV (ppm)	PM _{2,5} (mg/m ³)
11	05-08-2009	Média ponderada	12,6	n.d.	n.d.	n.d.
		Valor de pico	170	n.d.	n.d.	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
14	28-07-2009	Média ponderada	7,9	0,1	0,2	1,4
		Valor de pico	413	0,9	42	11,8
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	1	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.
	01-09-2009	Média ponderada	3,1	0,1	n.d.	0,1
		Valor de pico	89	3,7	n.d.	0,7
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.
	05-09-2009	Média ponderada	4,6	0,4	n.d.	n.d.
		Valor de pico	64	7	n.d.	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.
15	15-07-2009	Média ponderada	8,4	0,06	n.d.	0,9
		Valor de pico	179	1,8	n.d.	7,5
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.
	17-09-2009	Média ponderada	1,4	0,1	n.d.	0,06
		Valor de pico	72	2,8	n.d.	0,8
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.
17	08-09-2009	Média ponderada	23,9	1,1	1,4	n.d.
		Valor de pico	597	9	14	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	7	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Não	Sim	n.a.	n.a.
	12-09-2009	Média ponderada	2,8	n.d.	n.d.	0,3
		Valor de pico	62	n.d.	n.d.	3,7
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
	20-09-2009	Média ponderada	5,1	n.d.	n.d.	n.d.
		Valor de pico	893	n.d.	n.d.	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	1	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
18	13-08-2009	Média ponderada	23,8	n.d.	n.d.	n.d.
		Valor de pico	405	n.d.	n.d.	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	1	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Não	n.d.	n.a.	n.a.
	15-08-2009	Média ponderada	13,7	n.d.	n.d.	n.d.
		Valor de pico	182	n.d.	n.d.	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
	27-09-2009	Média ponderada	7,4	n.d.	n.d.	n.d.
		Valor de pico	182	n.d.	n.d.	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
	30-09-2009	Média ponderada	4,3	n.d.	n.d.	n.d.
		Valor de pico	201	n.d.	n.d.	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.

n.a.: não aplicável; n.d.: não disponível

Quadro 25. Resultados da monitorização individual nos fogos florestais de 2010 (1ª parte)

Fogos Florestais 2010						
Bombeiro	Data	Parâmetro	CO (ppm)	NO ₂ (ppm)	COV (ppm)	PM _{2,5} (mg/m ³)
22	07-08-2010	Média ponderada	25	0,01	1,1	n.d.
		Valor de pico	253	2,5	6	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.
23	26-07-2010	Média ponderada	34	0,03	1,7	n.d.
		Valor de pico	817	1,8	12	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	15	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Não	Sim	n.a.	n.a.
	27-07-2010	Média ponderada	11	n.d.	n.d.	n.d.
		Valor de pico	1000	n.d.	n.d.	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	10	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
	04-08-2010	Média ponderada	17	n.d.	n.d.	n.d.
		Valor de pico	704	n.d.	n.d.	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	1	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
	05-08-2010	Média ponderada	23	0,01	0,15	n.d.
		Valor de pico	708	2,9	4	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	8	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Não	Sim	n.a.	n.a.
	09-08-2010	Média ponderada	19	n.d.	n.d.	n.d.
		Valor de pico	241	n.d.	n.d.	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
	10-08-2010	Média ponderada	38	1,1	2,1	n.d.
		Valor de pico	671	2,3	6	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	4	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Não	Sim	n.a.	n.a.
11-08-2010	Média ponderada	17	0,05	0,2	n.d.	
	Valor de pico	283	1,6	8	n.d.	
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.	
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.	
30-08-2010	Média ponderada	13	0,01	1,8	n.d.	
	Valor de pico	276	1,5	15	n.d.	
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.	
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.	
03-10-2010	Média ponderada	23	n.d.	n.d.	n.d.	
	Valor de pico	1000	n.d.	n.d.	n.d.	
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	16	n.d.	n.a.	n.a.	
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.	
24	24-07-2010	Média ponderada	11	n.d.	n.d.	n.d.
		Valor de pico	108	n.d.	n.d.	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
	26-07-2010	Média ponderada	11	n.d.	n.d.	n.d.
		Valor de pico	991	n.d.	n.d.	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	7	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.
	28-07-2010	Média ponderada	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.
		Valor de pico	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	n.a.	n.d.	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	n.a.	n.d.	n.a.	n.a.
	07-08-2010	Média ponderada	24	0,1	0,2	n.d.
		Valor de pico	173	0,9	40	n.d.
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.
11-08-2010	Média ponderada	5	n.d.	n.d.	n.d.	
	Valor de pico	153	n.d.	n.d.	n.d.	
	N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.	
	Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.	

n.a.: não aplicável; n.d.: não disponível

RESULTADOS

Quadro 26. Resultados da monitorização individual nos fogos florestais de 2010 (2ª parte)

Fogos Florestais 2010							
Bombeiro	Data	Parâmetro	CO (ppm)	NO ₂ (ppm)	COV (ppm)	PM _{2,5} (mg/m ³)	
25	26-07-2010	Média ponderada	1	0,04	0,16	n.d.	
		Valor de pico	30	2	2	n.d.	
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.	
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.	
	17-09-2010	Média ponderada	18	0,24	1,1	n.d.	
		Valor de pico	214	5	5	n.d.	
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.	
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.	
	28-07-2010	Média ponderada	n.d.	0,3	2,8	n.d.	
		Valor de pico	n.d.	77,1	7	n.d.	
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	6	n.a.	n.a.	
		Ultrapassagem do VLE-CD	n.d.	Sim	n.a.	n.a.	
28	27-07-2010	Média ponderada	21	n.d.	n.d.	n.d.	
		Valor de pico	294	n.d.	n.d.	n.d.	
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.	
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.	
	28-07-2010	Média ponderada	11	n.d.	n.d.	n.d.	
		Valor de pico	174	n.d.	n.d.	n.d.	
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.	
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.	
	29-07-2010	Média ponderada	11	n.d.	n.d.	n.d.	
		Valor de pico	1000	n.d.	n.d.	n.d.	
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	6	n.d.	n.a.	n.a.	
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.	
	03-08-2010	Média ponderada	21	n.d.	n.d.	n.d.	
		Valor de pico	599	n.d.	n.d.	n.d.	
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	6	n.d.	n.a.	n.a.	
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.	
	04-08-2010	Média ponderada	15	n.d.	n.d.	n.d.	
		Valor de pico	341	n.d.	n.d.	n.d.	
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.	
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.	
	29	25-05-2010	Média ponderada	29	n.d.	n.d.	n.d.
			Valor de pico	1000	n.d.	n.d.	n.d.
			N.º ultrapassagens ao VLE-CM	11	n.d.	n.a.	n.a.
			Ultrapassagem do VLE-CD	Não	n.d.	n.a.	n.a.
31-05-2010		Média ponderada	17	n.d.	n.d.	n.d.	
		Valor de pico	446	n.d.	n.d.	n.d.	
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	1	n.d.	n.a.	n.a.	
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.	
07-06-2010		Média ponderada	7	n.d.	n.d.	n.d.	
		Valor de pico	111	n.d.	n.d.	n.d.	
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.	
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.	
10-06-2010		Média ponderada	16	n.d.	n.d.	n.d.	
		Valor de pico	443	n.d.	n.d.	n.d.	
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	3	n.d.	n.a.	n.a.	
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.	
30		19-07-2010	Média ponderada	16	0,3	0,5	n.d.
			Valor de pico	578	0,9	5	n.d.
			N.º ultrapassagens ao VLE-CM	2	0	n.a.	n.a.
			Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.
		21-07-2010	Média ponderada	19	0,01	0,6	n.d.
			Valor de pico	360	5,1	64	n.d.
			N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	0	n.a.	n.a.
			Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	Sim	n.a.	n.a.
	26-07-2010	Média ponderada	9	n.d.	0,1	n.d.	
		Valor de pico	364	n.d.	25	n.d.	
		N.º ultrapassagens ao VLE-CM	0	n.d.	n.a.	n.a.	
		Ultrapassagem do VLE-CD	Sim	n.d.	n.a.	n.a.	

n.a.: não aplicável; n.d.: não disponível

Dos dados apresentados, quanto à monitorização do CO, verifica-se que foram excedidos várias vezes o VLE-MP e o VLE-CD. Em 33% dos eventos o VLE-CM também foi ultrapassado. Quanto às PM_{2,5}, os valores de pico mais elevados foram de 19,7 mg/m³. A média ponderada mais elevada foi de 2,1 mg/m³. Os valores de NO₂ monitorizados não ultrapassaram os valores limite estabelecidos pelas normas. Os valores de COV mais elevados foram de 42 ppm.

Nos incêndios de 2010, os bombeiros 23, 28 e 29 atingiram por diversas vezes os mais altos valores que o equipamento detetor de CO permitia monitorizar (1000 ppm).

A título ilustrativo, apresentam-se na Figura 40 os valores monitorizados em contínuo para PM_{2,5}, COV, NO₂ e CO de um bombeiro, durante um incêndio florestal.

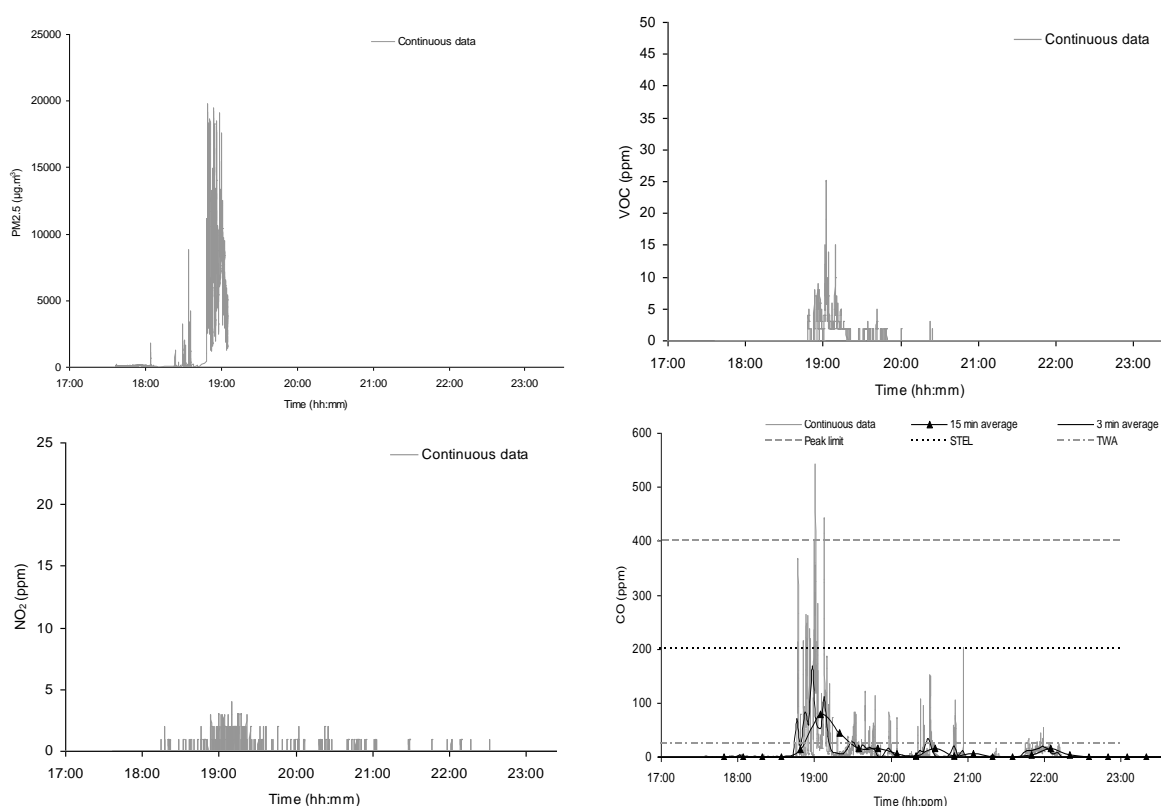


Figura 40. Dados de monitorização em contínuo do bombeiro 4 num incêndio florestal

Em ocasiões pontuais não foi possível a monitorização de todos os parâmetros, por falhas do equipamento, das suas baterias ou por manuseamento incorreto ou acidental do mesmo.

Como já explicado anteriormente, e atendendo a que as médias ponderadas ocupacionais para 40 horas semanais podem não refletir a heterogeneidade da exposição horária, apresentam-se nos Quadros 27, 28 e 29 as médias mais elevadas (horárias ou de 24 horas no caso das PM_{2,5})

RESULTADOS

registadas pelos monitores dos bombeiros em fogos florestais, estando assinaladas a *negrito* as excedências relativamente aos parâmetros normativos de qualidade do ar.

Quadro 27. Médias horárias mais elevadas (CO, NO₂ e COV) e médias de 24 h para PM_{2,5} nos fogos de 2008

Bombeiro	Data	CO	NO ₂	COV	PM _{2,5}
		(µg/m ³ /h)			(µg/m ³ /dia)
Fogos Florestais 2008					
3	01-08-2008	3038	3807	5929	42
4	16-07-2008	35905	494	3425	405
	02-08-2008	50008	202	648	n.d.
5	17-08-2008	13669	2078	356	118
	04-10-2008	73978	1737	3513	n.d.
6	30-07-2008	8970	n.d.	n.d.	94
	19-08-2008	50830	n.d.	1173	83
	23-08-2008	691	n.d.	n.d.	11
7	31-07-2008	3977	2223	72	28
	01-09-2008	5499	n.d.	n.d.	29
9	18-07-2008	n.d.	5235	476	193
10	12-07-2008	2617	2913	n.d.	n.d.

n.d.: não disponível

Quadro 28. Médias horárias mais elevadas (CO, NO₂ e COV) e médias de 24 h para PM_{2,5} nos fogos de 2009

Bombeiro	Data	CO	NO ₂	COV	PM _{2,5}
		(µg/m ³ /h)			(µg/m ³ /dia)
Fogos Florestais 2009					
11	05-08-2009	13656	n.d.	n.d.	n.d.
14	28-07-2009	11125	82	575	151
	01-09-2009	n.d.	127	n.d.	15
	05-09-2009	6455	159	14	n.d.
15	15-07-2009	11953	106	n.d.	78
	17-09-2009	1620	66	n.d.	3
17	11-08-2009	14801	1589	n.d.	n.d.
	08-09-2009	36549	2148	815	n.d.
	12-09-2009	2271	n.d.	n.d.	29
	20-09-2009	4744	n.d.	n.d.	n.d.
18	13-08-2009	27748	n.d.	n.d.	n.d.
	15-08-2009	15901	n.d.	n.d.	n.d.
	27-09-2009	3304	n.d.	n.d.	n.d.
	30-09-2009	9871	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.: não disponível

Quadro 29. Médias horárias mais elevadas (CO, NO₂ e COV) e médias de 24 h para PM_{2,5} nos fogos de 2010

Bombeiro	Data	CO	NO ₂	COV	PM _{2,5}
		(µg/m ³ /h)			(µg/m ³ /dia)
Fogos Florestais 2010					
22	08-07-2010	52230	28	3103	n.d.
23	26-07-2010	97040	64	5740	n.d.
	27-07-2010	24096	n.d.	n.d.	n.d.
	04-08-2010	35838	n.d.	n.d.	n.d.
	05-08-2010	61893	n.d.	n.d.	n.d.
	09-08-2010	22903	n.d.	n.d.	n.d.
	10-08-2010	44787	n.d.	n.d.	n.d.
	11-08-2010	37147	n.d.	n.d.	n.d.
	30-08-2010	26527	n.d.	n.d.	n.d.
	03-10-2010	78887	n.d.	n.d.	n.d.
24	24-07-2010	10965	n.d.	n.d.	n.d.
	26-07-2010	36635	n.d.	n.d.	n.d.
	28-07-2010	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	07-08-2010	28567	n.d.	n.d.	n.d.
	11-08-2010	7440	n.d.	n.d.	n.d.
25	26-07-2010	1293	n.d.	n.d.	n.d.
	17-09-2010	12429	n.d.	n.d.	n.d.
	28-07-2010	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
28	27-07-2010	40847	n.d.	n.d.	n.d.
	28-07-2010	20347	n.d.	n.d.	n.d.
	29-07-2010	17627	n.d.	n.d.	n.d.
	03-08-2010	27680	n.d.	n.d.	n.d.
	04-08-2010	21835	n.d.	n.d.	n.d.
29	25-05-2010	33795	n.d.	n.d.	n.d.
	31-05-2010	27588	n.d.	n.d.	n.d.
	07-06-2010	11068	n.d.	n.d.	n.d.
	10-06-2010	25613	n.d.	n.d.	n.d.
30	19-07-2010	18490	n.d.	n.d.	n.d.
	21-07-2010	36285	n.d.	n.d.	n.d.
	26-07-2010	13079	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.: não disponível

Tal como aconteceu nos ensaios de campo da Gestosa, foram muitas vezes ultrapassados, de forma notável, os valores recomendados para a qualidade ambiental do ar respirável. Observaram-se correlações entre os valores monitorizados de CO e de COVs ($\rho=0,289$; $p=0,036$; teste de Spearman) e entre NO₂ e COVs ($\rho=0,736$; $p<0,001$; Teste de Spearman).

4.1.4 Efeitos do fumo dos incêndios florestais na saúde dos bombeiros expostos**4.1.4.1 Inquéritos de saúde SF-36v2 e SF-6D****4.1.4.1.1 Inquérito de saúde SF-36v2**

No início e no final do Projeto FUMEXP, responderam a este inquérito 31 e 25 bombeiros, respetivamente.

Os valores obtidos nas oito dimensões do questionário SF-36v2 foram superiores aos observados para a população portuguesa dos mesmos escalões etários (567).

Esta diferença foi estatisticamente significativa para as dimensões função física (FF), saúde geral (SG) e vitalidade (VT) no escalão 18-24 anos; desempenho físico (DF), dor corporal (DC), SG, VT, função social (FS), desempenho emocional (DE) e saúde mental (SM) no escalão 25-34 anos; DF, DC, VT, DE e SM no escalão 35-44 anos; não houve diferenças significativas no escalão 45-54 anos, como se pode ver no Quadro 30.

Não obstante os valores de quatro das oito dimensões do SF-36v2 terem, diminuído em média, ao longo do triénio de estudo (dor corporal, vitalidade, função social e saúde mental), esta diminuição não teve significado estatístico.

No início do Projeto e de acordo com as respostas ao inquérito SF-36v2, os bombeiros dos 18 aos 29 anos apresentaram medidas sumário física (MSF) de $57,22 \pm 7,26$ e mediana de 60,41 (população portuguesa do mesmo escalão etário: $55,82 \pm 6,54$ e mediana de 56,57); e medidas sumário mental (MSM) de $51,63 \pm 7,24$ e mediana de 54,84 (população portuguesa: $49,22 \pm 9,28$ e mediana de 51,87).

Os bombeiros dos 30 aos 49 anos apresentaram MSF de $56,64 \pm 6,13$ e mediana de 55,16 (população portuguesa do mesmo escalão etário: $52,67 \pm 7,90$ e mediana de 54,24); MSM de $54,50 \pm 6,27$ e mediana de 54,39 (população portuguesa: $50,36 \pm 9,88$ e mediana de 52,91) (Quadro 31).

Não houve diferenças significativas das medidas de MSF e MSM entre a nossa amostra organizada por escalões etários e as estimativas das medidas nacionais publicadas em 2012 (568), nem entre os dói

Quadro 30. Valores obtidos no inquérito SF-36v2 e comparação com os valores nacionais

Dimensões	n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*
Grupo etário 18 - 24 anos						
FF	9	98,33 ± 2,50	95,00	100,00	100,00	0,014
DF	9	79,86 ± 18,43	59,38	81,25	100,00	0,513
DC	9	76,22 ± 27,81	53,00	74,00	100,00	0,914
SG	9	80,89 ± 9,99	73,50	77,00	90,00	0,008
VT	9	76,67 ± 11,46	65,00	80,00	87,50	0,028
FS	9	86,11 ± 15,87	68,75	87,50	100,00	0,062
DE	9	81,48 ± 16,55	66,67	83,33	100,00	0,232
SM	9	80,00 ± 21,17	76,00	88,00	92,00	0,160
Grupo etário 25 - 34 anos						
FF	14	96,07 ± 5,61	93,75	100,00	100,00	0,507
DF	14	95,54 ± 11,87	98,44	100,00	100,00	0,010
DC	14	81,93 ± 16,69	69,50	84,00	100,00	0,003
SG	14	76,79 ± 15,12	62,00	76,00	92,00	0,002
VT	14	80,71 ± 10,89	70,00	80,00	90,00	0,001
FS	14	96,43 ± 5,86	87,50	100,00	100,00	0,002
DE	14	94,64 ± 11,61	91,67	100,00	100,00	0,001
SM	14	90,86 ± 6,36	87,00	90,00	97,00	0,001
Grupo etário 35 - 44 anos						
FF	5	84,00 ± 35,78	60,00	100,00	100,00	0,480
DF	5	97,50 ± 3,42	93,75	100,00	100,00	0,038
DC	5	100,00 ± 0,00	100,00	100,00	100,00	0,025
SG	5	75,80 ± 17,21	62,00	75,00	90,00	0,080
VT	5	88,00 ± 14,40	75,00	90,00	100,00	0,042
FS	5	82,50 ± 25,92	62,50	87,50	100,00	0,496
DE	5	96,67 ± 4,56	91,67	100,00	100,00	0,038
SM	5	96,00 ± 2,83	94,00	96,00	98,00	0,039
Grupo etário 45 - 54 anos						
FF	3	93,33 ± 5,77	90,00	90,00	100,00	0,102
DF	3	85,42 ± 14,43	68,75	93,75	93,75	0,276
DC	3	73,33 ± 11,02	62,00	74,00	84,00	0,180
SG	3	56,33 ± 9,29	50,00	52,00	67,00	0,655
VT	3	55,00 ± 13,23	40,00	60,00	65,00	1,000
FS	3	83,33 ± 19,09	62,50	87,50	100,00	0,414
DE	3	88,89 ± 19,24	66,67	100,00	100,00	0,276
SM	3	66,67 ± 16,65	48,00	72,00	80,00	0,785

FF-função física. DF-desempenho físico. DC-dor corporal. SG-saúde geral. VT-vitalidade. FS-função social. DE-desempenho emocional. SM-saúde mental. *Teste de Wilcoxon-one sample, signed rank.

Quadro 31. Medidas sumário física (MSF) e mental (MSM) e comparação com os valores nacionais

Dimensões	n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*
Grupo etário 18 - 29 anos						
MSF	13	57,22 ± 7,26	49,63	60,41	63,10	0,861
MSM	13	51,63 ± 7,24	48,47	54,84	55,90	0,507
Grupo etário 30-49 anos						
MSF	18	56,64 ± 6,13	53,61	55,16	61,75	0,122
MSM	18	54,5 ± 6,27	52,82	54,39	58,52	0,071

*Teste de Wilcoxon-one sample, signed rank.

4.1.4.1.2 Inquérito de saúde SF-6D

No inquérito SF-6D, os valores iniciais também foram superiores à média portuguesa para os mesmos escalões etários (569): escalão 18-29 anos: $0,908 \pm 0,045$ (população portuguesa: $0,884 \pm 0,0037$); escalão 30-49 anos: $0,922 \pm 0,069$ (população portuguesa: $0,872 \pm 0,0042$), contudo estas diferenças não foram estatisticamente significativas (Quadro 32).

Quadro 32. Valores obtidos para o SF-6D e comparação com os valores nacionais

Dimensões	<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
Grupo etário 18 - 29 anos						
SF-6D	13	$0,908 \pm 0,045$	0,865	0,900	0,940	0,278
Grupo etário 30 - 49 anos						
SF-6D	18	$0,922 \pm 0,069$	0,890	0,925	0,960	0,052

*Teste de Wilcoxon-one sample, signed rank.

Houve uma diminuição não significativa do *score* do SF-6D, em média, ao longo do triénio de estudo ($p=0,426$; teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas).

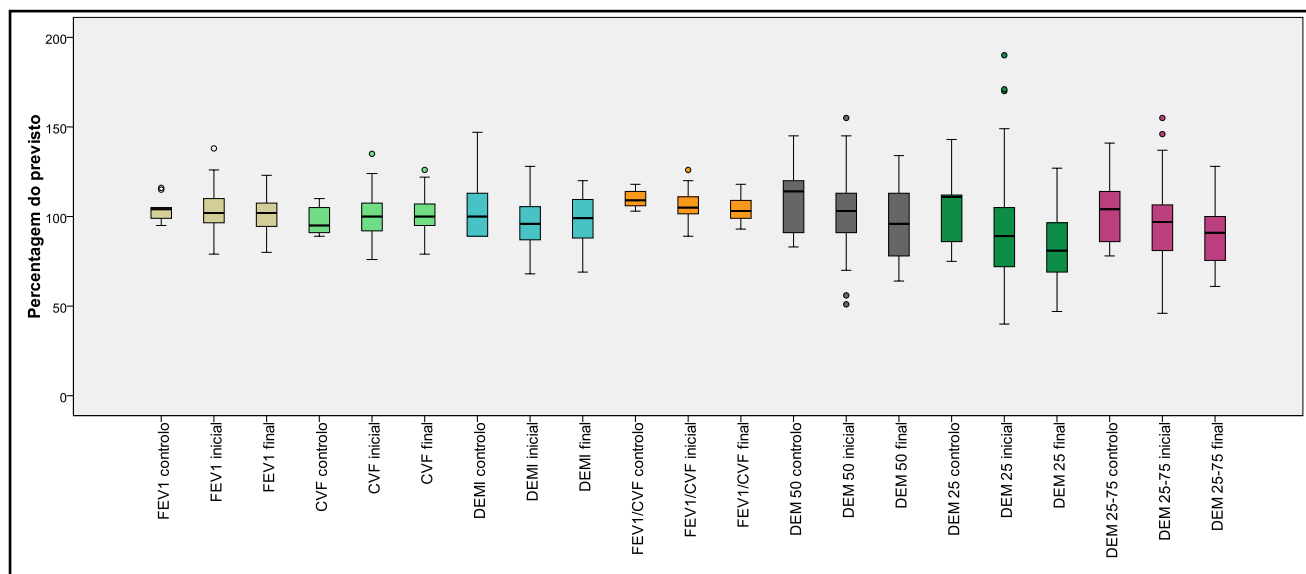
4.1.4.2 Espirometria

No início do Projeto FUMEXP, antes dos primeiros ensaios de campo, toda a amostra efetuou espirometria, tal como descrito em Capítulo anterior.

A amostra foi novamente testada no final do Projeto, decorridas três épocas de incêndios (anos 2008, 2009 e 2010). Todas as restantes medições nos parâmetros de saúde foram efetuadas antes e imediatamente após a exposição (no caso dos incêndios reais, as medidas basais foram as obtidas antes dos ensaios de campo e da época anual de incêndios). Contudo, optámos por realizar a espirometria apenas nestes dois tempos para verificar eventuais diferenças nas amostras, no decurso da exposição ao longo das três épocas. Decidimos não realizar espirometrias imediatamente a seguir aos incêndios, uma vez que, tal como referido nas recomendações internacionais (136), as exigências de qualidade e de reprodutibilidade das manobras espirométricas são pouco compatíveis com a sua realização com qualidade no ambiente em que se desenrolaram as atividades nos períodos pós-incêndio. Na Figura 41 e nos Quadros 33 e 34 apresentam-se os valores obtidos bem como os da amostra controlo.

Dos 38 bombeiros da amostra original, foi possível obter novamente espirometrias em 35 (92,1%) sendo estes os comparados.

Figura 41. Parâmetros das espirometrias no início e no final do Projeto FUMEXP e comparação com amostra controle



Foi efetuada a comparação entre a amostra dos bombeiros e a dos controlos, pelo teste U de Mann-Whitney; embora, em muitas situações, os valores fossem mais baixos na amostra dos bombeiros comparativamente à amostra dos controlos, esta diferença não foi significativa.

Quadro 33. Espirometria da amostra controle e da amostra dos bombeiros no início do Projeto FUMEXP

Características da amostra	n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*	
FEV ₁	controle	9	104,22 ± 7,30	98	104	110	0,62
	inicial	35	103,50 ± 12,35	96	102	112	
CVF	controle	9	98,00 ± 8,43	90	95	107	0,47
	inicial	35	101,30 ± 12,80	91	100	110	
DEMI	controle	9	104,89 ± 18,66	89	100	113,5	0,15
	inicial	35	96,09 ± 13,74	87	96	106	
FEV1/CVF	controle	9	109,67 ± 5,29	104,5	109	114,5	0,11
	inicial	35	105,60 ± 8,62	101	105	111	
DEM ₅₀	controle	9	108,67 ± 20,54	87,5	114	120,5	0,39
	inicial	35	101,70 ± 23,13	89	103	113	
DEM ₂₅	controle	9	104,22 ± 21,15	82,5	111	112,5	0,09
	inicial	35	93,80 ± 35,19	71	89	105	
DEM ₂₅₋₇₅	controle	9	104,44 ± 19,28	86	104	114	0,29
	inicial	35	95,74 ± 24,89	79	97	107	

(*) Teste U de Mann-Whitney

Entre o início e o final do Projeto, verificou-se uma diminuição de todos os parâmetros espirométricos, exceto do DEMI. Contudo, esta diferença só foi estatisticamente significativa para os parâmetros FEV₁, DEM₅₀, DEM₂₅ e DEM₂₅₋₇₅ (Quadro 34).

Quadro 34. Espirometrias da amostra no início e no final do Projeto FUMEXP

Características da amostra		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i>
FEV ₁	inicial	35	103,50 ± 12,35	96	102	112	0,028*
	final	35	101,80 ± 10,06	94	102	108	
CVF	inicial	35	101,30 ± 12,80	91	100	110	0,548
	final	35	100,80 ± 11,37	95	100	108	
DEMI	inicial	35	96,09 ± 13,74	87	96	106	0,321
	final	35	97,57 ± 13,35	88	99	110	
FEV ₁ /CVF	inicial	35	105,60 ± 8,62	101	105	111	0,121
	final	35	104,30 ± 6,74	99	103	109	
DEM ₅₀	inicial	35	101,70 ± 23,13	89	103	113	0,028 ⁺
	final	35	96,83 ± 20,02	77	96	113	
DEM ₂₅	inicial	35	93,80 ± 35,19	71	89	105	0,005*
	final	35	82,11 ± 22,42	69	81	98	
DEM ₂₅₋₇₅	inicial	35	95,74 ± 24,89	79	97	107	0,009*
	final	35	89,77 ± 18,13	74	91	100	

(*) Teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas. (+) Teste t de Student para amostras emparelhadas.

4.1.4.3 Valores de CO e de %COHb no ar exalado nos ensaios de campo

4.1.4.3.1 Ensaio “Gestosa 2008”

No ano de 2008, os bombeiros participantes no Projeto FUMEXP foram avaliados através do equipamento *SmokeCheck*[®] da firma *MicroMedical* que apenas media valores em quatro classes, conforme apresentado no Quadro 35.

Quadro 35. Valores de classes de CO no ensaio “Gestosa 2008”

Ensaio "Gestosa 2008"		
CO		
Classes de valor	Bombeiros pré-exposição	Bombeiros pós-exposição
	<i>n</i> =12	<i>n</i> =12
0-6 ppm	11 bombeiros (91,7%)	2 bombeiros (16,7%)
7 a 10 ppm	1 bombeiro (8,3%)	4 bombeiros (33,3%)
11 a 20 ppm	0 bombeiros (0,0%)	5 bombeiros (41,7%)
> 20 ppm	0 bombeiros (0,0%)	1 bombeiro (8,3%)

Assim, foi efetuado um teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas para a comparação dos dados pré e pós-exposição, verificando-se, após a exposição ao fumo, uma subida estatisticamente significativa de CO (*p*=0,004) (Figura 42).

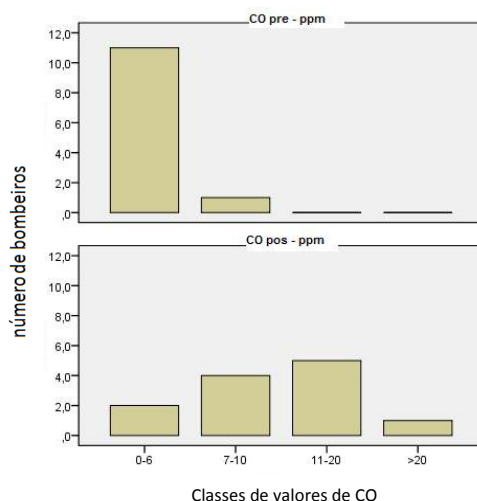


Figura 42. Monóxido de carbono monitorizado no ensaio “Gestosa 2008”

4.1.4.3.2 Ensaio “Gestosa 2009”

Nos Quadros 36 e 37 e nas Figuras 43 e 44, apresentam-se os valores registados nos ensaios de campo de 2009.

Quadro 36. Valores de CO e %COHb na amostra controlo e pré-ensaio “Gestosa 2009”

Ensaio "Gestosa 2009"		n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*
CO	Controlo	9	0,89 ± 0,78	0,00	1,00	1,50	<0,001
	Bombeiros pré-exposição	14	4,00 ± 2,94	2,00	3,00	4,50	
%COHb	Controlo	9	0,14 ± 0,13	0,16	0,24	0,32	<0,001
	Bombeiros pré-exposição	14	0,64 ± 0,47	0,32	0,48	0,72	

(*) Teste de U de Mann-Whitney

Quadro 37. Valores de CO e %COHb pré e pós-ensaio “Gestosa 2009”

Ensaio "Gestosa 2009"		n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*
CO	Bombeiros pré-exposição	14	4,00 ± 2,94	2,00	3,00	4,50	0,005
	Bombeiros pós-exposição	14	6,14 ± 3,98	3,75	5,00	7,25	
%COHb	Bombeiros pré-exposição	14	0,64 ± 0,47	0,32	0,48	0,72	0,005
	Bombeiros pós-exposição	14	0,98 ± 0,64	0,60	0,80	1,16	

(*) Teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas

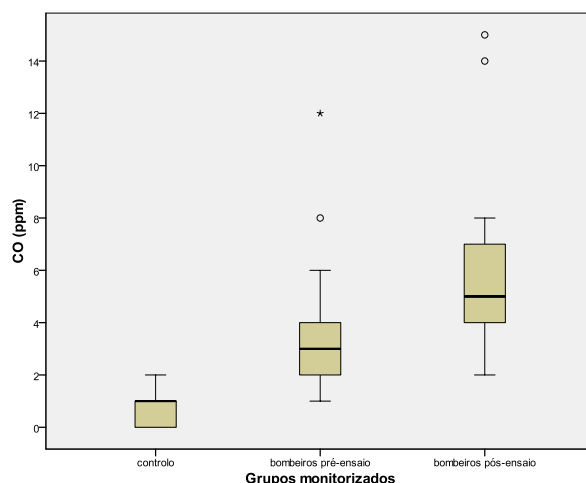


Figura 43. Monóxido de carbono monitorizado no ensaio “Gestosa 2009”

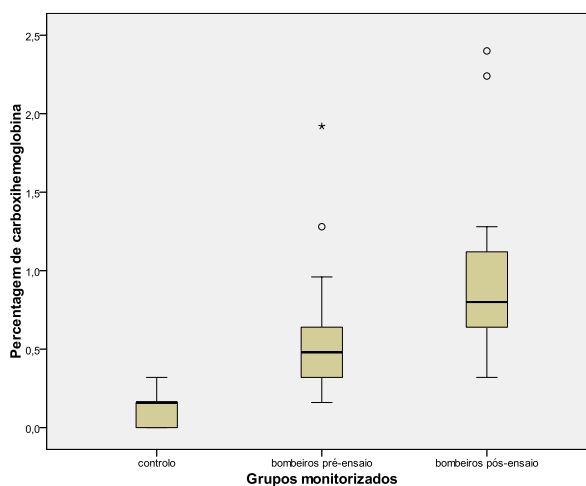


Figura 44. Percentagem de COHb monitorizada no ensaio “Gestosa 2009”

Verificamos que o CO e a %COHb da amostra controle foram significativamente menores que os da amostra dos bombeiros em pré-exposição ($p < 0,001$). Após a exposição neste ensaio de campo, ambos os valores subiram significativamente ($p = 0,005$).

4.1.4.3.3 Ensaio “Gestosa 2010”

Nos Quadros 38 e 39 e nas Figuras 45 e 46, apresentam-se os valores registados nos ensaios de campo de 2010.

Quadro 38. Valores de CO e %COHb na amostra controlo e pré-ensaio “Gestosa 2010”

Ensaio "Gestosa 2010"		n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*
CO	Controlo	9	0,89 ± 0,78	0,00	1,00	1,50	0,68
	Bombeiros pré-exposição	18	1,06 ± 1,51	0,00	0,50	1,25	
%COHb	Controlo	9	0,14 ± 0,13	0,16	0,24	0,32	0,68
	Bombeiros pré-exposição	18	0,17 ± 0,24	0,00	0,08	0,20	

(*) Teste de U de Mann-Whitney

Quadro 39. Valores de CO e %COHb pré e pós-ensaio “Gestosa 2010”

Ensaio "Gestosa 2010"		n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*
CO	Bombeiros pré-exposição	18	1,06 ± 1,51	0,00	0,50	1,25	<0,001
	Bombeiros pós-exposição	18	6,22 ± 3,34	3,75	6,00	8,25	
%COHb	Bombeiros pré-exposição	18	0,17 ± 0,24	0,00	0,08	0,20	<0,001
	Bombeiros pós-exposição	18	1,00 ± 0,53	0,60	0,96	1,32	

(*) Teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas

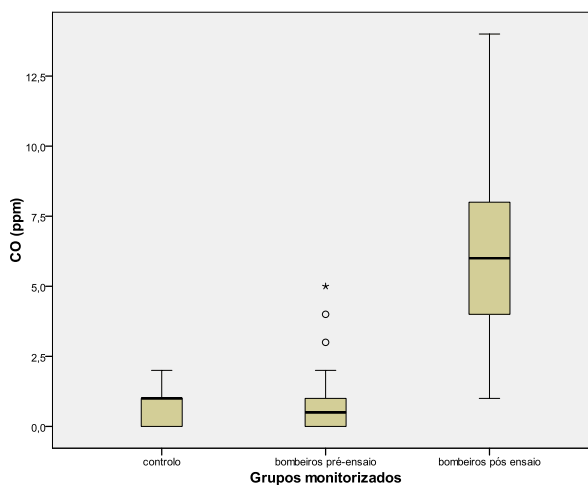


Figura 45. Monóxido de carbono monitorizado no ensaio “Gestosa 2010”

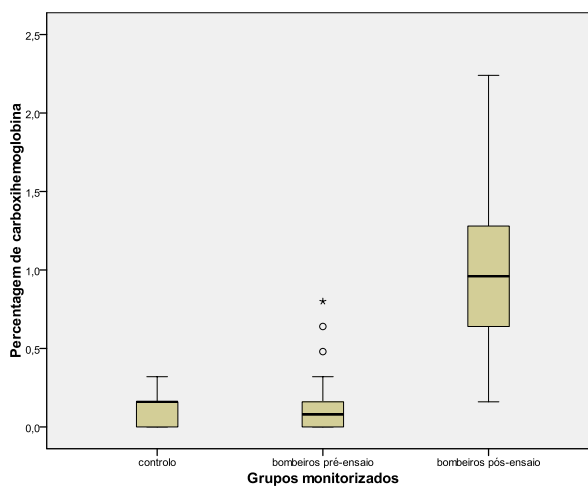


Figura 46. Percentagem de COHb monitorizada no ensaio “Gestosa 2010”

Não se verificaram diferenças significativas entre a amostra controlo e a amostra dos bombeiros que participaram no ensaio “Gestosa 2010” quanto a estes dois parâmetros.

Após a exposição ao fumo dos incêndios ocorrida durante este ensaio, houve um aumento estatisticamente significativo dos valores de CO e da % COHb ($p < 0,001$).

4.1.4.4 Valores de $F_{E}NO$ no ar exalado nos ensaios de campo da Gestosa

4.1.4.4.1 Ensaio “Gestosa 2008”

Nos Quadros 40 e 41 e na Figura 47 apresentam-se os valores da $F_{E}NO$ registados nos ensaios de campo de 2008 e sua comparação com a amostra controlo.

Quadro 40. Valores da $F_{E}NO$ na amostra controlo e pré-ensaio “Gestosa 2008”

Ensaio "Gestosa 2008"		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
$F_{E}NO$	Controlo	9	15,67 ± 10,04	9,00	11,00	21,50	0,015
	Bombeiros pré-exposição	14	30,29 ± 14,74	18,75	21,50	44,25	

(*) Teste de U de Mann-Whitney

Quadro 41. Valores da $F_{E}NO$ pré e pós-ensaio “Gestosa 2008”

Ensaio "Gestosa 2008"		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
$F_{E}NO$	Bombeiros pré-exposição	14	30,29 ± 14,74	18,75	21,50	44,25	0,038
	Bombeiros pós-exposição	14	23,57 ± 12,58	12,00	20,00	30,25	

(*) Teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas

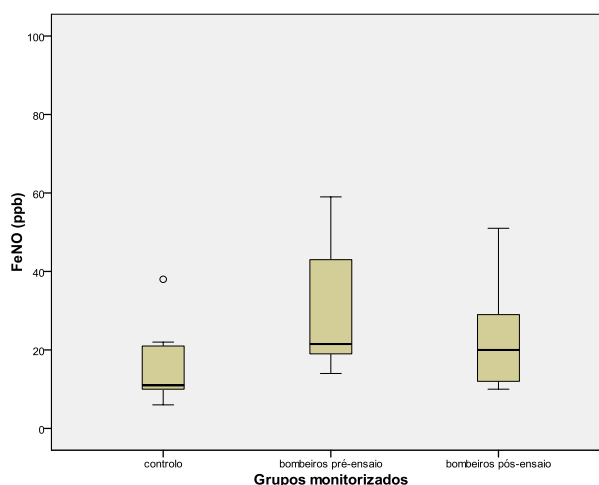


Figura 47. Fração exalada de óxido nítrico ($F_{E}NO$) monitorizada no ensaio “Gestosa 2008”

Verificou-se que os valores da $F_{E}NO$ foram significativamente menores na amostra controlo face à amostra dos bombeiros antes do ensaio “Gestosa 2008” ($p=0,015$). Os valores da $F_{E}NO$ diminuíram significativamente após a exposição ($p=0,038$).

4.1.4.4.2 Ensaio “Gestosa 2009”

Nos Quadros 42 e 43 e na Figura 48 apresentam-se os valores da $F_{E}NO$ registados nos ensaios de campo de 2009 e sua comparação com a amostra controlo.

Quadro 42. Valores da $F_{E}NO$ na amostra controlo e pré-ensaio “Gestosa 2009”

Ensaio "Gestosa 2009"		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
$F_{E}NO$	Controlo	9	15,67 ± 10,04	9,00	11,00	21,50	0,050
	Bombeiros pré-exposição	14	30,71 ± 21,78	15,25	24,00	36,25	

(*) Teste de U de Mann-Whitney

Quadro 43. Valores da $F_{E}NO$ pré e pós-ensaio “Gestosa 2009”

Ensaio "Gestosa 2009"		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
$F_{E}NO$	Bombeiros pré-exposição	14	30,71 ± 21,78	15,25	24,00	36,25	0,0495
	Bombeiros pós-exposição	14	25,36 ± 16,91	11,50	21,00	36,75	

(*) Teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas

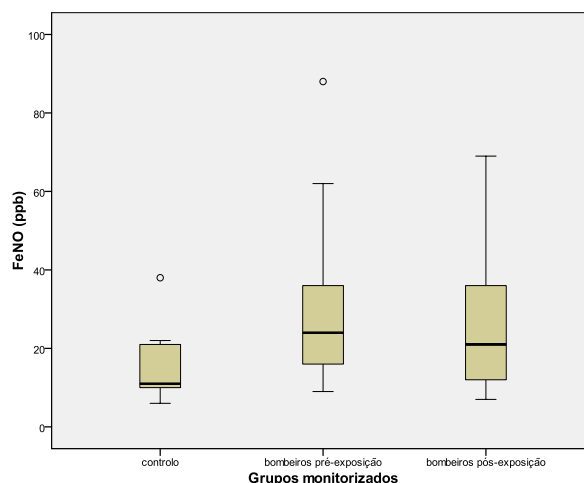


Figura 48. $F_{E}NO$ monitorizada no ensaio “Gestosa 2009”

A $F_{E}NO$ foi menor no grupo controlo, mas sem significado estatístico ($p=0,05$). Após a exposição ao fumo ocorrida durante o ensaio “Gestosa 2009”, houve uma diminuição estatisticamente significativa da $F_{E}NO$ ($p < 0,05$).

4.1.4.4.3 Ensaio “Gestosa 2010”

Nos Quadros 44 e 45 e na Figura 49 apresentam-se os valores da $F_{E}NO$ registados nos ensaios de campo de 2010 e sua comparação com a amostra controlo.

Quadro 44. Valores da F_ENO na amostra controlo e pré-ensaio “Gestosa 2010”

Ensaio "Gestosa 2010"		n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*
F _E NO	Controlo	9	15,67 ± 10,04	9,00	11,00	21,50	0,053
	Bombeiros pré-exposição	18	25,83 ± 16,43	14,50	20,50	32,25	

(*) Teste de U de Mann-Whitney

Quadro 45. Valores da F_ENO pré e pós-ensaio “Gestosa 2010”

Ensaio "Gestosa 2010"		n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*
F _E NO	Bombeiros pré-exposição	18	25,83 ± 16,43	14,50	20,50	32,25	0,568
	Bombeiros pós-exposição	18	25,06 ± 14,39	14,75	20,50	32,50	

(*) Teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas

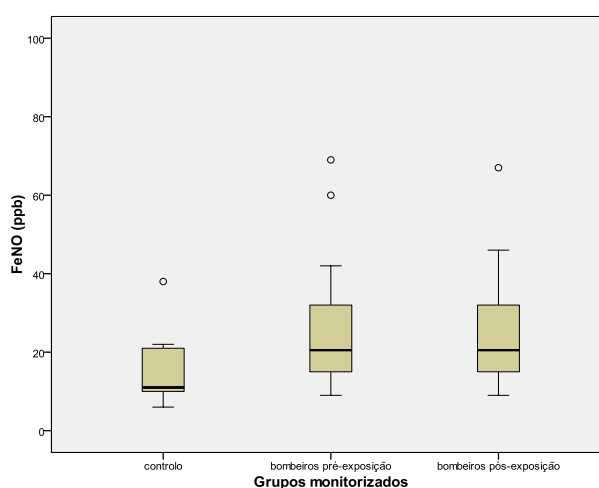


Figura 49. F_ENO monitorizada no ensaio “Gestosa 2010”

A F_ENO foi menor no grupo controlo mas sem significado estatístico ($p=0,053$). Após a exposição ao fumo dos incêndios ocorrida durante o ensaio “Gestosa 2010”, houve uma diminuição não significativa da F_ENO ($p=0,568$).

4.1.4.5 Valores de CO e de %COHb em incêndios florestais reais

Nos Quadros 46 e 47 e Figuras 50 e 51, apresentam-se os valores dos parâmetros de CO e %COHb observados após os incêndios reais (em distinção dos observados nos ensaios de campo). São relatadas 34 ocasiões em que foi possível efetuar estas determinações, após contacto telefónico e rápida monitorização dos bombeiros envolvidos. Referem-se, de igual modo, os valores da amostra controlo e os valores prévios dos mesmos bombeiros, antes do início da época de incêndio. A amostra controlo foi idêntica, quer para os três ensaios de campo, quer para a comparação com as ocorrências em incêndio real.

Quadro 46. Valores de CO e %COHb na amostra controlo e na amostra pré-época de incêndios florestais

Fogos reais		n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*
CO	Controlo	9	0,89 ± 0,78	0,00	1,00	1,50	0,046
	Bombeiros pré-exposição	34	2,50 ± 2,43	0,00	3,00	3,00	
%COHb	Controlo	9	0,14 ± 0,13	0,16	0,24	0,32	0,046
	Bombeiros pré-exposição	34	0,64 ± 0,47	0,00	0,48	0,48	

(*)Teste de Mann-Whitney

Quadro 47. Valores de CO e %COHb pré-exposição e pós-incêndios reais

Fogos Reais		n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*
CO	Bombeiros pré-exposição	34	2,50 ± 2,43	0,00	3,00	3,00	p < 0,001
	Bombeiros pós-incêndio real	34	10,50 ± 7,85	4,00	8,50	16,50	
%COHb	Bombeiros pré-exposição	34	0,64 ± 0,47	0,00	0,48	0,48	p < 0,001
	Bombeiros pós-incêndio real	34	1,67 ± 1,27	0,64	1,20	2,67	

(*) Teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas

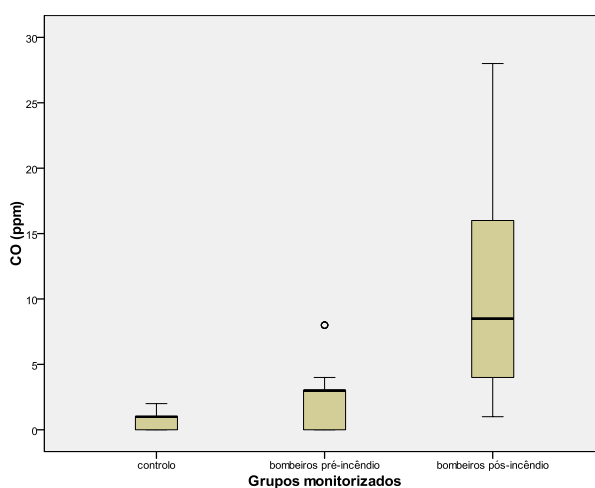


Figura 50. Monóxido de carbono monitorizado nas amostras

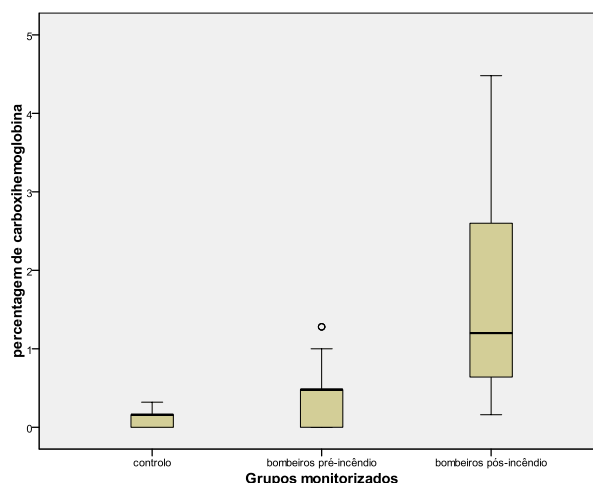


Figura 51. Percentagem de COHb monitorizada nas amostras

Note-se que, tal como foi previamente explicado na metodologia, o valor de percentagem de carboxihemoglobina é extrapolado pelo equipamento *MicroCO*[®], não sendo medido de forma direta e independente, motivo pelo qual o aspeto gráfico da variação da amostra é idêntico.

Verificamos que o CO e a %COHb da amostra controlo foram significativamente menores que os da amostra dos bombeiros em pré-exposição ($p=0,046$).

Após a exposição ao fumo dos incêndios ocorrida durante as operações de combate e rescaldo nas três épocas de incêndios florestais 2008, 2009 e 2010, houve um aumento significativo dos valores de CO e da %COHb ($p < 0,001$).

4.1.4.6 Valores de $F_E NO$ em incêndios florestais reais

Nos Quadros 48 e 49 e na Figura 52 apresentam-se os valores da $F_E NO$ registados nos incêndios florestais reais e sua comparação com a amostra controlo.

Quadro 48. Valores da $F_E NO$ na amostra controlo e pré-incêndios reais

Fogos reais		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
$F_E NO$	Controlo	9	15,67 ± 10,04	9,00	11,00	21,50	0,103
	Bombeiros pré-exposição	34	22,88 ± 11,81	13,00	20,00	33,00	

(*) Teste de U de Mann-Whitney

Quadro 49. Valores da $F_E NO$ pré-exposição e pós-incêndios reais

Fogos reais		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
$F_E NO$	Bombeiros pré-exposição	34	22,88 ± 11,81	13,00	20,00	33,00	0,003
	Bombeiros pós-incêndio real	34	18,21 ± 7,91	11,00	19,50	24,00	

(*) Teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas

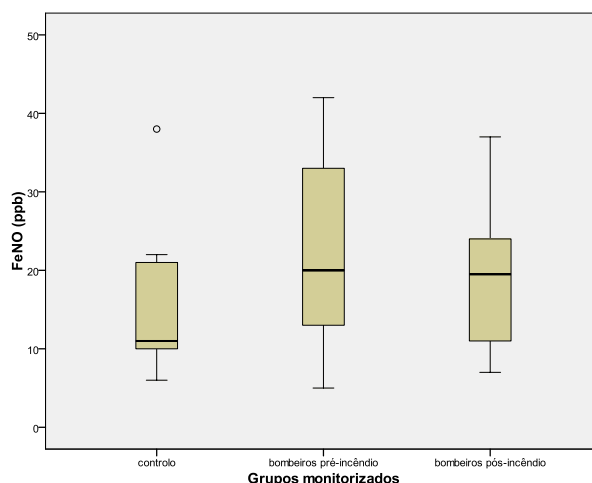


Figura 52. F_ENO monitorizada nas amostras

A F_ENO foi menor no grupo controlo, mas sem significado estatístico ($p=0,103$). Observou-se uma diminuição estatisticamente significativa da F_ENO após os incêndios florestais reais ($p=0,003$).

Observou-se uma correlação negativa entre os valores de CO e de F_ENO nas monitorizações realizadas após os incêndios florestais ($\rho=-0,512$. $p=0,002$; Teste de Spearman).

4.1.4.7 Análises do condensado brônquico (EBC)

Nos Quadros 50 a 53 e nas Figuras 53 a 66 apresentam-se os valores laboratoriais quantitativos observados nas múltiplas amostras de EBC colhidas aos bombeiros, quer antes e após os ensaios de campo, quer após os incêndios florestais reais.

RESULTADOS

Quadro 50. Valores do EBC na amostra controlo e pré-ensaios da Gestosa

		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *	<i>p</i> +
Arginina	Controlo	9	5,58 ± 3,50	3,51	4,36	7,26	0,001	<0,001
	Bomb. pré-exposição	19	12,50 ± 4,87	9,13	11,14	15,43		
Ornitina	Controlo	9	34,67 ± 19,92	22,20	26,51	44,51	0,001	0,026
	Bomb. pré-exposição	19	98,66 ± 71,98	41,02	76,73	123,66		
Prolina	Controlo	9	6,37 ± 2,88	4,08	5,77	9,25	<0,001	0,007
	Bomb. pré-exposição	19	18,29 ± 11,32	10,01	14,21	29,60		
Hidroxi prolina	Controlo	9	0,31 ± 0,14	0,22	0,27	0,36	0,042	0,109
	Bomb. pré-exposição	19	0,54 ± 0,28	0,27	0,58	0,81		
Citrulina	Controlo	9	10,93 ± 6,89	5,96	7,46	18,50	0,012	0,006
	Bomb. pré-exposição	19	18,54 ± 8,40	12,14	18,74	21,76		
Isoleucina	Controlo	9	6,49 ± 4,05	3,45	5,19	9,30	0,005	0,031
	Bomb. pré-exposição	19	17,35 ± 13,11	8,22	13,86	23,05		
Leucina	Controlo	9	7,60 ± 4,98	4,53	5,93	9,26	0,004	0,032
	Bomb. pré-exposição	19	21,92 ± 16,24	9,95	18,37	28,85		
Tirosina	Controlo	9	7,64 ± 4,43	4,31	5,90	10,68	<0,001	0,004
	Bomb. pré-exposição	19	21,68 ± 12,55	12,74	18,62	27,14		
ADMA	Controlo	9	0,09 ± 0,05	0,06	0,07	0,11	0,010	0,065
	Bomb. pré-exposição	19	0,19 ± 0,10	0,11	0,18	0,27		
SDMA	Controlo	9	0,07 ± 0,02	0,06	0,07	0,09	0,129	0,704
	Bomb. pré-exposição	19	0,11 ± 0,07	0,06	0,09	0,13		
MDA	Controlo	9	0,84 ± 0,34	0,60	0,83	0,95	<0,001	<0,001
	Bomb. pré-exposição	18	3,09 ± 1,03	2,47	2,80	3,93		
HNE	Controlo	9	0,38 ± 0,06	0,32	0,37	0,43	<0,001	0,008
	Bomb. pré-exposição	18	1,10 ± 0,78	0,48	0,96	1,69		
8-isoprostano	Controlo	9	1,35 ± 0	1,35	1,35	1,35	<0,001	n.a.
	Bomb. pré-exposição	19	4,64 ± 2,59	2,92	4,27	5,99		
Nitrato	Controlo	9	1,87 ± 0,62	1,39	1,84	2,28	<0,001	0,005
	Bomb. pré-exposição	19	13,78 ± 12,59	3,24	8,91	30,23		

(*) Teste U de Mann-Whitney

(+) General Linear Model (*ajustado ao género*)

n.a. não aplicável

Quadro 51. Valores do EBC nas amostras pré e pós-ensaios da Gestosa

Ensaio de campo		n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p
Arginina	Bomb. pré-exposição	19	12,50 ± 4,87	9,13	11,14	15,43	<0,001 ⁺
	Bomb. pós-exposição	19	32,67 ± 25,30	14,25	20,15	46,40	
Ornitina	Bomb. pré-exposição	19	98,66 ± 71,98	41,02	76,73	123,66	0,007 ⁺
	Bomb. pós-exposição	19	203,10 ± 228,03	96,17	126,45	235,73	
Prolina	Bomb. pré-exposição	19	18,29 ± 11,32	10,01	14,21	29,60	0,001 ⁺
	Bomb. pós-exposição	19	42,76 ± 39,94	16,44	37,38	53,86	
Hidroxi prolina	Bomb. pré-exposição	19	0,54 ± 0,28	0,27	0,58	0,81	0,004 [*]
	Bomb. pós-exposição	19	1,17 ± 0,73	0,59	0,92	1,68	
Citrulina	Bomb. pré-exposição	19	18,54 ± 8,40	12,14	18,74	21,76	<0,001 ⁺
	Bomb. pós-exposição	19	40,38 ± 35,10	18,12	28,07	54,45	
Isoleucina	Bomb. pré-exposição	19	17,35 ± 13,11	8,22	13,86	23,05	0,002 ⁺
	Bomb. pós-exposição	19	40,26 ± 43,97	18,14	27,08	46,37	
Leucina	Bomb. pré-exposição	19	21,92 ± 16,24	9,95	18,37	28,85	0,001 ⁺
	Bomb. pós-exposição	19	52,14 ± 55,52	18,69	39,12	56,07	
Tirosina	Bomb. pré-exposição	19	21,68 ± 12,55	12,74	18,62	27,14	0,001 ⁺
	Bomb. pós-exposição	19	54,91 ± 62,63	22,85	42,23	61,53	
ADMA	Bomb. pré-exposição	19	0,19 ± 0,10	0,11	0,18	0,27	0,006 ⁺
	Bomb. pós-exposição	19	0,47 ± 0,41	0,17	0,36	0,56	
SDMA	Bomb. pré-exposição	19	0,11 ± 0,07	0,06	0,09	0,13	0,04 ⁺
	Bomb. pós-exposição	19	0,18 ± 0,10	0,10	0,16	0,24	
MDA	Bomb. pré-exposição	17	3,03 ± 1,02	2,44	2,76	3,55	0,004 [*]
	Bomb. pós-exposição	17	4,57 ± 1,70	3,11	4,62	5,45	
HNE	Bomb. pré-exposição	17	1,06 ± 0,78	0,47	0,92	1,61	0,055 ⁺
	Bomb. pós-exposição	17	1,47 ± 0,76	0,72	1,51	1,88	
8-isoprostano	Bomb. pré-exposição	19	4,64 ± 2,59	2,92	4,27	5,99	0,677 [*]
	Bomb. pós-exposição	19	4,94 ± 1,92	3,97	4,69	6,00	
Nitrato	Bomb. pré-exposição	19	12,83 ± 12,24	3,20	7,48	24,62	0,711 ⁺
	Bomb. pós-exposição	19	11,00 ± 11,23	3,08	6,60	13,60	

(+) Teste de Wilcoxon

(*) Teste t de Student

Quadro 52. Valores do EBC nas amostras pré-exposição e pós-incêndio real

Ensaio de campo / incêndio real		n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*
Arginina	Bomb. pré-exposição	28	10,26 ± 4,37	8,02	9,78	11,11	<0,001
	Bomb. pós-incêndio real	28	39,37 ± 27,55	16,84	34,33	57,36	
Ornitina	Bomb. pré-exposição	28	79,19 ± 50,09	41,24	75,43	85,78	<0,001
	Bomb. pós-incêndio real	28	406,16 ± 402,09	122,00	252,48	557,68	
Prolina	Bomb. pré-exposição	28	14,57 ± 7,52	9,04	11,63	18,32	<0,001
	Bomb. pós-incêndio real	28	78,6 ± 71,96	26,10	39,35	117,96	
Hidroxiprolina	Bomb. pré-exposição	28	0,65 ± 0,32	0,28	0,62	0,99	0,001
	Bomb. pós-incêndio real	28	1,55 ± 1,75	0,57	1,04	1,94	
Citrulina	Bomb. pré-exposição	28	17,93 ± 9,13	9,69	14,93	21,72	<0,001
	Bomb. pós-incêndio real	28	52,58 ± 48,16	22,00	38,40	67,96	
Isoleucina	Bomb. pré-exposição	28	12,15 ± 8,20	5,10	10,51	14,07	<0,001
	Bomb. pós-incêndio real	28	99,53 ± 101,28	26,02	47,41	142,89	
Leucina	Bomb. pré-exposição	28	15,74 ± 9,91	7,50	12,35	18,38	<0,001
	Bomb. pós-incêndio real	28	123,68 ± 122,95	33,68	61,39	174,01	
Tirosina	Bomb. pré-exposição	28	16,20 ± 7,53	8,74	16,37	21,08	<0,001
	Bomb. pós-incêndio real	28	122,16 ± 131,27	29,67	70,14	152,55	
ADMA	Bomb. pré-exposição	28	0,20 ± 0,10	0,12	0,18	0,32	<0,001
	Bomb. pós-incêndio real	28	0,75 ± 0,95	0,17	0,42	0,92	
SDMA	Bomb. pré-exposição	28	0,13 ± 0,09	0,07	0,10	0,13	0,010
	Bomb. pós-incêndio real	28	0,37 ± 0,58	0,09	0,17	0,36	
MDA	Bomb. pré-exposição	26	2,86 ± 1,71	1,77	2,51	4,16	0,001
	Bomb. pós-incêndio real	26	5,01 ± 3,04	3,06	4,18	6,60	
HNE	Bomb. pré-exposição	26	0,63 ± 0,47	0,33	0,47	0,68	<0,001
	Bomb. pós-incêndio real	26	1,82 ± 1,46	0,89	1,60	2,09	
8-isoprostano	Bomb. pré-exposição	28	3,74 ± 1,91	1,73	4,15	4,73	<0,001
	Bomb. pós-incêndio real	28	5,83 ± 2,10	4,36	5,90	6,53	
Nitrato	Bomb. pré-exposição	28	14,95 ± 12,92	3,24	7,40	30,29	0,381
	Bomb. pós-incêndio real	28	17,39 ± 16,08	4,09	8,13	35,21	

(*) Teste de Wilcoxon

Quadro 53. Valores do EBC nas amostras pós-ensaio de campo e pós-incêndio real

Ensaio de campo / incêndio real		n	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*
Arginina	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	15	19,98 ± 14,46	11,18	19,25	20,15	0,041
	Bomb. pós-incêndio real	15	39,04 ± 29,49	16,67	34,08	49,26	
Ornitina	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	15	191,03 ± 250,56	98,95	125,40	177,80	0,031
	Bomb. pós-incêndio real	15	356,6 ± 301,65	123,17	232,23	557,99	
Prolina	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	15	35,42 ± 41,94	13,40	27,73	37,38	0,017
	Bomb. pós-incêndio real	15	71,81 ± 52,48	27,99	41,68	119,14	
Hidroxi prolina	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	15	1,26 ± 1,03	0,59	0,83	1,68	0,865
	Bomb. pós-incêndio real	15	1,23 ± 0,74	0,67	1,11	1,63	
Citrulina	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	15	28,68 ± 17,07	16,24	24,40	34,36	0,061
	Bomb. pós-incêndio real	15	58,77 ± 58,37	22,85	40,90	81,55	
Isoleucina	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	15	35,42 ± 47,21	12,47	25,53	37,01	0,017
	Bomb. pós-incêndio real	15	88,37 ± 72,13	23,76	50,40	144,14	
Leucina	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	15	43,24 ± 58,68	17,05	30,24	43,15	0,020
	Bomb. pós-incêndio real	15	109,84 ± 90,48	30,16	67,64	175,27	
Tirosina	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	15	55,47 ± 68,66	22,85	50,61	53,29	0,041
	Bomb. pós-incêndio real	15	99,45 ± 77,14	38,45	70,03	147,85	
ADMA	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	15	0,34 ± 0,28	0,17	0,26	0,69	0,112
	Bomb. pós-incêndio real	15	0,59 ± 0,54	0,23	0,59	0,76	
SDMA	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	15	0,17 ± 0,10	0,13	0,15	0,28	0,394
	Bomb. pós-incêndio real	15	0,26 ± 0,31	0,09	0,17	0,26	
MDA	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	13	3,73 ± 0,75	3,75	3,75	4,21	0,016
	Bomb. pós-incêndio real	13	5,25 ± 1,69	3,84	4,85	6,94	
HNE	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	13	1,14 ± 0,63	0,67	0,76	1,65	0,009
	Bomb. pós-incêndio real	15	1,75 ± 0,66	1,07	1,84	2,29	
8-isoprostano	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	15	5,15 ± 2,74	3,19	3,97	7,37	0,156
	Bomb. pós-incêndio real	15	6,29 ± 2,20	4,82	5,93	6,62	
Nitrato	Bomb. pós-exposição (ensaio campo)	12	4,44 ± 2,55	2,60	3,39	4,95	0,060
	Bomb. pós-incêndio real	12	14,12 ± 13,54	3,96	7,08	27,89	

(*) Teste de Wilcoxon

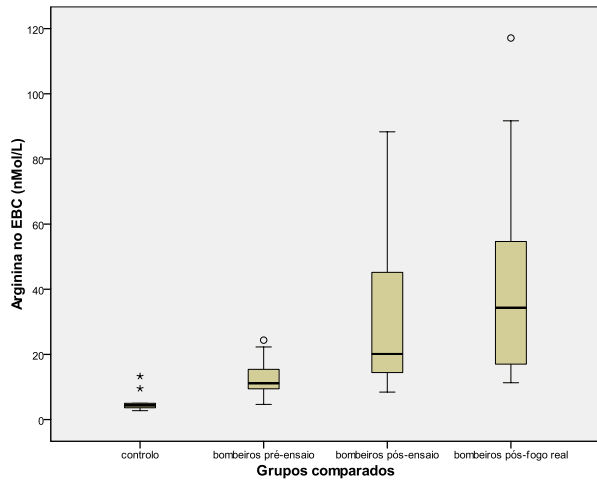


Figura 53. Arginina no EBC (Projeto FUMEXP)

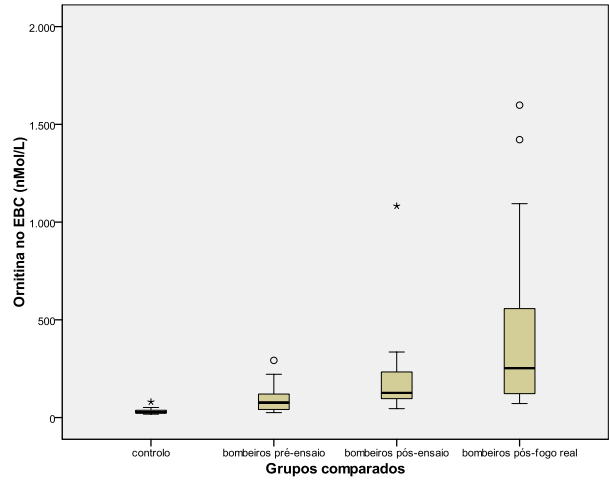


Figura 54. Ornitina no EBC (Projeto FUMEXP)

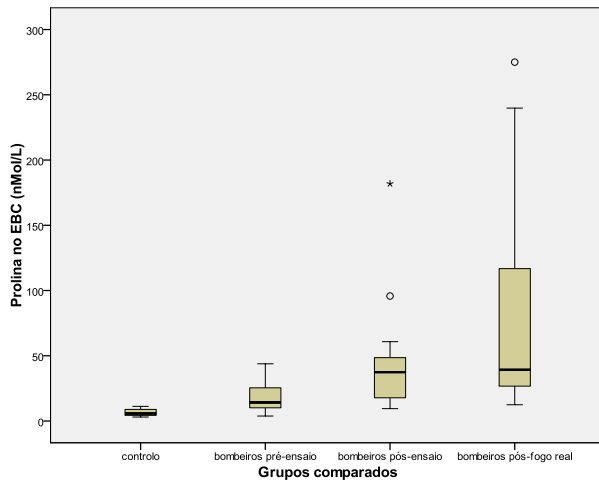


Figura 55. Prolina no EBC (Projeto FUMEXP)

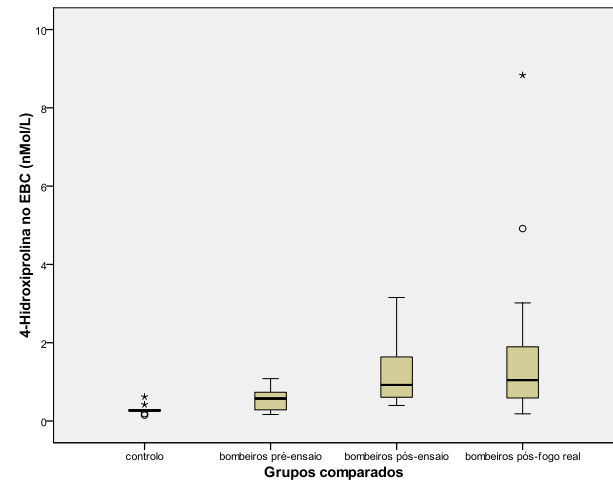


Figura 56. 4OH-prolina no EBC (Projeto FUMEXP)

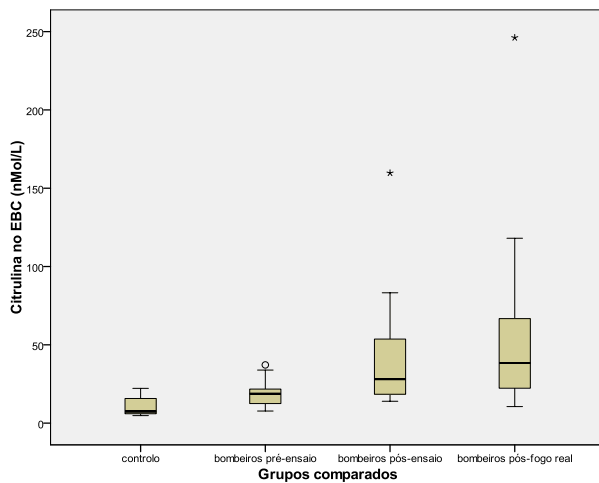


Figura 57. Citrulina no EBC (Projeto FUMEXP)

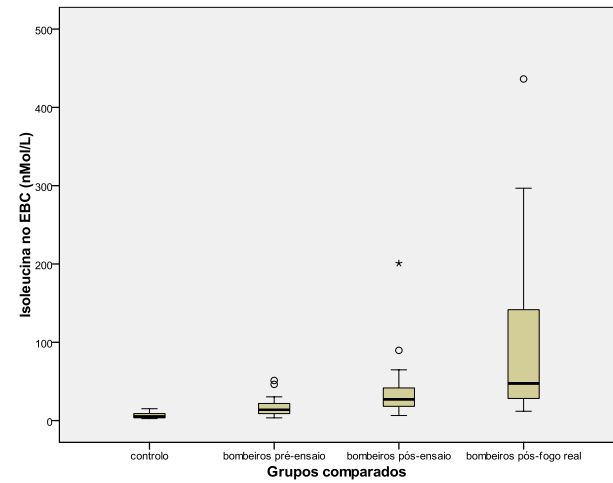


Figura 58. Isoleucina no EBC (Projeto FUMEXP)

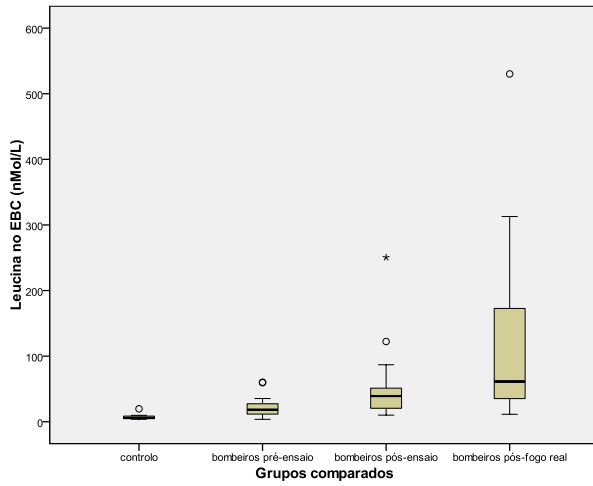


Figura 59. Leucina no EBC (Projeto FUMEXP)

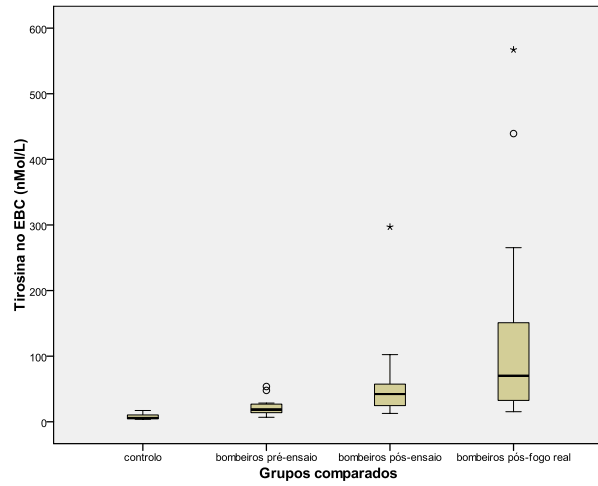


Figura 60. Tirosina no EBC (Projeto FUMEXP)

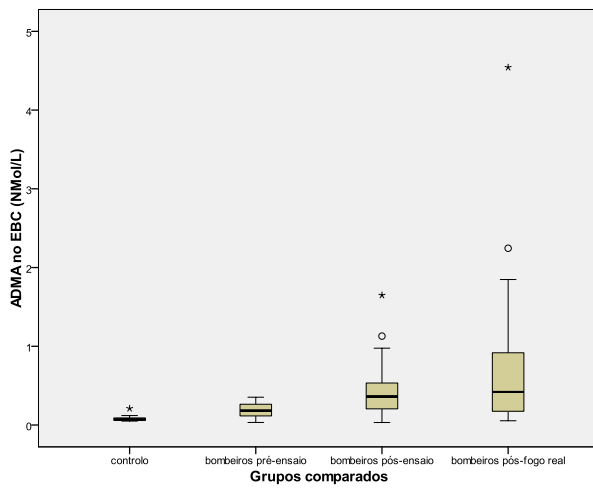


Figura 61. ADMA no EBC (Projeto FUMEXP)

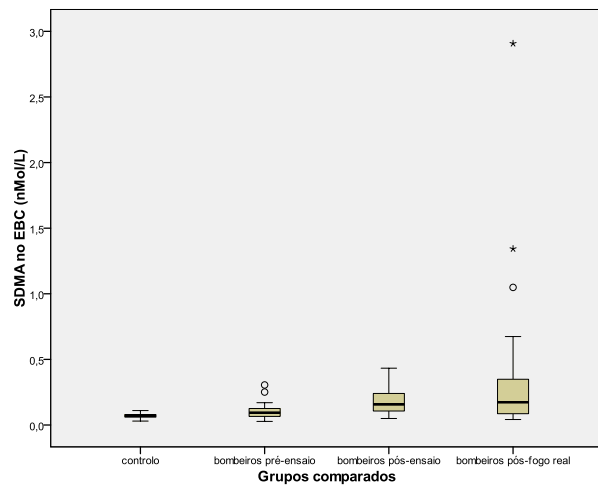


Figura 62. SDMA no EBC (Projeto FUMEXP)

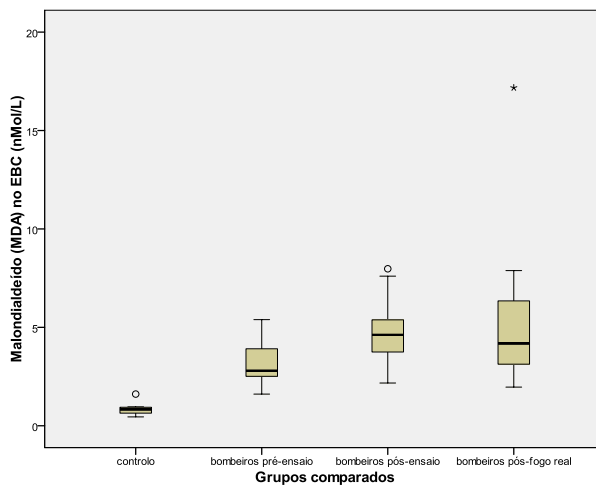


Figura 63. MDA no EBC (Projeto FUMEXP)

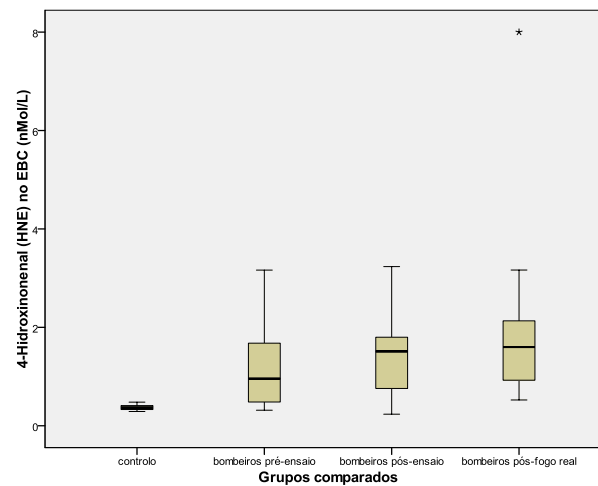


Figura 64. HNE no EBC (Projeto FUMEXP)

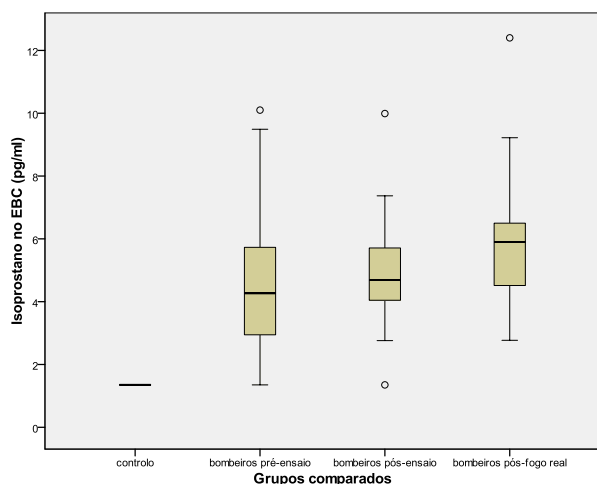


Figura 65. 8-isoprostano no EBC (Projeto FUMEXP)

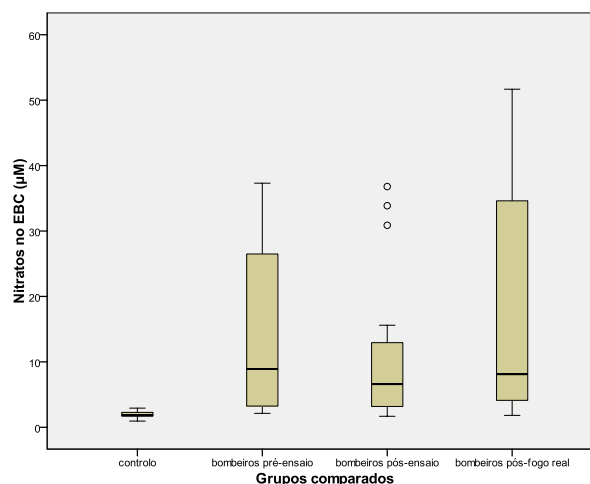


Figura 66. Nitratos no EBC (Projeto FUMEXP)

Obtiveram-se valores significativamente superiores em todos os parâmetros do EBC na amostra dos bombeiros antes da exposição, face à amostra controlo, com exceção do SDMA, que foi superior, mas de forma não significativa ($p=0,129$) (Quadro 50).

A aplicação do modelo estatístico *General Linear Model* para analisar as diferenças ajustando ao género detetou apenas perda de significância estatística para a hidroxiprolina ($p=0,109$).

Na amostra dos bombeiros obtida após a exposição nos ensaios de campo da Gestosa, todos os parâmetros do EBC foram significativamente superiores aos da amostra controlo.

Ao comparar os mesmos parâmetros nas amostras pré e pós ensaios de campo da Gestosa, observaram-se aumentos estatisticamente significativos dos parâmetros arginina ($p<0,001$), ornitina ($p=0,007$), prolina ($p=0,001$), hidroxiprolina ($p=0,004$), citrulina ($p<0,001$), isoleucina ($p=0,002$), leucina ($p=0,001$), tirosina ($p=0,001$), ADMA ($p=0,006$), SDMA ($p=0,040$) e MDA ($p=0,004$) (quadro 51).

Todos os biomarcadores do EBC, à exceção do nitrato, foram significativamente mais elevados nas amostras colhidas após incêndio real, em comparação com os valores basais, pré-exposição, dos mesmos bombeiros (Quadro 52).

Analisaram-se as potenciais diferenças entre as alterações destes parâmetros observadas após exposição em fogos reais e após a exposição nos ensaios de campo. Observaram-se valores superiores em diversos parâmetros do EBC em condições de fogo real, face aos obtidos no final dos ensaios de campo: arginina ($p=0,041$), ornitina ($p=0,031$), prolina ($p=0,07$), isoleucina ($p=0,017$), leucina ($p=0,02$), tirosina ($p=0,041$), MDA ($p=0,016$) e HNE ($p=0,009$) (Quadro 53).

Analisando potenciais correlações, através do teste de Spearman, entre os vários biomarcadores estudados, verificaram-se:

- Amostra controlo (Anexo 2; Quadro I): associações positivas entre a arginina e a prolina, a citrulina, a isoleucina, a leucina e a tirosina; entre a ornitina e a prolina, a isoleucina, a tirosina, a SDMA e o nitrato; entre a prolina e a isoleucina, a leucina e a tirosina; entre a isoleucina e a leucina e a tirosina; entre a leucina e a tirosina; entre a ADMA e a SDMA e entre a SDMA e o nitrato.

- Amostra dos bombeiros em pré-exposição (Anexo 2; Quadro II): associações positivas entre a arginina e a ornitina, a prolina, a citrulina, a isoleucina, a leucina e a tirosina; entre a ornitina e a prolina, a citrulina, a isoleucina, a leucina, a tirosina e a ADMA; entre a prolina e a citrulina, a isoleucina, a leucina, a tirosina e a ADMA; entre a citrulina e a isoleucina, a leucina e a tirosina; entre a leucina e a tirosina e a ADMA; entre a tirosina e a ADMA; entre a SDMA e a F_ENO e entre a MDA e o HNE. Associação negativa entre o nitrato e a F_ENO.

- Amostra dos bombeiros pós-ensaios de campo (Anexo 2; Quadro III): associações positivas entre a arginina e a hidroxiprolina, a prolina, a citrulina, a isoleucina, a leucina, a tirosina, a ADMA e a MDA; entre a ornitina e a prolina, a citrulina, a isoleucina, a leucina, a tirosina e os valores monitorizados de COVs totais; entre a prolina e a citrulina, a isoleucina, a leucina, a tirosina, a ADMA, o MDA e os valores monitorizados de COVs totais; entre a citrulina e a isoleucina, a leucina, a tirosina e o HNE; entre a isoleucina e a leucina, a tirosina e a ADMA; entre a leucina e a tirosina, a ADMA e o MDA; entre a tirosina e a ADMA; entre a ADMA e a SDMA; Também se observaram associações positivas entre a diferença de alguns biomarcadores entre os dois tempos de colheita (pré e pós ensaios de campo) e os valores dos monitores individuais: Δ nitrato e valores monitorizados de NO₂ e entre Δ CO exalado e valores monitorizados de PM_{2,5} (Anexo 2; Quadro IV).

- Amostra dos bombeiros pós-incêndios reais (Anexo 2; Quadro V): associações positivas entre a arginina e a ornitina, a prolina, a hidroxiprolina, a citrulina, a isoleucina, a leucina, a tirosina, a ADMA e a SDMA; entre a ornitina e a prolina, a hidroxiprolina, a citrulina, a isoleucina, a leucina, a tirosina, a ADMA e a SDMA; entre a prolina e a hidroxiprolina, a citrulina, a isoleucina, a leucina, a tirosina, a ADMA e a SDMA; entre a hidroxiprolina e a citrulina, a isoleucina, a leucina, a tirosina, a ADMA e a SDMA; entre a citrulina e a isoleucina, a leucina, a tirosina, a ADMA e a SDMA; entre a isoleucina e a leucina, a tirosina, a ADMA e a SDMA; entre a leucina e a tirosina, a ADMA e a SDMA; entre a tirosina e a ADMA e a SDMA; entre a ADMA e a SDMA e entre o 8-isoprostano e o MDA. Também se observaram associações positivas entre a diferença de alguns biomarcadores entre os dois tempos de

colheita (valores basais e pós incêndio real) e os valores dos monitores individuais: Δ prolina e valores monitorizados de COVs; e associações negativas entre Δ SDMA e valores monitorizados de CO e entre Δ MDA e valores monitorizados de NO₂ (Anexo 2; Quadro VI).

4.2 RESULTADOS NA INDÚSTRIA DO CALÇADO

4.2.1 Resultados da monitorização ocupacional individual

Foi efetuada a monitorização individual de COVs em oito das 11 trabalhadoras da amostra, durante um dia normal de trabalho, na semana em que decorreu esta fase do estudo. O equipamento utilizado foi o já previamente descrito (*GasAlertMicro 5* PID). No Quadro 54 apresentam-se os valores obtidos.

Quadro 54. COVs (média ponderada e valor máximo observado em ppm) – indústria do calçado

Trabalhador	Compostos Orgânicos Voláteis (COV)	
	Média ponderada (ppm)	valor máximo monitorizado (ppm)
1	370	1000
2	431	1000
3	95,6	780
4	286	1000
5	353	999
6	26,7	988
7	408	1000
8	263	995
Média ± DP	279,2 ± 146,9	970,3 ± 76,99
Percentil 25	137,5	989,8
Percentil 50	319,5	999,5
Percentil 75	398,5	1000

Não obstante não haver legislação específica sobre valores limite de COVs totais, verificaram-se valores médios elevados e valores máximos muito próximos ou mesmo no limite de deteção do equipamento (1000 ppm). A título ilustrativo, apresentam-se nas Figuras 67 e 68 os registos relativos a esta monitorização da trabalhadora 8.

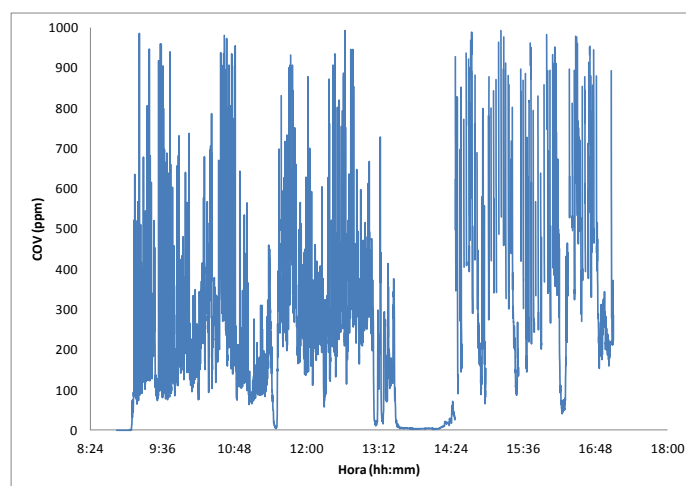


Figura 67. Registo dos valores instantâneos de COVs totais da trabalhadora 8

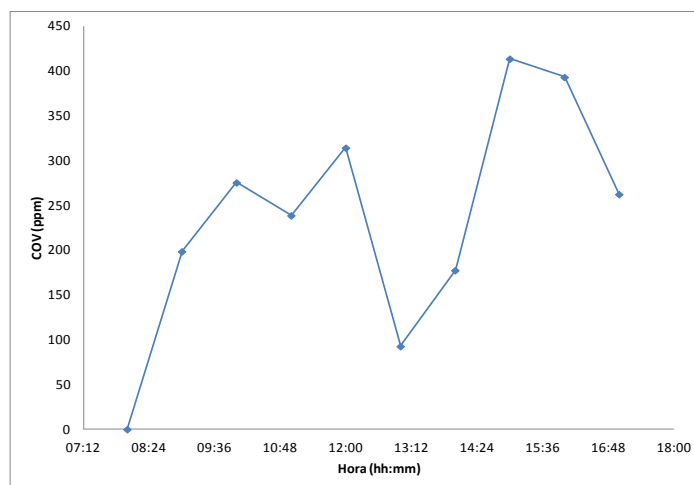


Figura 68. Registo das médias horárias de COVs totais da trabalhadora 8

Na sequência da política de Segurança e Saúde da empresa em questão e por forma a proceder a melhorias nas condições de trabalho, foi realizada uma avaliação global (mas com particular detalhe nestes postos de trabalho), por uma entidade laboratorial externa autorizada pela Autoridade para as Condições do Trabalho (ACT), sendo para o efeito, utilizadas as metodologias preconizadas na Norma Portuguesa NP1796:2007 e Decreto-Lei n.º 24/2012, de 6 de fevereiro. Um dos objetivos dessa monitorização foi precisamente conhecer quais os potenciais COVs específicos presentes em maior quantidade nestes postos de trabalho. No Quadro 55 apresentam-se os resultados que nos foram fornecidos.

Quadro 55. Concentrações obtidas em locais de trabalho relevantes – indústria do calçado

Local	Parâmetro						
	Acetato de etilo (ppm)	Acetona (ppm)	Etileno glicol (mg/m ³)	Metilacetona (ppm)	n-hexano (ppm)	Percloroetileno (ppm)	Tolueno (ppm)
P1A	36,7	42,5	>105	52,5	<0,6 ^(a)	13,7	5,2
P1B	10,5	30	---	---	---	---	2,1
P3	---	---	---	---	---	37,8 (>105) ^(b)	---
VLE DL 24/2012	VLE-MP	500	20	---	20	---	50
	VLE-CD	---	---	40	---	---	100
VLE NP 1796	VLE-MP	400	500	100	200	50	50
	VLE-CD	---	---	---	300	50	---
Base do VLE ^(c)	IO	IO	IO	TR	IO	SNC	IO
	TR	TR	TR	SN	SNC		TR
	EH	EH		SNC	NP		SNC
	SNC	SNC					

^{a)} Resultado abaixo do limite de deteção; ^{b)} Valor obtido no posto de trabalho com a porta da máquina de lavar fechada, com indicação do máximo observado entre parêntesis que corresponde à abertura da porta da máquina de lavar após o processo de limpeza. ^{c)} Legenda dos valores da "Base do VLE": IO - Irritação ocular; TRS - Irritação do trato respiratório superior; EH - Efeitos hematológicos; SNC - Afetação do sistema nervoso central; SNP - Afetação do sistema nervoso periférico; NP - Neuropatia periférica e FP - Função pulmonar.

Concentração obtida > VLE-MP ou VLE-CM
 Concentração obtida < VLE-MP ou VLE-CM e ≥ NA
 Concentração obtida ≤ nível de ação (metade do VLE/MP)

Em função destes resultados, a empresa procedeu a alterações organizacionais e estruturais que visaram a melhoria progressiva das condições de trabalho e a diminuição dos riscos químicos inerentes.

4.2.2 Avaliação não invasiva dos parâmetros de saúde

4.2.2.1 Espirometria

Foi realizada espirometria a toda a amostra, de acordo com as recomendações mencionadas no Capítulo “Material e Métodos”, antes do início do primeiro dia semanal de trabalho e no final do último dia semanal de trabalho. No Quadro 56 e 57 na Figura 69 apresentam-se os resultados obtidos.

Quadro 56. Valores das espirometrias da amostra controlo e da amostra industrial, pré-trabalho

		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *	<i>p</i> +
FEV1	controlo	9	104,22 ± 7,29	98,00	104,00	110,00	0,941	n.a.
	pré-trabalho	11	107,27 ± 16,38	94,00	104,00	125,00		
CVF	controlo	9	98,00 ± 8,43	90,00	95,00	107,00	0,261	n.a.
	pré-trabalho	11	108,09 ± 18,97	95,00	104,00	120,00		
DEMI	controlo	9	104,89 ± 18,66	89,00	100,00	113,50	0,012	0,117
	pré-trabalho	11	85,82 ± 13,73	72,00	87,00	95,00		
FEV1/CVF	controlo	9	109,67 ± 5,29	104,50	109,00	114,50	0,152	n.a.
	pré-trabalho	11	105,36 ± 6,87	99,00	105,00	110,00		
DEM ₅₀	controlo	9	108,67 ± 20,54	87,50	114,00	120,50	0,201	n.a.
	pré-trabalho	11	94,91 ± 18,82	84,00	91,00	110,00		
DEM ₂₅	controlo	9	104,22 ± 21,15	82,50	111,00	112,50	0,031	0,625
	pré-trabalho	11	72,18 ± 28,28	48,00	62,00	97,00		
DEM ₂₅₋₇₅	controlo	9	104,44 ± 19,28	86,00	104,00	114,00	0,046	0,91
	pré-trabalho	11	84,73 ± 23,54	69,00	75,00	99,00		

(*) Teste U de Mann-Whitney

(+) General Linear Model (foi feito o ajuste à idade e/ou ao género)

n.a.: não aplicável

Quadro 57. Valores das espirometrias da amostra industrial, pré e pós-trabalho

		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
FEV1	pré-trabalho	11	107,27 ± 16,38	94,00	104,00	125,00	0,006
	pós-trabalho	11	102,64 ± 17,32	91,00	101,00	123,00	
CVF	pré-trabalho	11	108,09 ± 18,97	95,00	104,00	120,00	0,005
	pós-trabalho	11	101,73 ± 15,62	92,00	99,00	112,00	
DEMI	pré-trabalho	11	85,82 ± 13,73	72,00	87,00	95,00	0,168
	pós-trabalho	11	92,36 ± 14,25	91,00	93,00	103,00	
FEV1/CVF	pré-trabalho	11	105,36 ± 6,87	99,00	105,00	110,00	0,507
	pós-trabalho	11	106,55 ± 6,06	101,00	106,00	111,00	
DEM ₅₀	pré-trabalho	11	94,91 ± 18,82	84,00	91,00	110,00	0,286
	pós-trabalho	11	91,00 ± 22,39	78,00	91,00	109,00	
DEM ₂₅	pré-trabalho	11	72,18 ± 28,28	48,00	62,00	97,00	0,610
	pós-trabalho	11	73,27 ± 31,73	43,00	68,00	94,00	
DEM ₂₅₋₇₅	pré-trabalho	11	84,73 ± 23,54	69,00	75,00	99,00	1,000
	pós-trabalho	11	82,18 ± 22,32	64,00	80,00	100,00	

(*) Teste de Wilcoxon

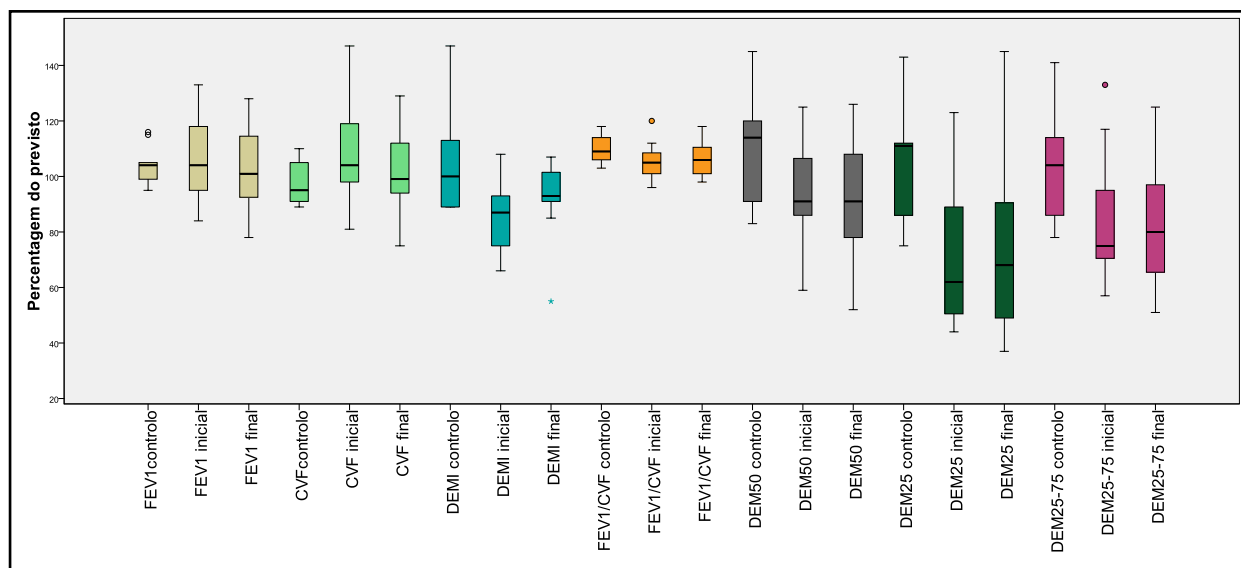


Figura 69. Espirometria das amostras controlo e indústria do calçado no início e final do período semanal de trabalho

Comparativamente à amostra controlo, os valores iniciais dos parâmetros da amostra industrial DEMI ($p=0,012$), DEM₂₅ ($p=0,031$) e DEM₂₅₋₇₅ ($p=0,046$) foram significativamente mais baixos. Contudo, após a aplicação do modelo estatístico *General Linear Model* para controlar os vieses potenciais induzidos pelo género e/ou idade, não houve diferenças significativas.

Observou-se diminuição estatisticamente significativa entre o início e o final da semana de trabalho para os parâmetros espirométricos FEV₁ ($p=0,006$) e CVF ($p=0,005$).

4.2.2.2 F_ENO

Foram analisados os valores da F_ENO no início e no final da semana de trabalho e comparados com a amostra controlo (Quadros 58 e 59 e Figura 70).

Quadro 58. Valores da F_ENO na amostra controlo e na amostra industrial pré-trabalho

		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
F _E NO	controlo	9	15,67 ± 10,04	9,00	11,00	21,50	0,152
	pré-trabalho	11	12,82 ± 11,01	5,00	8,00	19,00	

(*) Teste de Mann-Whitney

Quadro 59. Valores da F_ENO na amostra industrial pré e pós-trabalho

		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
F _E NO	pré-trabalho	11	12,82 ± 11,01	5,00	8,00	19,00	0,227
	pós-trabalho	11	13,91 ± 9,61	8,00	10,00	18,00	

(*) Teste de Wilcoxon

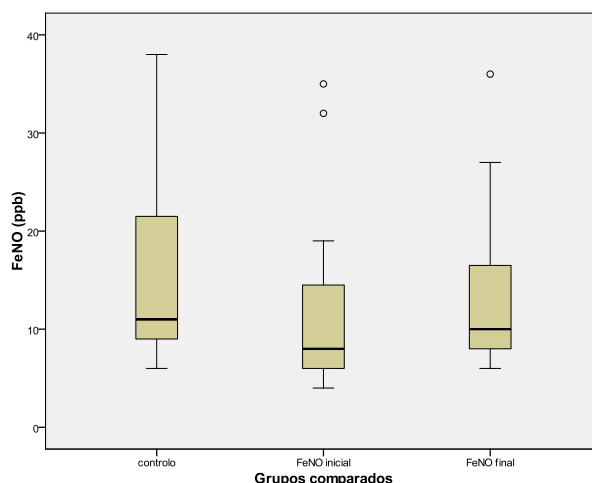


Figura 70. $F_{E}NO$ na amostra controlo e no início e final do período semanal de trabalho na indústria do calçado

Não houve diferenças significativas entre a amostra controlo e a amostra industrial, antes do início do trabalho. Entre o início e o final da semana de trabalho observou-se uma subida não significativa da $F_{E}NO$ ($p=0,227$).

4.2.2.3 Análises do condensado brônquico (EBC)

Toda a amostra da indústria do calçado efetuou duas determinações de EBC, antes do início e no final do período semanal de trabalho. Nos Quadros 60 e 61 e nas Figuras 71 a 84 apresentam-se os resultados.

Quadro 60. Valores do EBC nas amostras controlo e industrial pré-trabalho

		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *	<i>p</i> +
Arginina	controlo	9	5,58 ± 3,50	3,51	4,36	7,26	0,112	n.a.
	pré-trabalho	11	7,61 ± 3,23	4,66	7,54	9,51		
Ornitina	controlo	9	34,67 ± 19,92	22,20	26,51	44,51	0,020	0,015
	pré-trabalho	11	80,95 ± 68,13	41,33	54,12	80,83		
Prolina	controlo	9	6,37 ± 2,88	4,08	5,77	9,25	0,201	n.a.
	pré-trabalho	11	11,93 ± 9,48	5,96	8,09	15,22		
Hidroxiprolina	controlo	9	0,31 ± 0,14	0,22	0,27	0,36	0,056	n.a.
	pré-trabalho	11	0,49 ± 0,24	0,34	0,46	0,58		
Citrulina	controlo	9	10,93 ± 6,89	5,96	7,46	18,50	0,766	n.a.
	pré-trabalho	11	12,17 ± 6,33	6,19	12,35	17,26		
Isoleucina	controlo	9	6,49 ± 4,05	3,45	5,19	9,30	0,152	n.a.
	pré-trabalho	11	12,73 ± 10,73	4,16	10,20	15,82		
Leucina	controlo	9	7,60 ± 4,98	4,53	5,93	9,26	0,080	n.a.
	pré-trabalho	11	16,02 ± 12,95	7,38	10,83	24,21		
Tirosina	controlo	9	7,64 ± 4,43	4,31	5,90	10,68	0,095	n.a.
	pré-trabalho	11	26,01 ± 35,28	6,86	10,53	33,64		
ADMA	controlo	9	0,09 ± 0,05	0,06	0,07	0,11	0,003	0,048
	pré-trabalho	11	0,18 ± 0,09	0,11	0,14	0,20		
SDMA	controlo	9	0,07 ± 0,02	0,06	0,07	0,09	0,004	0,006
	pré-trabalho	11	0,12 ± 0,05	0,10	0,11	0,15		
MDA	controlo	9	0,84 ± 0,34	0,60	0,83	0,95	0,001	0,11
	pré-trabalho	9	1,56 ± 0,48	1,16	1,39	2,09		
HNE	controlo	9	0,38 ± 0,06	0,32	0,37	0,43	0,113	n.a.
	pré-trabalho	9	0,52 ± 0,21	0,36	0,47	0,63		
8-isoprostano	controlo	9	1,35 ± 0	1,35	1,35	1,35	0,278	n.a.
	pré-trabalho	10	1,98 ± 1,07	1,35	1,35	2,97		
Nitrato	controlo	9	1,87 ± 0,62	1,39	1,84	2,28	0,766	n.a.
	pré-trabalho	11	1,64 ± 0,78	0,99	1,88	2,10		

(*) Teste U de Mann-Whitney

(+) General Linear Model (foi feito o ajuste à idade e/ou ao genero)

Obtiveram-se valores significativamente superiores dos seguintes parâmetros da amostra industrial antes da exposição ocupacional, face à amostra controlo: ornitina ($p=0,02$), ADMA ($p=0,003$), SDMA ($p=0,004$) e MDA ($p=0,001$). Este último valor perdeu a significância estatística após o ajustamento para a idade através do modelo *General Linear Model*.

Quadro 61. Valores do EBC na amostra industrial, pré e pós-trabalho

		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
Arginina	pré-trabalho	11	7,61 ± 3,23	4,66	7,54	9,51	0,050
	pós-trabalho	11	14,39 ± 11,06	7,67	10,23	15,56	
Ornitina	pré-trabalho	11	80,95 ± 68,13	41,33	54,12	80,83	0,374
	pós-trabalho	11	101,22 ± 49,78	45,91	118,20	141,58	
Prolina	pré-trabalho	11	11,93 ± 9,48	5,96	8,09	15,22	0,155
	pós-trabalho	11	17,18 ± 7,97	10,52	16,54	25,02	
Hidroxi prolina	pré-trabalho	11	0,49 ± 0,24	0,34	0,46	0,58	0,110
	pós-trabalho	11	0,63 ± 0,21	0,39	0,67	0,74	
Citrulina	pré-trabalho	11	12,17 ± 6,33	6,19	12,35	17,26	0,041
	pós-trabalho	11	27,56 ± 27,29	11,61	13,66	30,89	
Isoleucina	pré-trabalho	11	12,73 ± 10,73	4,16	10,20	15,82	0,286
	pós-trabalho	11	16,18 ± 9,18	8,50	13,21	24,77	
Leucina	pré-trabalho	11	16,02 ± 12,95	7,38	10,83	24,21	0,374
	pós-trabalho	11	20,47 ± 10,49	11,69	23,54	29,90	
Tirosina	pré-trabalho	11	26,01 ± 35,28	6,86	10,53	33,64	0,328
	pós-trabalho	11	23,79 ± 10,34	11,53	26,21	33,35	
ADMA	pré-trabalho	11	0,18 ± 0,09	0,11	0,14	0,20	0,328
	pós-trabalho	11	0,23 ± 0,17	0,14	0,17	0,29	
SDMA	pré-trabalho	11	0,12 ± 0,05	0,10	0,11	0,15	0,021
	pós-trabalho	11	0,21 ± 0,13	0,11	0,16	0,36	
MDA	pré-trabalho	8	1,61 ± 0,48	1,21	1,44	2,14	1,000
	pós-trabalho	8	1,68 ± 0,92	1,24	1,37	1,61	
HNE	pré-trabalho	8	0,52 ± 0,22	0,36	0,44	0,68	0,779
	pós-trabalho	8	0,53 ± 0,28	0,37	0,39	0,65	
8-isoprostano	pré-trabalho	10	1,98 ± 1,07	1,35	1,35	2,97	0,917
	pós-trabalho	10	2,13 ± 0,83	1,35	2,07	2,82	
Nitrato	pré-trabalho	11	1,64 ± 0,78	0,99	1,88	2,10	0,026
	pós-trabalho	11	3,59 ± 3,63	2,14	2,50	2,99	

(*) Teste de Wilcoxon

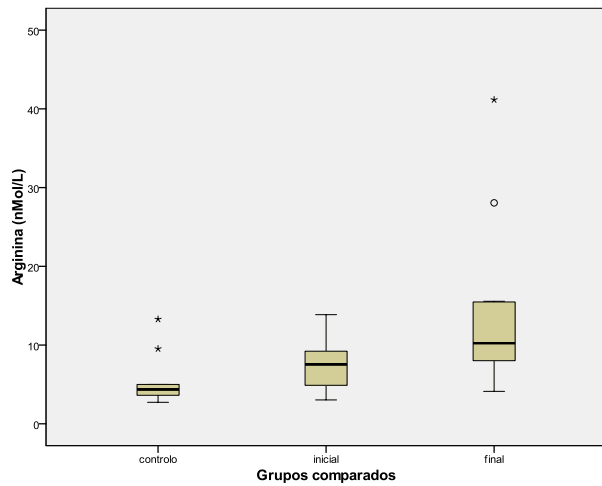


Figura 71. Arginina no EBC (indústria do calçado)

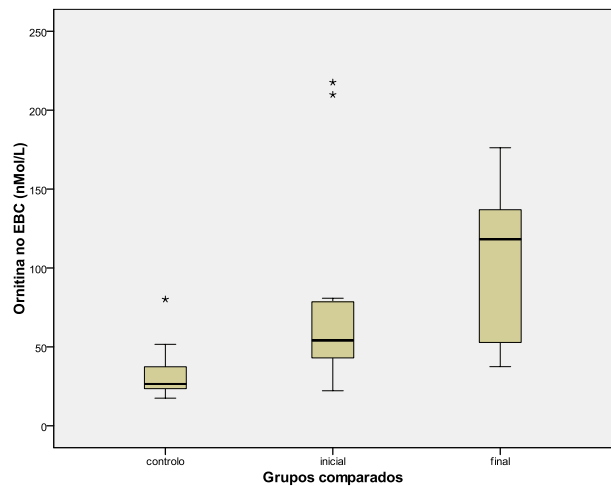


Figura 72. Ornitina no EBC (indústria do calçado)

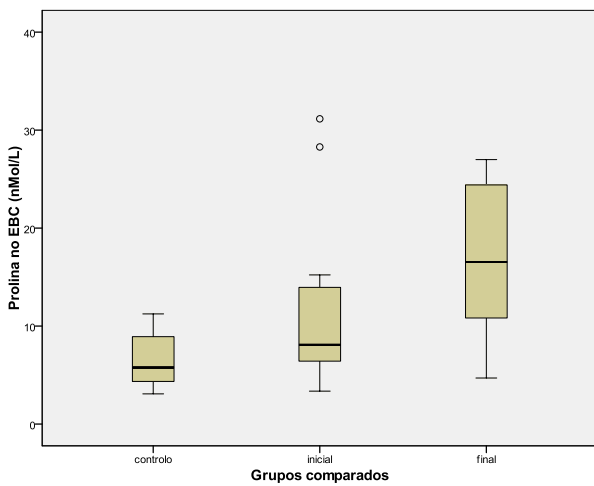


Figura 73. Prolina no EBC (indústria do calçado)

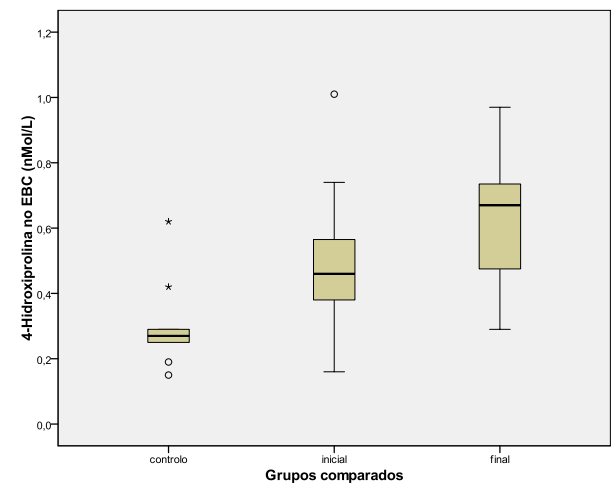


Figura 74. Hidroxiprolina no EBC (indústria do calçado)

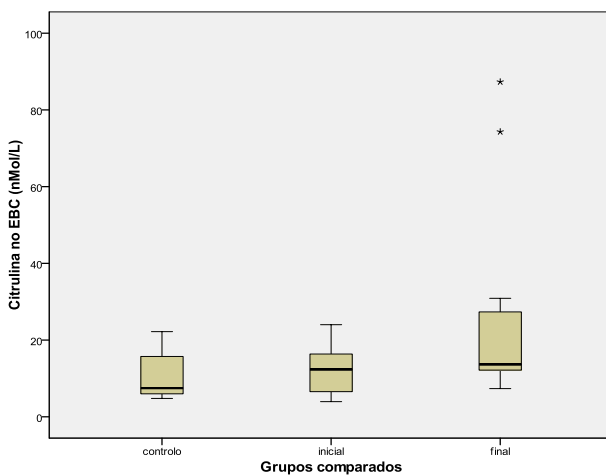


Figura 75. Citrulina no EBC (indústria do calçado)

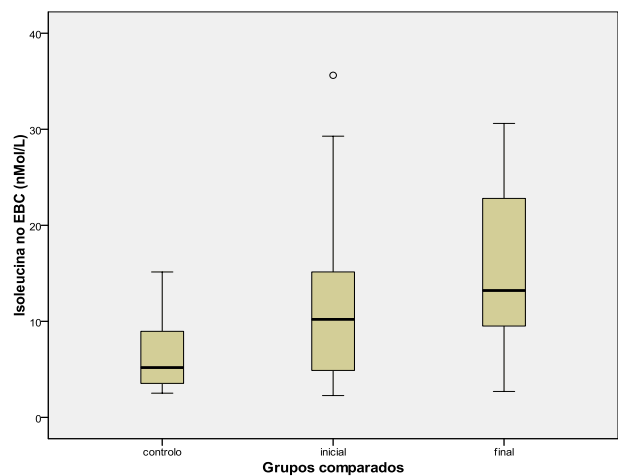


Figura 76. Isoleucina no EBC (indústria do calçado)

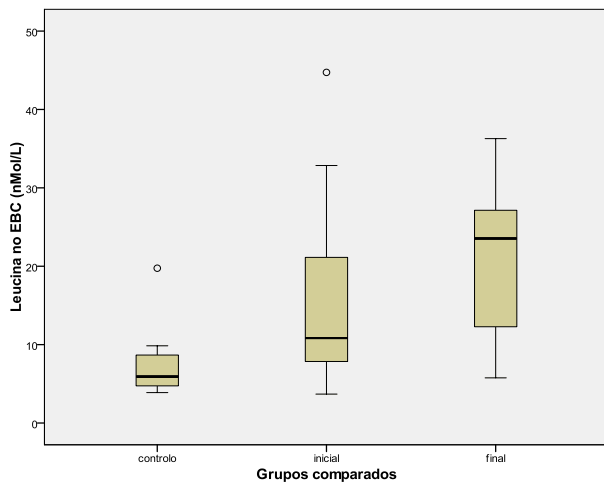


Figura 77. Leucina no EBC (indústria do calçado)

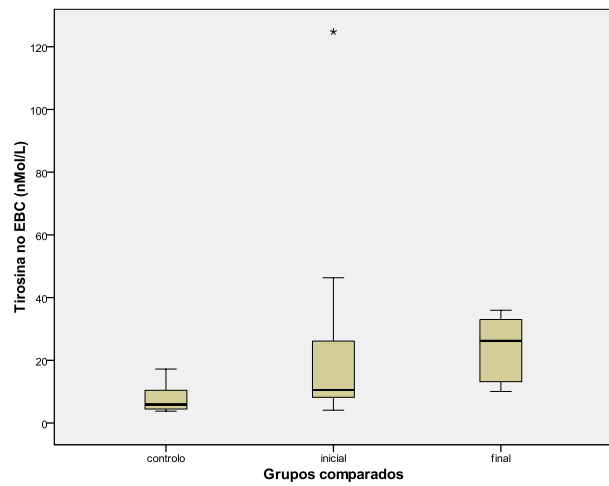


Figura 78. Tirosina no EBC (indústria do calçado)

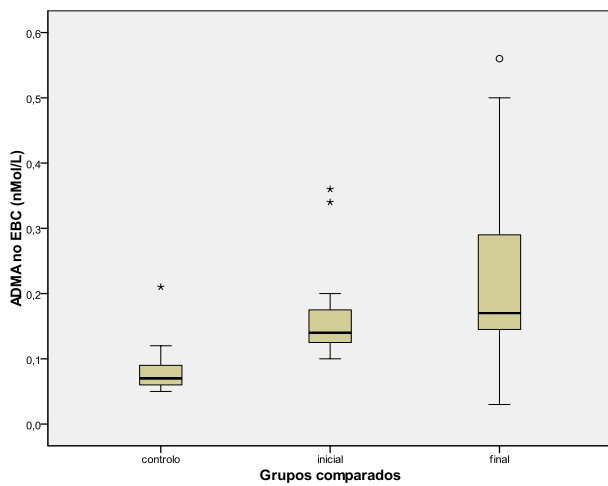


Figura 79. ADMA no EBC (indústria do calçado)

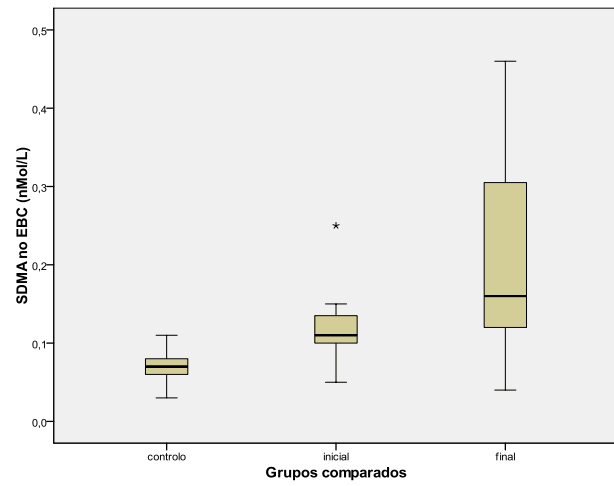


Figura 80. SDMA no EBC (indústria do calçado)

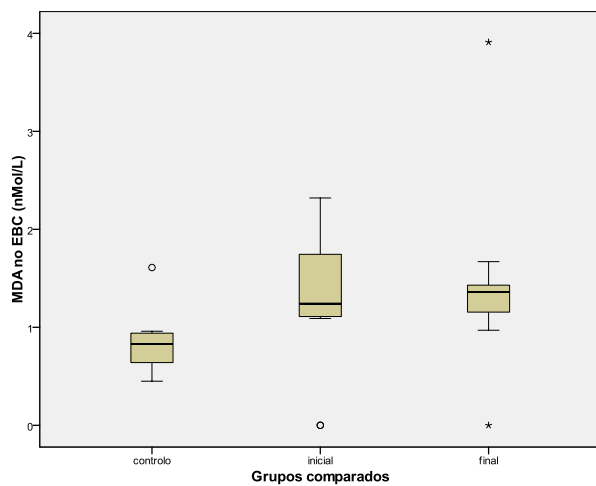


Figura 81. MDA no EBC (indústria do calçado)

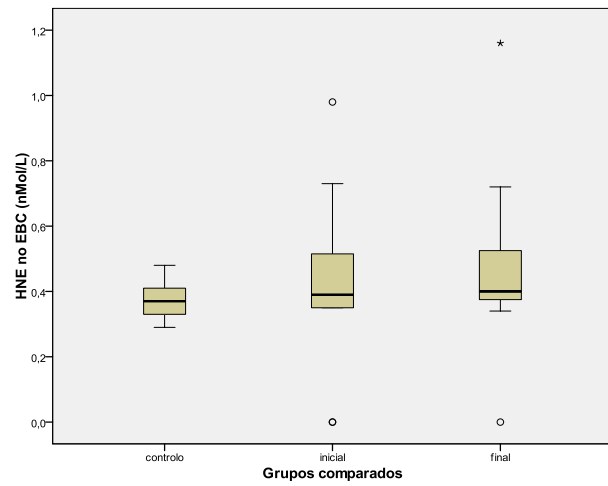


Figura 82. HNE no EBC (indústria do calçado)

RESULTADOS

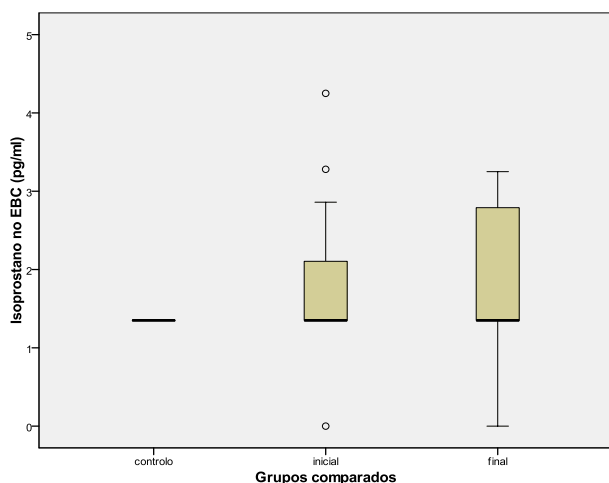


Figura 83. 8-isoprostano no EBC (indústria do calçado)

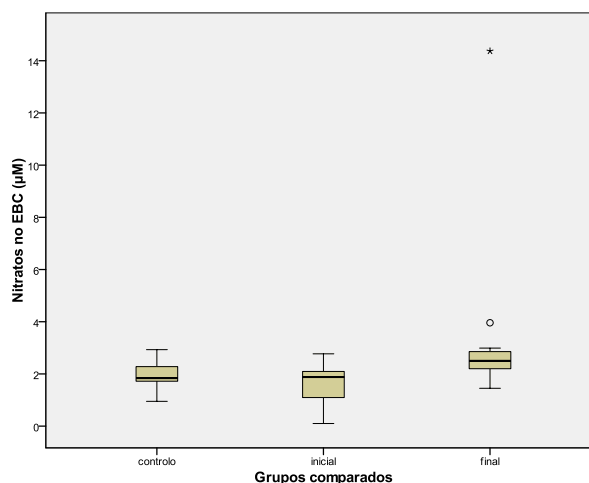


Figura 84. Nitratos no EBC (indústria do calçado)

Obtiveram-se valores significativamente superiores na amostra industrial, no final do período de trabalho face à mesma amostra antes do início de trabalho relativamente aos parâmetros citrulina ($p=0,041$), SDMA ($p=0,021$) e nitrato ($p=0,026$). Note-se que todos os outros valores determinados (exceto a tirosina) subiram entre os dois pontos de medição, embora sem significado estatístico.

Analisando potenciais correlações através do teste de Spearman, entre os vários biomarcadores estudados, verificaram-se:

- Amostra em pré-exposição (Anexo 2; quadro VII): associações positivas entre a arginina e a prolina, a citrulina, a tirosina, a ADMA e a SDMA; entre a ornitina e a prolina, a citrulina, a isoleucina, a leucina e a tirosina; entre a prolina e a citrulina, a isoleucina, a leucina, a tirosina e a ADMA; entre a citrulina e a isoleucina e a leucina; entre a isoleucina e a leucina; entre a leucina e a tirosina; entre a tirosina e a ADMA e a SDMA; entre a ADMA e o 8-isoprostano; entre o MDA e o HNE e associação negativa entre o HNE e a $F_{E}NO$.

- Amostra em pós-exposição (Anexo 2; quadro VIII): associações positivas entre a arginina e a ornitina, a prolina, a hidroxiprolina, a citrulina, a isoleucina e a tirosina; entre a ornitina e a prolina, a citrulina, a isoleucina e a leucina; entre a prolina e a citrulina, a isoleucina, a leucina e a tirosina; entre a hidroxiprolina e a citrulina, a isoleucina, a leucina e o HNE; entre a citrulina e a isoleucina, a leucina e a tirosina; entre a isoleucina e a leucina e a tirosina; entre a leucina e a tirosina; entre a ADMA e a SDMA e o HNE; entre a SDMA e o HNE; entre o MDA e o HNE. Também se observaram associações positivas entre a diferença de alguns biomarcadores entre os dois tempos de colheita (pré e pós-exposição) e os valores dos monitores individuais: $\Delta ADMA$ e valores monitorizados de COVs-pico e entre $\Delta 8$ -isoprostano e valores monitorizados de COVs-média ponderada (Anexo 2; quadro IX).

4.3 RESULTADOS NA INDÚSTRIA DOS PLÁSTICOS

4.3.1 Resultados da monitorização ocupacional individual

Foi efetuada a monitorização individual de COVs nos oito trabalhadores da amostra, durante um dia normal de trabalho, na semana em que decorreu esta fase do projeto. O equipamento utilizado foi já previamente descrito (*GasAlertMicro 5* PID).

No Quadro 62 apresentam-se os valores obtidos.

Quadro 62. COVs totais monitorizados na amostra da indústria dos plásticos

Trabalhador	Compostos Orgânicos Voláteis (COV)	
	Média ponderada (ppm)	valor máximo monitorizado (ppm)
1	13	756
2	11	856
3	45	986
4	9	548
5	10	701
6	15	976
7	34	977
8	43	808
Média ± DP	22,5 ± 15,47	826 ± 155,8
Percentil 25	10,25	714,8
Percentil 50	14	832
Percentil 75	40,75	976,8

Observaram-se valores de pico elevados, contudo com médias ponderadas significativamente menores do que as observadas na indústria do calçado ($p=0,002$; Teste U de Mann Whitney).

A título ilustrativo, apresentam-se nas Figuras 85 e 86, os registos relativos a esta monitorização para o trabalhador 7.

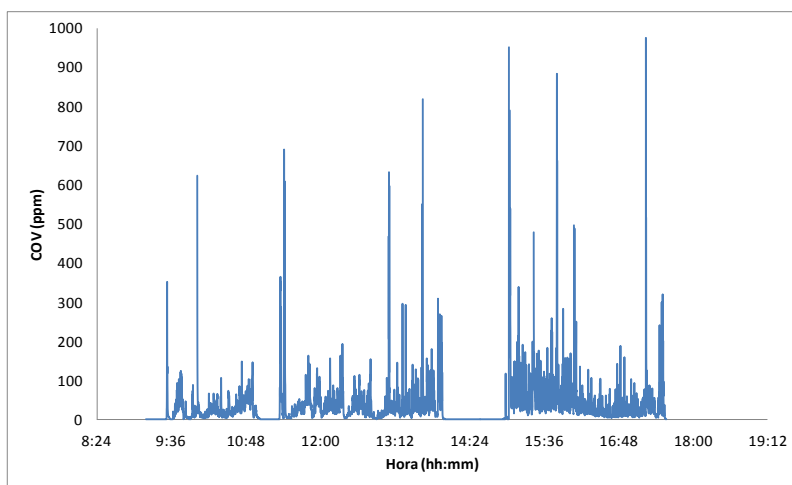


Figura 85. Registo dos valores instantâneos de COVs totais do trabalhador 7

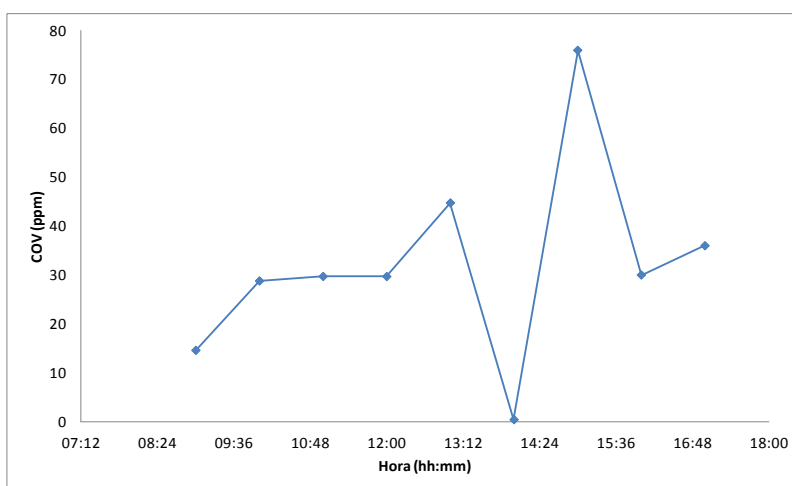


Figura 86. Registo das médias horárias de COVs totais do trabalhador 7

Tal como já tinha ocorrido na empresa do ramo do calçado, a realização deste projeto motivou, também, por parte dos Serviços de Saúde e Segurança nesta empresa, a solicitação da monitorização química detalhada a uma entidade externa acreditada. Os dados que nos foram fornecidos apresentam-se no Quadro 63.

Quadro 63. Concentrações obtidas em locais de trabalho relevantes – indústria dos plásticos

Local	Parâmetro										
	Acetato de etilo (mg/m ³)	Acetona (mg/m ³)	Tricloroetileno (mg/m ³)	Diclorometano (mg/m ³)	n-hexano (mg/m ³)	Xileno (m, o, p) (mg/m ³)	Ciclohexanona (mg/m ³)	Acetato de 2-Butoxietilo (mg/m ³)	1,1,1-Tricloroetano (mg/m ³)	Tolueno (mg/m ³)	
Posto 1	< 2,1	< 5,9	< 0,70	< 2,10	< 2,8	< 0,48	< 2,1	1,59	< 0,70	61	
Posto 2	NR	NR	NR	NR	NR	4,9	NR	NR	NR	NR	
VLE: DL 24/2012	VLE-MP	NA	1 210	NA	NA	72	221	40,8	133	555	192
VLE: NP 1796	VLE-MP	1441	1187	54	174	176	434	80	131	1910	75

NA: Não aplicável. NR: não realizado

Concentração obtida $\geq 1/2$ VLE-MP e < VLE-MP

Concentração obtida \leq nível de ação (metade do VLE/MP)

4.3.2 Avaliação não invasiva dos parâmetros de saúde

4.3.2.1 Espirometria

Foi realizada espirometria a toda a amostra, de acordo com as recomendações mencionadas no Capítulo “Material e Métodos”, antes do início do primeiro dia semanal de trabalho e no final do último dia semanal de trabalho.

Nos Quadros 64 e 65 e na Figura 87 apresentam-se os resultados obtidos.

Quadro 64. Valores das espirometrias da amostra controlo e da amostra industrial, pré-trabalho

		n	Média \pm DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	p*	p+
FEV1	controlo	9	104,22 \pm 7,29	98,00	104,00	110,00	0,888	n.a.
	pré-trabalho	8	102,63 \pm 8,43	93,25	105,50	109,00		
CVF	controlo	9	98,00 \pm 8,43	90,00	95,00	107,00	0,606	n.a.
	pré-trabalho	8	101,88 \pm 11,03	90,00	105,00	108,75		
DEMI	controlo	9	104,89 \pm 18,66	89,00	100,00	113,50	0,888	n.a.
	pré-trabalho	8	100,13 \pm 19,19	87,00	95,00	121,00		
FEV1/CVF	controlo	9	109,67 \pm 5,29	104,50	109,00	114,50	0,059	0,046
	pré-trabalho	8	104,25 \pm 3,81	101,00	106,00	106,75		
DEM ₅₀	controlo	9	108,67 \pm 20,54	87,50	114,00	120,50	0,093	0,051
	pré-trabalho	8	91,00 \pm 11,82	79,25	91,00	102,50		
DEM ₂₅	controlo	9	104,22 \pm 21,15	82,50	111,00	112,50	0,008	0,027
	pré-trabalho	8	75,13 \pm 14,05	66,25	71,50	91,00		
DEM ₂₅₋₇₅	controlo	9	104,44 \pm 19,28	86,00	104,00	114,00	0,036	0,057
	pré-trabalho	8	86,50 \pm 11,16	76,25	86,50	96,50		

(*) Teste U de Mann-Whitney

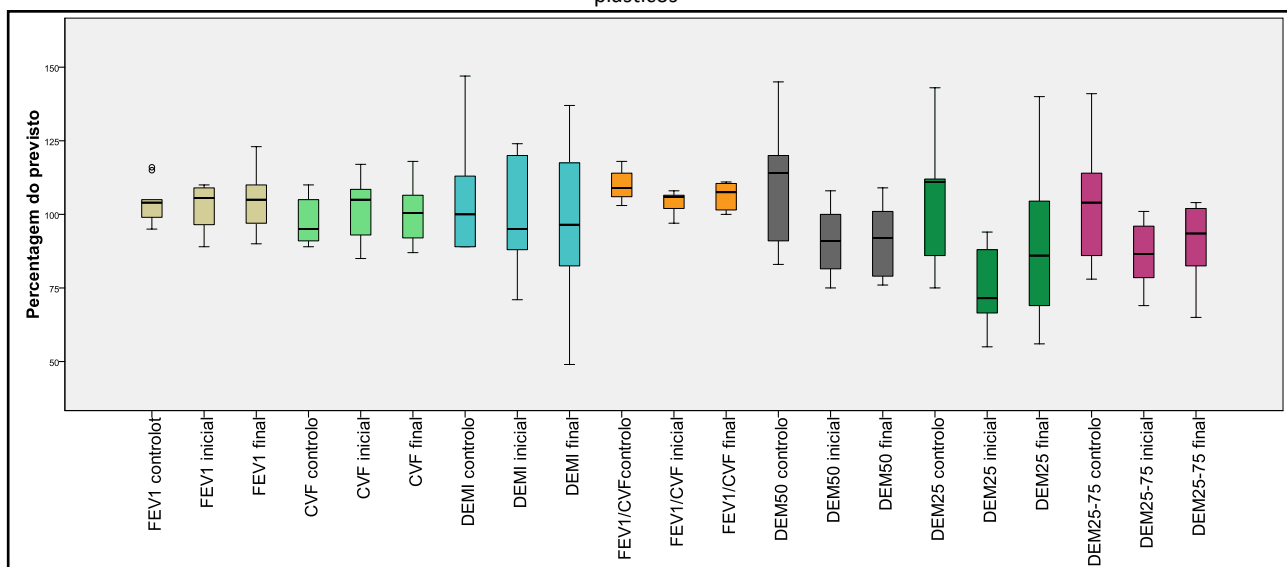
(+) General Linear Model (foi feito o ajuste à idade)

Quadro 65. Valores das espirometrias da amostra industrial, pré e pós-trabalho

		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
FEV1	pré-trabalho	8	102,63 ± 8,43	93,25	105,50	109,00	0,931
	pós-trabalho	8	102,75 ± 8,24	94,75	104,50	109,75	
CVF	pré-trabalho	8	101,88 ± 11,03	90,00	105,00	108,75	0,260
	pós-trabalho	8	100,38 ± 10,08	91,50	100,50	106,75	
DEMI	pré-trabalho	8	100,13 ± 19,19	87,00	95,00	121,00	0,799
	pós-trabalho	8	97,38 ± 27,76	78,25	96,50	120,75	
FEV1/CVF	pré-trabalho	8	104,25 ± 3,81	101,00	106,00	106,75	0,091
	pós-trabalho	8	106,25 ± 4,59	101,25	107,50	110,75	
DEM ₅₀	pré-trabalho	8	91,00 ± 11,82	79,25	91,00	102,50	0,674
	pós-trabalho	8	91,13 ± 12,30	78,50	92,00	101,00	
DEM ₂₅	pré-trabalho	8	75,13 ± 14,05	66,25	71,50	91,00	0,233
	pós-trabalho	8	89,38 ± 26,80	68,00	86,00	104,75	
DEM ₂₅₋₇₅	pré-trabalho	8	86,50 ± 11,16	76,25	86,50	96,50	0,176
	pós-trabalho	8	90,63 ± 14,14	78,25	93,50	103,00	

(*) Teste de Wilcoxon

Figura 87. Espirometria da amostra controlo e no início e final do período semanal de trabalho na indústria dos plásticos



Comparativamente à amostra controlo, a primeira medição da amostra industrial só apresentou valores significativamente mais baixos nos parâmetros DEM₂₅ ($p=0,008$) e de DEM₂₅₋₇₅ ($p=0,036$). Não se observaram diferenças significativas entre os valores dos parâmetros avaliados nas espirometrias inicial e final da amostra industrial.

A aplicação do modelo estatístico *General Linear Model* para analisar as diferenças potenciais induzidas pela idade das amostras detetou apenas perda de significância estatística para o DEM₂₅₋₇₅ face ao controlo ($p=0,057$); o modelo forneceu contudo significado estatístico para FEV₁/CVF ($p=0,046$) face ao controlo.

4.3.2.2 F_ENO

Foram analisados os valores da F_ENO no início e no final da semana de trabalho e comparados com a amostra controlo (Quadros 66 e 67 e Figura 88).

Quadro 66. Valores da F_ENO na amostra controlo e na amostra industrial pré-trabalho

		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
F _E NO	controlo	9	15,67 ± 10,04	9,00	11,00	21,50	0,236
	pré-trabalho	8	19,13 ± 5,91	14,75	18,50	24,75	

(*) Teste U de Mann-Whitney

Quadro 67. Valores da F_ENO na amostra industrial pré e pós-trabalho

		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *
F _E NO	pré-trabalho	8	19,13 ± 5,91	14,75	18,50	24,75	0,182
	pós-trabalho	8	16,13 ± 8,53	10,00	14,00	19,00	

(*) Teste de Wilcoxon

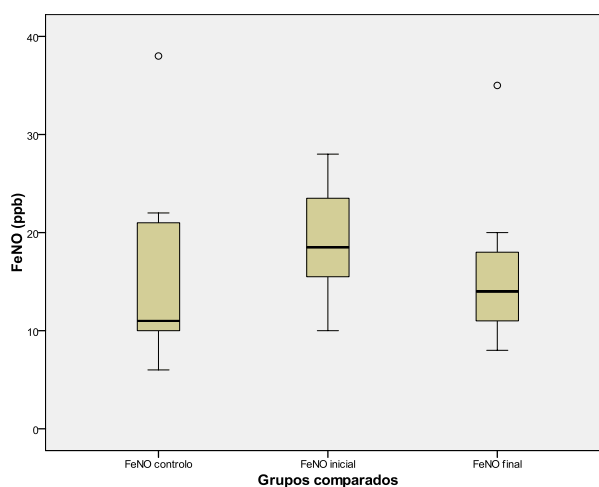


Figura 88. F_ENO na amostra controlo e no início e final do período semanal de trabalho na indústria de plásticos

Não houve diferenças significativas entre a amostra controlo e a amostra industrial, nem entre a amostra industrial pré e pós-trabalho.

4.3.2.3 Análises do condensado brônquico (EBC)

Toda a amostra da indústria dos plásticos efetuou duas determinações de EBC, antes do início e no final do período semanal de trabalho. Os resultados apresentam-se nos Quadros 68 e 69 e nas Figuras 89 a 102.

Quadro 68. Valores do EBC nas amostras controlo e industrial, pré-trabalho

		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i> *	<i>p</i> +
Arginina	controlo	9	5,58 ± 3,50	3,51	4,36	7,26	0,027	0,031
	pré-trabalho	8	11,82 ± 7,66	8,09	9,66	14,02		
Ornitina	controlo	9	34,67 ± 19,92	22,20	26,51	44,51	0,074	n.a.
	pré-trabalho	8	54,6 ± 29,29	32,49	42,90	74,12		
Prolina	controlo	9	6,37 ± 2,88	4,08	5,77	9,25	0,139	n.a.
	pré-trabalho	8	10,71 ± 6,76	5,35	8,05	15,33		
Hidroxi prolina	controlo	9	0,31 ± 0,14	0,22	0,27	0,36	0,541	n.a.
	pré-trabalho	8	0,45 ± 0,36	0,08	0,49	0,69		
Citrulina	controlo	9	10,93 ± 6,89	5,96	7,46	18,50	0,321	n.a.
	pré-trabalho	8	13,6 ± 7,93	6,85	12,90	21,85		
Isoleucina	controlo	9	6,49 ± 4,05	3,45	5,19	9,30	0,114	n.a.
	pré-trabalho	8	10,67 ± 6,62	5,16	9,23	15,51		
Leucina	controlo	9	7,60 ± 4,98	4,53	5,93	9,26	0,370	n.a.
	pré-trabalho	8	9,94 ± 6,02	4,66	9,84	13,79		
Tirosina	controlo	9	7,64 ± 4,43	4,31	5,90	10,68	0,027	0,099
	pré-trabalho	8	17,35 ± 16,57	7,64	10,13	20,53		
ADMA	controlo	9	0,09 ± 0,05	0,06	0,07	0,11	0,606	n.a.
	pré-trabalho	8	0,09 ± 0,03	0,06	0,10	0,11		
SDMA	controlo	9	0,07 ± 0,02	0,06	0,07	0,09	0,423	n.a.
	pré-trabalho	8	0,09 ± 0,06	0,06	0,08	0,10		
MDA	controlo	9	0,84 ± 0,34	0,60	0,83	0,95	0,093	n.a.
	pré-trabalho	8	1,24 ± 0,47	0,82	1,33	1,46		
HNE	controlo	9	0,38 ± 0,06	0,32	0,37	0,43	1,000	n.a.
	pré-trabalho	8	0,39 ± 0,15	0,24	0,37	0,53		
8-isoprostano	controlo	9	1,35 ± 0	1,35	1,35	1,35	0,008	0,001
	pré-trabalho	8	3,65 ± 1,77	1,84	3,73	4,58		
Nitrato	controlo	9	1,87 ± 0,62	1,39	1,84	2,28	0,093	n.a.
	pré-trabalho	8	9,93 ± 12,18	1,39	4,75	22,67		

(*) Teste U de Mann-Whitney

(+) General Linear Model (foi feito o ajuste à idade)

Quadro 69. Valores do EBC na amostra industrial, pré e pós-trabalho

		<i>n</i>	Média ± DP	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75	<i>p</i>
Arginina	pré-trabalho	8	11,82 ± 7,66	8,09	9,66	14,02	0,263
	pós-trabalho	8	9,16 ± 4,80	4,82	8,21	12,39	
Ornitina	pré-trabalho	8	54,60 ± 29,29	32,49	42,90	74,12	0,123
	pós-trabalho	8	74,01 ± 44,28	39,35	61,17	117,44	
Prolina	pré-trabalho	8	10,71 ± 6,76	5,35	8,05	15,33	0,779
	pós-trabalho	8	11,82 ± 6,85	5,66	10,45	16,25	
Hidroxi prolina	pré-trabalho	8	0,45 ± 0,36	0,08	0,49	0,69	0,093
	pós-trabalho	8	0,23 ± 0,09	0,18	0,22	0,25	
Citrulina	pré-trabalho	8	13,60 ± 7,93	6,85	12,90	21,85	0,575
	pós-trabalho	8	12,64 ± 5,33	8,25	12,20	17,09	
Isoleucina	pré-trabalho	8	10,67 ± 6,62	5,16	9,23	15,51	0,401
	pós-trabalho	8	12,72 ± 7,86	6,48	10,89	17,83	
Leucina	pré-trabalho	8	9,94 ± 6,02	4,66	9,84	13,79	0,161
	pós-trabalho	8	13,42 ± 7,38	7,97	10,62	20,94	
Tirosina	pré-trabalho	8	17,35 ± 16,57	7,64	10,13	20,53	0,674
	pós-trabalho	8	13,7 ± 6,03	8,37	13,62	19,93	
ADMA	pré-trabalho	8	0,09 ± 0,03	0,06	0,10	0,11	0,575
	pós-trabalho	8	0,13 ± 0,10	0,05	0,11	0,18	
SDMA	pré-trabalho	8	0,09 ± 0,06	0,06	0,08	0,10	0,889
	pós-trabalho	8	0,09 ± 0,03	0,07	0,10	0,12	
MDA	pré-trabalho	8	1,24 ± 0,47	0,82	1,33	1,46	0,889
	pós-trabalho	8	1,09 ± 0,29	0,84	1,01	1,30	
HNE	pré-trabalho	8	0,39 ± 0,15	0,24	0,37	0,53	0,263
	pós-trabalho	8	0,31 ± 0,09	0,25	0,29	0,34	
8-isoprostano	pré-trabalho	8	3,65 ± 1,77	1,84	3,73	4,58	0,674
	pós-trabalho	8	4,11 ± 1,82	2,71	4,13	5,75	
Nitrato	pré-trabalho	8	9,93 ± 12,18	1,39	4,75	22,67	0,575
	pós-trabalho	8	6,13 ± 9,47	0,10	3,10	7,75	

Teste de Wilcoxon

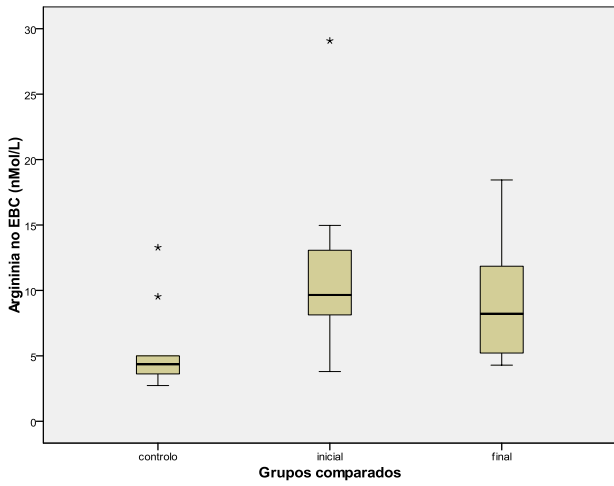


Figura 89. Arginina no EBC (indústria de plásticos)

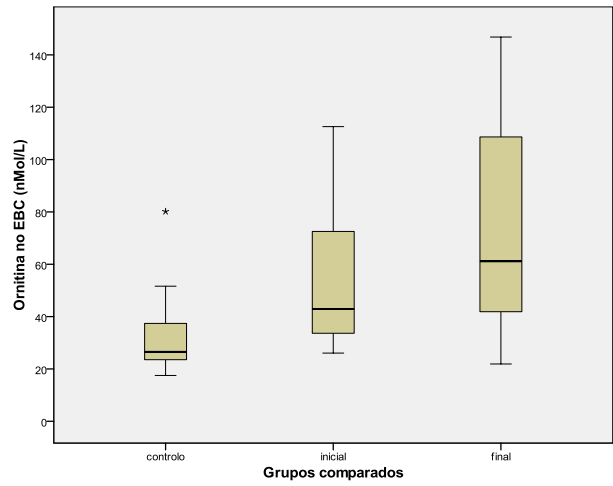


Figura 90. Ornitina no EBC (indústria de plásticos)

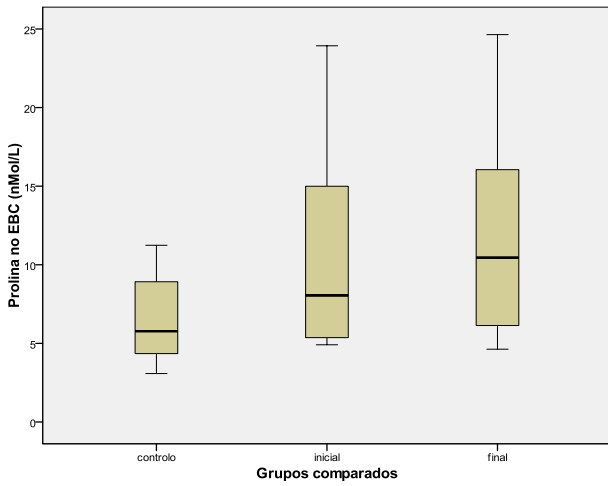


Figura 91. Prolina no EBC (indústria de plásticos)

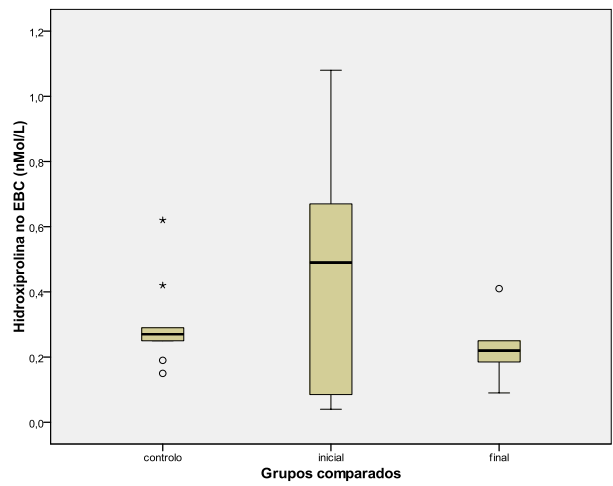


Figura 92. Hidroxiprolina no EBC (indústria de plásticos)

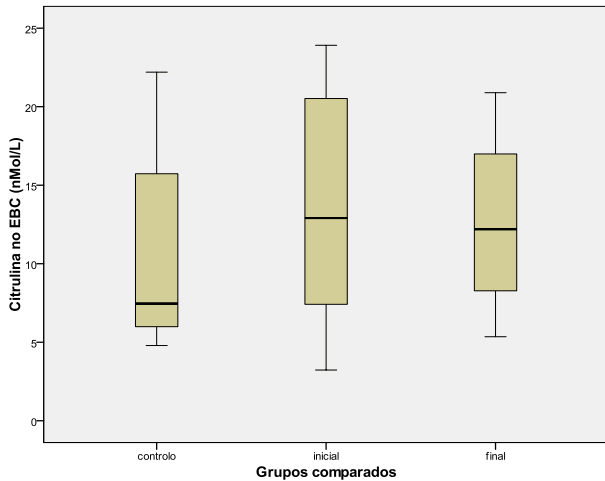


Figura 93. Citrulina no EBC (indústria de plásticos)

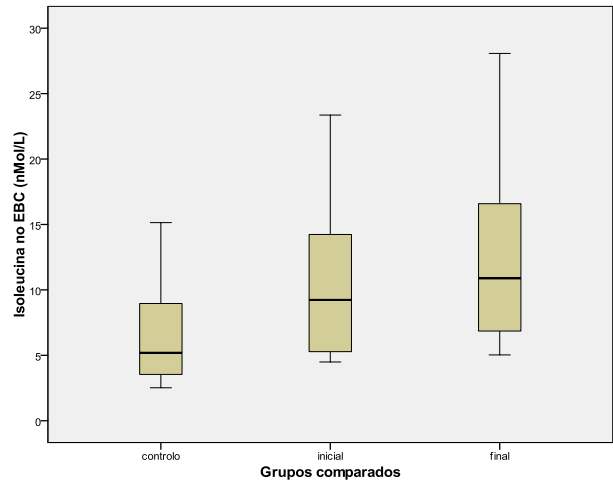


Figura 94. Isoleucina no EBC (indústria de plásticos)

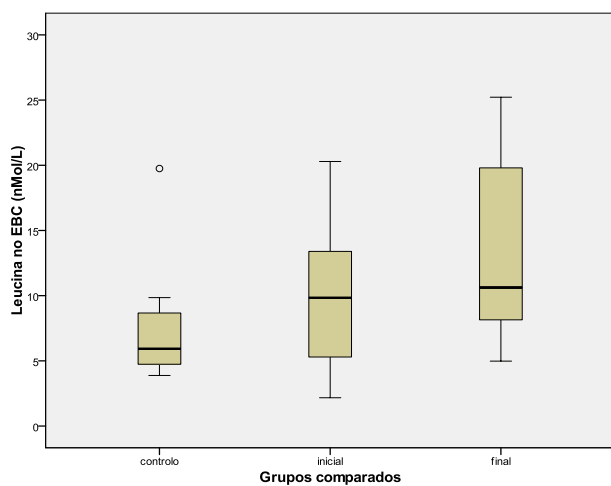


Figura 95. Leucina no EBC (indústria de plásticos)

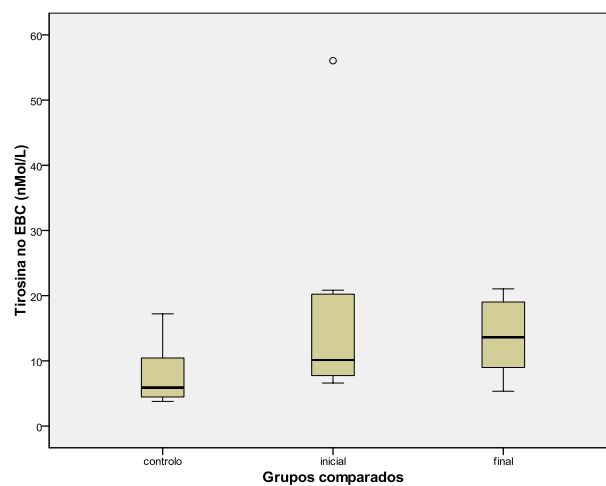


Figura 96. Tirosina no EBC (indústria de plásticos)

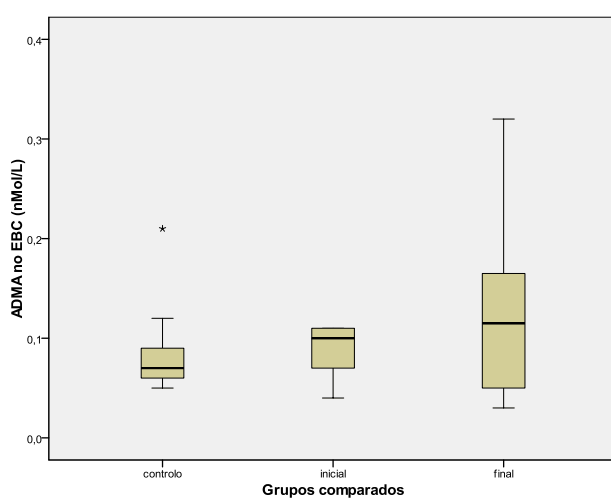


Figura 97. ADMA no EBC (indústria de plásticos)

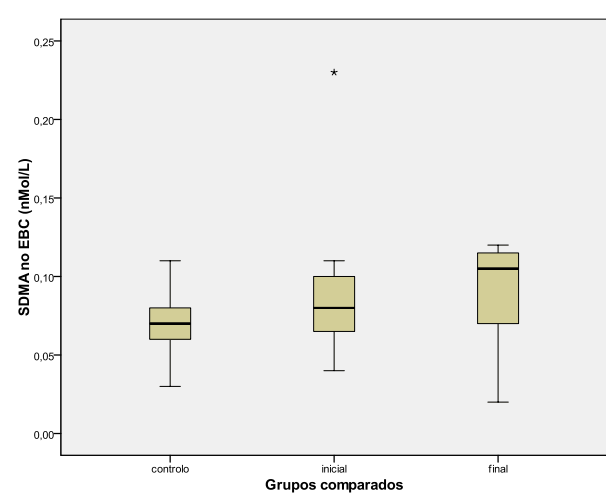


Figura 98. SDMA no EBC (indústria de plásticos)

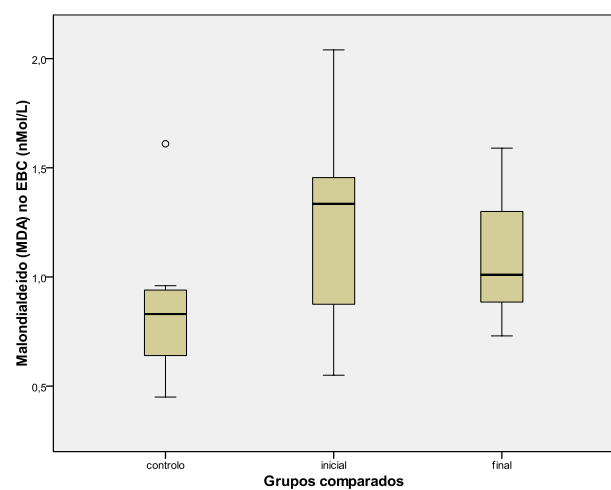


Figura 99. MDA no EBC (indústria de plásticos)

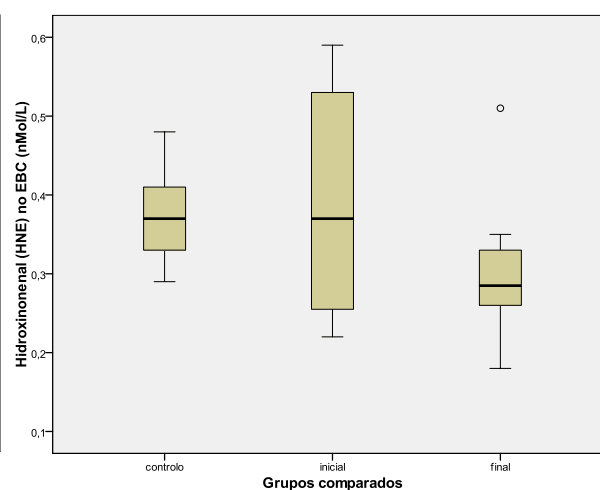


Figura 100. HNE no EBC (indústria de plásticos)

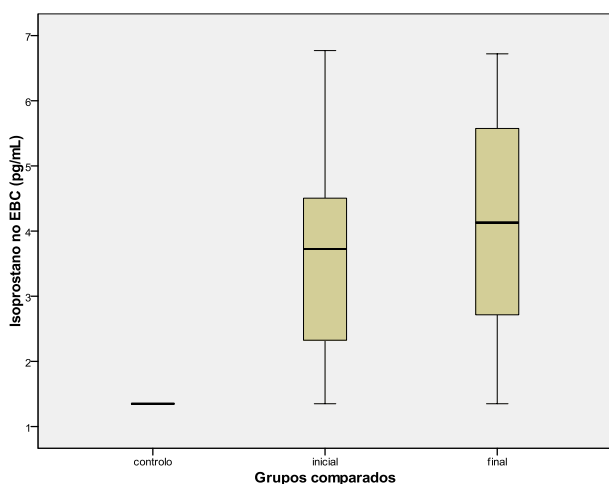


Figura 101. 8-isoprostano no EBC (indústria de plásticos)

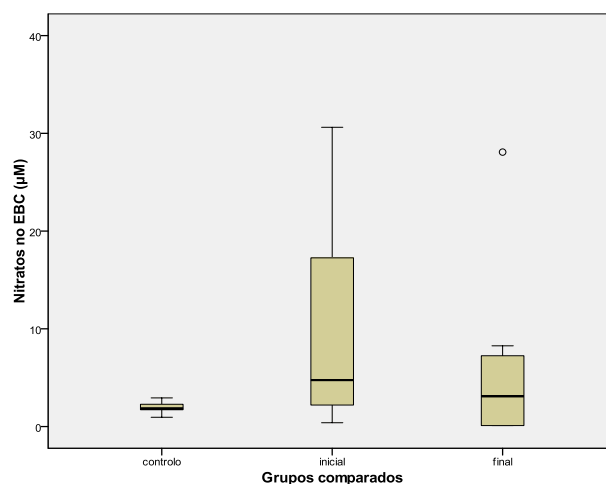


Figura 102. Nitratos no EBC (indústria de plásticos)

Nas análises do EBC da amostra industrial, antes do início do trabalho, todos os valores foram superiores aos da amostra controle, com exceção do ADMA, que foi idêntico. Observaram-se diferenças estatisticamente significativas para arginina ($p=0,027$), tirosina ($p=0,027$) e 8-isoprostano ($p= 0,008$). A aplicação do modelo estatístico *General Linear Model* para analisar as diferenças amostrais potenciais induzidas pela idade detetou apenas perda de significância estatística para a tirosina, face ao controle.

Ao comparar os valores entre as amostras de EBC colhidas antes do início e após o final da semana de trabalho, não se verificaram diferenças com significado estatístico.

Analisando potenciais correlações, através do teste de Spearman, entre os vários biomarcadores estudados, verificaram-se:

- Amostra em pré-exposição (Anexo 2; quadro XI): associações positivas entre a arginina e a ornitina, a citrulina e a leucina; entre a ornitina e a prolina, a citrulina, a isoleucina, a leucina e a tirosina; entre a prolina e a isoleucina, a leucina e a tirosina; entre a hidroxiprolina e a MDA; entre a citrulina e a isoleucina, a leucina e a tirosina; entre a isoleucina e a leucina e a tirosina; entre a leucina e a tirosina e entre o MDA e o HNE.
- Amostra em pós-exposição (Anexo 2; quadro XII): associações positivas entre a arginina e a ornitina, a prolina, a citrulina, a isoleucina, a leucina e a ADMA; entre a ornitina e a isoleucina, a leucina e a tirosina; entre a prolina e a isoleucina, a leucina e a tirosina; entre a citrulina e a leucina; entre a isoleucina e a leucina e a tirosina; entre a leucina e a tirosina e entre o MDA e o HNE. Também se observou associação positiva entre a diferença espirométrica do DEM_{50} (pré e pós-exposição) e os valores monitorizados de COVs-pico e negativas entre Δ prolina e COVs-média ponderada e pico (Anexo 2; quadro XIII).

5. DISCUSSÃO

5.1 PROJETO FUMEXP E EFEITOS DAS EXPOSIÇÕES OCUPACIONAIS EM BOMBEIROS EXPOSTOS AO FUMO DE INCÊNDIOS FLORESTAIS

5.1.1 Monitorização individual da exposição a compostos/substâncias de risco

Os valores monitorizados de $PM_{2,5}$, CO, NO_2 e COVs totais, observados quer em incêndios florestais ocorridos durante o triénio de estudo, quer nos ensaios de campo da Gestosa ultrapassaram por diversas vezes, e de forma notável, os valores recomendados para a qualidade do ar ambiente.

Por outro lado, desde logo compreendemos que a avaliação em termos de médias horárias ocupacionais clássicas (oito horas diárias de exposição e cinco dias de trabalho por semana) não é a mais adequada neste tipo de funções; de facto, as médias ponderadas tendem a subvalorizar os potenciais riscos imediatos, uma vez que os bombeiros expostos apresentam grandes flutuações individuais e diárias na magnitude das exposições. Assim, comparar as exposições ocorridas aos valores normativos nacionais e internacionais, nomeadamente aos VLE-MP, pode ser pouco útil. Contudo, as médias horárias, as médias ponderadas de curta duração e os valores instantâneos de pico poderão ser bastante úteis na avaliação do risco dos bombeiros expostos.

Nos ensaios de campo da Gestosa verificaram-se valores muito elevados de exposição ao CO, ultrapassando por diversas vezes o VLE-CM e atingindo em algumas ocasiões os valores máximos detetáveis pelo equipamento (1000 ppm); foram também muitas vezes ultrapassados os valores de VLE-CD para este agente.

No que diz respeito às $PM_{2,5}$, o valor máximo que o equipamento usado permitia detetar (20 mg/m^3) foi por diversas vezes alcançado, o que impossibilitou a verdadeira perceção dos valores de pico potencialmente inalados pelos bombeiros em estudo.

Quanto ao NO_2 , observaram-se alguns valores que excederam o VLE-CD, mas, na generalidade, o número de excedências não foi tão significativo como ocorreu com os poluentes já referidos.

Os COVs totais atingiram valores de pico de 88 ppm; contudo, não existe legislação específica sobre valores limite para estes agentes, sendo a sua análise diferenciada potencialmente importante. De facto, uma das limitações do nosso estudo foi precisamente não ter avaliado que COVs individuais teriam sido mais prevalentes na exposição verificada. Esta dificuldade prende-se com a elevada exigência técnica dos equipamentos de monitorização adequados à

sua detecção individualizada, motivo pelo qual se optou por monitorizar o valor de COVs totais, não sobrecarregando os bombeiros com mais equipamentos. Vários estudos internacionais tinham já referido a presença de diversos COVs individuais potencialmente perigosos (acroleína, formaldeído, benzeno, entre outros) (464, 496).

No que diz respeito às monitorizações ocorridas durante os fogos florestais do triénio em estudo e tal como ocorreu nos ensaios de campo, foram muitas vezes ultrapassados os valores recomendáveis de qualidade do ar e por diversas ocasiões foram atingidos os valores máximos que os equipamentos permitiam avaliar. No entanto, não se observaram valores tão elevados de NO₂ e de COVs. Um fenómeno a que se assistiu foi a existência de menos dados de monitorização individual no último ano do Projeto, o que pode ser justificado não apenas por alguns problemas técnicos, mas também com a menor adesão dos bombeiros ao seu uso em ambiente de incêndio real (esta situação ocorreu de forma mais notável com o monitor de PM_{2,5}, por ser o mais pesado e menos prático de usar).

Na generalidade, os valores de exposição individual monitorizados na nossa amostra vão ao encontro dos estudos internacionais já realizados nesta área:

Reinhardt e Ottmar monitorizaram várias dezenas de bombeiros dos EUA durante 30 dias de exposição em incêndios florestais, num dos mais completos estudos já efetuados. Os autores também se debateram com as dificuldades do nosso Projeto, em obter valores ponderados de exposição que fossem comparáveis às normas e limites existentes. Os dados monitorizados de CO por estes investigadores atingiram valores ponderados de exposição de 28,2 ppm e PM_{3,5} de 2,46 mg/m³. Entre os COVs individuais monitorizados (acroleína, benzeno e formaldeído) observaram-se valores de 98 ppb, 348 ppb e 600 ppb respetivamente. Os autores também mencionaram correlações significativas entre os níveis de todos os poluentes, sugerindo que a monitorização de um deles possa ser usada para estimar a dos restantes (*surrogate measure*) (465, 496). Esta premissa poderá fazer preconizar no futuro o estabelecimento da monitorização individual permanente de uma destas substâncias (por exemplo, o CO).

Nos ensaios de campo do nosso Projeto também se observaram correlações entre os valores monitorizados de médias ponderadas de CO e de PM_{2,5} ($\rho=0,494$; $p=0,027$; teste de Spearman). No incêndios reais verificaram-se correlações entre os valores monitorizados de CO e de COVs ($\rho=0,278$; $p=0,044$; teste de Spearman) e entre NO₂ e COVs ($\rho=0,723$; $p<0,001$; teste de Spearman).

Estes autores chamaram a atenção para um período de risco particular, que é o das atividades de rescaldo, em que, por ausência de chamas vivas, há uma tendência dos próprios bombeiros para efetuar trabalhos durante mais tempo e mais próximo das fontes de combustão, havendo uma maior exposição, sobretudo ao CO. Outro dos riscos, é o facto de os acampamentos base poderem estar pouco distantes dos incêndios, ou estarem à mercê das alterações da direção e intensidade do vento, o que, em condições meteorológicas adversas, pode provocar inalações de risco nos bombeiros que se encontram em período de repouso.

Dunn e col. monitorizaram bombeiros em incêndios prescritos no sudoeste dos EUA, verificando precisamente que os níveis mais elevados de CO eram observados durante a fase de rescaldo (460).

Adetona e col. acompanharam 28 bombeiros durante fogos prescritos no sudoeste dos EUA. A concentração de PM_{2,5} variou entre 5,9-2673 µg/m³ (valores menores do que os observados no nosso Projeto) e os autores encontraram correlações entre os valores monitorizados de CO e de PM_{2,5} ($r=0,79$), sugerindo que qualquer um destes poluentes poderá ser usado na avaliação global da exposição de bombeiros expostos em fogos florestais (471).

Gaughan e col. verificaram de igual modo, uma correlação entre os níveis de exposição a partículas e a CO, mas essa correlação era maior em níveis mais elevados de exposição, perdendo o significado em exposições de intensidade mais baixa, o que significa que este tipo de correlações tem que ser avaliado de forma mais cautelosa quando estão presentes exposições menores (467).

Reisen e col. estudaram a exposição de 130 bombeiros australianos envolvidos em incêndios florestais de vários tipos. Nos primeiros, o CO variou entre 13 e 1085 ppm e nos segundos entre 7 e 580 ppm, valores similares aos obtidos na nossa amostra. Estes autores usaram o mesmo tipo de equipamento a que recorremos no nosso Projeto para a determinação de partículas respiráveis e, de igual modo, referem a potencial subvalorização das exposições a estas partículas induzida pelo limite máximo de deteção do equipamento (20 mg/m³). Assim usaram também um outro equipamento de amostragem passiva (*personal DataRAM pDR-1000AN, Thermo Electron Corporation, EUA*), que permite medições até ao limite de 400 mg/m³. Desta forma, conseguiram determinar valores de pico de 154 mg/m³, o que representa um valor muito elevado e bastante acima do máximo de deteção que o equipamento que usámos alcança. Também 15% das amostras recolhidas apresentaram valores de formaldeído acima das recomendações australianas (570). Estes autores chamam a atenção para o facto da

comparação com padrões de exposição ocupacional (*Occupational Exposure Standards – OES*) poder não ser muito correta, por estes valores se destinarem essencialmente a trabalhadores em atividades físicas muito menos extenuantes e não levarem em consideração as alterações cardio-respiratórias verificadas durante o combate a incêndios florestais, nomeadamente o aumento do volume minuto e do volume corrente respiratório e da frequência cardíaca e fração de ejeção.

Entre as exposições menos valorizadas, que não foram determinadas no nosso estudo e que podem ter impacto na saúde de indivíduos expostos de forma ocupacional ou ambiental, citam-se os radionuclídeos urânio, tório, rádio, chumbo e polónio, que se encontram em muito maiores quantidades no fumo dos incêndios florestais relativamente à vegetação original (571) e que poderão constituir uma futura linha de investigação para avaliar os riscos de neoplasias nesta profissão.

5.1.2 Inquéritos de qualidade de saúde

Ao reunir sinergias entre várias áreas do conhecimento e entre três organismos de duas Universidades, com equipas diferenciadas numa verdadeira investigação multidisciplinar, o Projeto FUMEXP permitiu avaliar, de forma mais detalhada e inovadora, os níveis elevados de risco e algumas das potenciais alterações fisiopatológicas decorrentes das atividades dos bombeiros envolvidos no combate aos fogos florestais.

Mesmo investigando prospetivamente uma amostra considerada como inicialmente saudável e sem hábitos de risco, pudemos constatar evolutivamente algumas alterações, que poderão, no limite, evoluir para doença crónica.

Uma das motivações centrais neste Projeto foi precisamente saber que, na sua grande maioria, este grupo ocupacional não efetua com regularidade exames médicos no âmbito da especialidade de Medicina do Trabalho e quando o faz, estes são em geral significativamente desadaptados da natureza e magnitude dos riscos. Como tal, torna-se importante desenvolver e aplicar tecnologias não invasivas de monitorização do risco, nomeadamente respiratório, e criar estratégias de proteção coletiva e individual, sempre que necessário. Um dos contributos significativos da Saúde Ocupacional será a criação de estratégias no âmbito da Medicina Preventiva, que, idealmente, evitem a exposição a ambientes profissionais excessivamente perigosos e promovam o reconhecimento precoce das primeiras alterações fisiopatológicas reversíveis, permitindo modificar a própria história natural da doença.

A amostra de bombeiros que foi seguida era essencialmente jovem e saudável. Os exames médicos realizados no início do Projeto corroboraram a própria percepção do estado de saúde que este grupo de bombeiros apresentava. Contudo, vários estudos internacionais realizados em bombeiros apontam para uma possível prevalência aumentada de problemas de saúde física e mental (572, 573).

O inquérito de saúde aplicado foi o SF-36v2, cujo original resultou do *Medical Outcomes Study (MOS)*, da *Rand Corporation* dos EUA, criado nos anos 80. Este inquérito inclui 36 *items* que cobrem oito dimensões de estado de saúde (função física – FF, desempenho físico – DF, dor corporal – DC, saúde geral – SG, vitalidade – VT, função social – FS, desempenho emocional – DE e saúde mental – SM) e permitem detetar tanto estados positivos, como estados negativos de saúde. As oito escalas podem, ainda, ser agrupadas em duas componentes: saúde física e saúde mental (556).

Na nossa amostra, os valores obtidos nas oito dimensões do questionário SF-36v2 foram superiores aos observados para a população portuguesa dos mesmos escalões etários, com diferenças estatisticamente significativas em várias das dimensões, o mesmo acontecendo para as medidas sumário física (MSF) e mental (MSM) (569).

Não obstante os valores de várias dimensões do SF-36v2 terem diminuído, em média, ao longo do triénio de estudo (dor corporal, vitalidade, função social e saúde mental), esta diminuição não apresentou significado estatístico.

O SF-6D é um instrumento de medição da qualidade de vida relacionada com a saúde (QVRS) baseado em preferências (558). Observámos uma descida não significativa dos valores deste inquérito entre o início e o final do Projeto.

De igual modo, outros autores tinham já aplicado inquéritos similares a bombeiros expostos em fogos florestais. Foi o caso de Schermer e col. que também observaram valores mais elevados no inquérito SF-36, face aos valores da população geral em que a amostra se inseria [*North West Adelaide Health Study (NWAHS)*] (574). No entanto, e tanto quanto é do nosso conhecimento, este é o primeiro estudo em que foram efetuados inquéritos de qualidade de vida e saúde, em dois tempos distintos, à mesma amostra de bombeiros florestais.

5.1.3 Estudo da função ventilatória

No que diz respeito às alterações da função ventilatória em bombeiros expostos, verificámos que muitos dos estudos publicados não distinguem se a exposição se efetuava em meio urbano, industrial ou florestal.

Contudo, em diversos estudos que especificamente avaliaram a função respiratória em bombeiros envolvidos em incêndios florestais, observaram-se alterações significativas, o que vai ao encontro do observado nos resultados do nosso Projeto. Rohtman e col. tinham observado uma diminuição significativa do FEV₁ e da relação FEV₁/CVF ao longo de oito semanas de exposição em bombeiros californianos (461). Liu e col. reportaram igualmente reduções significativas para o FEV₁, CVF e DEM₂₅₋₇₅ ao longo de uma única época de incêndios. Curiosamente, neste estudo, que também envolveu bombeiros fumadores, asmáticos e atópicos, ao controlar estatisticamente estes fatores, continuou a observar-se uma diferença estatisticamente significativa (455).

Também no estudo de 1997 de Betchley e col., os potenciais fatores de confusão analisados (tabagismo, infeções respiratórias nas quatro semanas prévias e alergias), não tiveram aparente influência no declínio da função respiratória ao longo dos turnos de trabalho (463).

Betchley e col. (463), Slaughter e col. (464), Gaughan e col. (467), Adetona e col. (470), Letts e col. (462), Jacquín e col. (473) e Serra e col. (472) observaram uma diminuição estatisticamente significativa de vários parâmetros funcionais respiratórios em bombeiros florestais. No único estudo previamente realizado em território nacional, observou-se uma elevada prevalência de obstrução brônquica na espirometria (11,8%); contudo a prevalência de tabagismo na amostra estudada era muito elevada (42,9%), não tendo sido aplicado nenhum modelo estatístico que permitisse controlar esta variável. Uma das vicissitudes deste estudo foi o recurso a um equipamento PIKO 6®, algo limitado nos parâmetros funcionais avaliados e que não é um verdadeiro espirómetro; no nosso Projeto optámos por usar um espirómetro calibrado com obtenção de curvas débito/volume, avaliação de sete parâmetros funcionais reconhecidos internacionalmente e uma melhor reprodutibilidade e validação das determinações efetuadas (474).

No Quadro 70 apresenta-se uma síntese destes principais estudos.

Quadro 70. Principais estudos de função ventilatória envolvendo bombeiros florestais

Autor, Ano, Ref.	Grupo exposto	Área geográfica	Alterações verificadas	Duração do estudo
Rothman, 1991 (461)	52 bombeiros	EUA, Califórnia	Diminuição de 1,2 % de FEV ₁ e de 0,3% de CVF	8 semanas
Letts, 1991 (462)	78 bombeiros	EUA, Califórnia - Yosemite	Diminuição de 2,3% de DEM 25-75 e de 0,5% de FEV ₁ /CVF	Um turno de trabalho
Liu, 1992 (455)	63 bombeiros	EUA, Califórnia e Montana	Diminuição de 0,09% de CVF, 0,15% de FEV ₁ e 0,44% de CVF	Uma época de incêndios florestais
Serra, 1996 (472)	92 bombeiros	Sardenha	Valores mais baixos de FEV ₁ , FEV ₁ /CVF, DEM50, DEM 75 e CVF/DEM75	Bombeiros florestais em comparação com 51 polícias
Betchley, 1997 (463)	76 bombeiros; 53 bombeiros	EUA, Oregon e Washington	Antes e após turno e após uma época de incêndios florestais: diminuição de CVF, FEV ₁ , DEM25-75	76 bombeiros ao longo de um turno; 53 bombeiros ao longo de uma época
Slaughter, 2004 (464)	65 bombeiros	EUA	Diminuição do FEV ₁	Um turno de 8 horas
Almeida, 2007 (474)	203 bombeiros	Portugal	FEV ₁ /FEV ₆ <0,7 ou FEV ₁ <0,8 em 11,8% da amostra (dados obtidos com PIKO 6®)	Estudo transversal descritivo
Adetona, 2011 (470)	24 bombeiros	EUA	Pequeno decréscimo cumulativo da função ventilatória	Turnos de 8 horas em fogos prescritos
Jacquin, 2011 (473)	108 bombeiros	Córsega	Diminuição do FEV ₁ , CVF, e DEMI	Imediatamente após os incêndios e no final de 24 horas e de 3 meses
Gaughan, 2014 (467)	17 bombeiros	EUA	Diminuição do FEV ₁ , relacionada com a exposição a levoglucosano	Um episódio de fogo florestal

Até ao momento presente, muito poucos estudos avaliaram o eventual declínio a longo prazo da função respiratória em bombeiros envolvidos regularmente no combate a incêndios florestais. A grande maioria dos trabalhos publicados na última década avaliou o declínio da função ventilatória observado em bombeiros envolvidos nos eventos pós-colapso do *World Trade Center*. Mais recentemente, Schermer e col. avaliaram prospectivamente a função ventilatória de 281 bombeiros metropolitanos na Austrália e verificaram que, após um período médio de 2,9 anos, só os escalões etários superiores aos 50 anos mostravam declínio do FEV₁; pelo contrário, nos sectores etários até aos 50 anos de idade, observou-se um aumento do FEV₁ (575). Não obstante ser sabido que a função ventilatória pode sofrer declínio a partir aproximadamente dos 25 anos de idade (576), os autores apontavam como potenciais explicações para este aumento, o efeito do trabalhador saudável e a maior preocupação deste grupo com a sua saúde e com o seu condicionamento físico. Segundo Janssens, o declínio do FEV₁ na população geral verifica-se a partir dos 27 anos para o sexo masculino e a partir dos 23 anos para o sexo feminino (576).

Pelo contrário, no nosso Projeto, o declínio da função ventilatória ao longo do triénio de estudo foi observado mesmo nos escalões etários mais novos, o que evidencia a necessidade de uma preocupação aumentada com estes profissionais. Na nossa amostra, por exemplo, ao avaliar especificamente o FEV₁ dos jovens com idade igual ou inferior aos 27 anos, verificámos que houve um decréscimo médio do FEV₁ de 102,64±11,80, para 100,86±10,05 e da mediana de 103 para 102,5 ($p=0,042$; Teste de Wilcoxon-exact, one tailed test).

Num estudo com bombeiros florestais da Córsega, Jacquín e col. avaliaram a função respiratória de 108 bombeiros expostos a fumo de fogos florestais. Três meses após o final da época de incêndios, reportaram uma diminuição reiterada dos valores de FEV₁, CVF e DEMI, comparativamente aos valores basais. A diminuição destes parâmetros espirométricos era também patente imediatamente após os incêndios e ainda se observava 24 horas após a cessação da exposição (473).

Outros estudos avaliaram a função respiratória em bombeiros que trabalhavam maioritariamente em incêndios não florestais. Também nestes foi visível o decréscimo de vários parâmetros espirométricos e o aumento da hiper-reatividade brônquica avaliada através da prova de metacolina (452, 574, 577).

5.1.4 CO exalado (e medida indireta da percentagem de carboxihemoglobina)

Os valores exalados de CO (e de percentagem de carboxihemoglobina, por método indireto) aumentaram significativamente, como seria expectável, após as atividades de combate a incêndios florestais, quer nos ensaios de campo, quer nos incêndios reais; este fenómeno indicia a elevada exposição dos bombeiros ao CO produzido na combustão de biomassa que é, seguramente, um dos maiores riscos inalatórios neste grupo profissional. Em média, os valores de CO exalado medidos após incêndio real foram cerca de 60% superiores aos observados nos ensaios de campo, traduzindo a maior duração e intensidade da exposição, o que também já esperávamos que ocorresse, ao verificar os elevados níveis de exposição detetados pelos monitores individuais de CO.

5.1.5 Avaliação do stresse oxidativo, stresse nitrosativo e peroxidação lipídica

Um dos objetivos específicos da nossa tese foi o desenvolvimento e a adaptação de tecnologias de monitorização não invasiva respiratória de potencial uso e interesse abrangente em ambiente ocupacional. É precisamente nesta área que a F_ENO e o EBC podem vir a ter grande impacto. Quisemos essencialmente ter uma perspetiva alargada sobre biomarcadores de stresse oxidativo, de stresse nitrosativo e de peroxidação lipídica, que pudessem ser avaliados de forma não invasiva e estudados em amostras de indivíduos expostos em ambientes ocupacionais de risco, uma vez que um dos nossos objetivos essenciais nesta tese era precisamente o desenvolvimento e estudo da aplicabilidade dos biomarcadores resultantes destes fenómenos em Medicina Preventiva e Saúde Ocupacional.

Entre as principais vantagens das determinações da F_ENO e do EBC destacamos a facilidade com que podem ser obtidos, bem como a total não invasividade das suas determinações.

Desde logo quisemos testar, de forma alargada, estas novas metodologias nos nossos grupos profissionais expostos. A sua determinação teve uma excelente aceitação pelos diversos elementos que constituíram as amostras, o que nos parece um ótimo sinal para estudos futuros e sobretudo para a sua progressiva implementação em ambiente ocupacional, visando a deteção precoce de alterações fisiopatológicas ainda em fase de reversibilidade.

O stresse oxidativo é definido como um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e metabolitos reativos (oxidantes) e sua eliminação por mecanismos de proteção constituídos pelos sistemas antioxidantes. Os radicais livres e seus metabolitos podem prevalecer sobre os antioxidantes. Este desequilíbrio provoca danos em biomoléculas importantes e em múltiplos órgãos e sistemas, o que pode ter um impacto importante em todo o organismo. Estes processos estão associados à transferência de eletrões, o que influencia o estado *redox* dos biosistemas (578).

Os radicais livres são átomos, moléculas ou seus fragmentos com um ou mais eletrões livres e de existência independente muito curta. Há radicais livres derivados do oxigénio, do azoto ou de vários compostos orgânicos; são substâncias extremamente reativas que podem emparelhar o seu eletrão livre com um eletrão tomado de outros compostos, causando a sua oxidação; são por isso substâncias oxidantes. Durante estes movimentos de eletrões, novos radicais são potencialmente formados a partir de moléculas originalmente não radicais, o que pode levar à existência de reações em cadeia muito importantes em diversos fenómenos fisiopatológicos sistémicos (578).

Os radicais livres participam num grande número de eventos fisiopatológicos em que são formados metabolitos extremamente reativos a partir de moléculas mais simples como o NO e o radical superóxido O_2^- ; contudo os novos metabolitos formados têm habitualmente uma capacidade oxidativa muito maior do que as suas moléculas precursoras. Entre estes metabolitos cita-se o radical hidroxilo (OH), o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e o ácido hipocloroso. O conjunto dos radicais livres e dos seus metabolitos é designado coletivamente como “Espécies Reativas” (578); entre as principais, citam-se as espécies reativas de oxigénio (*Reactive Oxygen Species* – ROS) e as espécies reativas de azoto (*Reactive Nitrogen Species* – RNS).

As ROS e as RNS são produzidas durante o metabolismo celular normal através de várias vias enzimáticas; contudo, a sua produção excessiva pode ocorrer como resposta a vários agentes stressores (exposição a substâncias ou ambientes tóxicos, radiação e na doença), resultando

em stresse oxidativo local. Os níveis elevados de ROS e de RNS desencadeiam um conjunto muito complexo de respostas, com objetivos adaptativos e de reparação, que podem, não obstante, resultar em inflamação persistente. Entre os exemplos de ROS citam-se os peróxidos e os iões de oxigénio livre gerados durante os fenómenos metabólicos do oxigénio; entre exemplos de RNS citam-se o NO, o peroxinitrito e o NO₂ que resultam da atividade de algumas enzimas de relevo (por exemplo, NOS e NADPH oxidase-NOX) (579).

As ROS e as RNS utilizam essencialmente três vias de sinalização que resultam em lesões potenciais do ADN, dos lípidos e das proteínas. A peroxidação lipídica desencadeia a cascata inflamatória do ácido araquidónico, produzindo diversos tipos de eicosanóides; entre os subprodutos desta via, citam-se o malondialdeído (MDA), bem como outro aldeído de relevo, o 4-hidroxinonenal (4-HNE), que apresentam potencial para lesar indiretamente o ADN. Os radicais livres também podem modificar os sistemas enzimáticos responsáveis pela reparação do ADN e ainda alterar a sinalização na apoptose celular, ao modificar o funcionamento das caspases e modular as vias de sobrevivência celular reguladas por várias moléculas fundamentais (579).

Quando as condições ideais para a génese de ROS estão reunidas nas partes mais hidrofóbicas das células, vários lípidos podem ser oxidados, num fenómeno conhecido como peroxidação lipídica, com potencial lesão de várias biomembranas e destruição celular. Por um lado, os vários radicais livres originais lesam diretamente estas estruturas; por outro, os próprios metabolitos da peroxidação lipídica (onde se destacam o MDA e o HNE) perpetuam e agravam este dano (579).

5.1.5.1 Avaliação da F_eNO

A F_eNO tem vindo a ser progressivamente usada na investigação, no diagnóstico e na clínica, embora maioritariamente no estudo de patologia de tipo asmático. Parece-nos lógico que a sua aplicabilidade inicial na área ocupacional recaísse, desde logo, no diagnóstico precoce de alterações inflamatórias do sistema respiratório, sobretudo no que concerne à asma ocupacional e, eventualmente, às pneumonites de hipersensibilidade de etiologia profissional. A sua utilização também pode ser de grande importância nas determinações seriadas realizadas ao longo do dia de trabalho durante a exposição a riscos inalatórios potencialmente indutores de uma resposta inflamatória e ainda no auxílio à tomada de decisões na interpretação de provas de provocação inespecífica e específica, nomeadamente com agentes

ocupacionais. Porém, algum caminho terá ainda que ser percorrido para que este biomarcador possa vir a ser um potencial substituto destes exames complementares clássicos.

Parece-nos ser fundamental a correta interpretação dos resultados da F_eNO face aos ambientes em que trabalham os indivíduos das amostras estudadas (e de forma global, face aos ambientes ocupacionais de risco inalatório cada vez mais frequentes).

A nossa amostra do Projeto FUMEXP é disso paradigmática: observámos por vezes valores mais elevados da F_eNO antes do início da exposição profissional, face à amostra controlo, o que poderá estar relacionado com a presença de níveis mais altos de inflamação brônquica nos bombeiros estudados. Já outros autores tinham observado valores mais altos de F_eNO em doentes com DPOC, face a indivíduos saudáveis (580-582), o que pode dar indicações futuras importantes.

Contudo, contrariamente ao que seria expectável sem uma revisão mais atenta da literatura, após as exposições ocorridas em incêndio prescrito ou real, os valores da F_eNO diminuíram por diversas vezes e de forma significativa. Este fenómeno já tinha sido estudado em indivíduos fumadores, em que parece haver uma inibição potencial da atividade da NO sintetase indutível (iNOS) pelo fumo do tabaco (339); assim, e não obstante as diferenças de composição química entre os dois tipos de fumo, parece-nos lógico sugerir que o fumo dos incêndios florestais possa ter uma ação similar (hipótese esta a ser testada eventualmente em estudos *in vitro* e *in vivo*).

O NO pode ter, ele próprio, um efeito de *feedback* negativo na NOS e é sabido que o fumo do tabaco, bem como as atmosferas poluídas, têm elevados valores de NO [Norman e Keith (583) cit. por Kharitonov e col. (339), (584)]. Por outro lado o CO também interage com as proteínas do heme (tais como a NOS) e pode potencialmente inibir as suas isoformas, nomeadamente a iNOS [White e Marletta (585) cit. por Kharitonov e col. (339)]. No nosso estudo, ao monitorizarmos o CO e a F_eNO em bombeiros após 34 ocorrências de incêndios florestais, observámos precisamente uma correlação negativa entre os dois parâmetros ($\rho=-0,512$; $p=0,002$; teste de Spearman).

Um dos efeitos adversos potenciais do fumo do tabaco e que pode ser induzido pela supressão da produção endógena de NO, é a redução da dinâmica ciliar, cujo regular funcionamento parece estar dependente de níveis normais desta molécula; o mesmo acontece com o risco de infeções respiratórias. A supressão da produção endógena de NO pode predispor a fenómenos de inflamação neutrofílica e pode mesmo estar relacionada com alguns dos fenómenos

vasculares observados em indivíduos fumadores; por exemplo, se o fumo do tabaco reduz a produção endógena de NO, este fenómeno pode induzir também um risco aumentado de hipertensão e de doença vascular periférica (339).

A compreensão dos locais exatos de produção do NO a nível respiratório e da forma como a sua regulação é efetuada, ainda não é completa. Por exemplo, num estudo envolvendo voluntários saudáveis expostos a fumo de combustão de madeiras, Barregard e col. observaram diferenças na $F_{E}NO$ face ao cálculo do NO alveolar através de um modelo bi-compartimental. Com este modelo verificaram que, embora não houvesse alterações significativas na $F_{E}NO$ obtida com débitos de 50 mL/seg, os valores calculados especificamente para o NO alveolar (e não para o NO brônquico) estavam mais elevados após a exposição experimental (501).

Tanto quanto é do nosso conhecimento, o nosso estudo é o primeiro a avaliar a diminuição dos valores da $F_{E}NO$ em indivíduos expostos ocupacionalmente a fumo dos incêndios florestais; atendendo a que a nossa amostra era saudável e não fumadora, pensamos que este facto pode ser de elevado significado. Não queremos superficialmente afirmar que a supressão da atividade da iNOS que se pode ter verificado na nossa amostra seja suscetível de induzir todos os fenómenos adversos relacionados com a exposição ao fumo; contudo, parece-nos correto sugerir que algumas das alterações cardiovasculares e respiratórias observadas em bombeiros podem estar eventualmente relacionadas com a perturbação dos normais mecanismos de regulação do NO a nível brônquico e endotelial.

5.1.5.2 Avaliação do EBC

Quanto às determinações do EBC na nossa amostra, e após revisão atenta da literatura, não encontramos nenhum estudo que envolvesse a determinação simultânea de tantos e tão diferenciados parâmetros nesta matriz, nomeadamente em indivíduos ocupacionalmente expostos. Quisemos, nesta fase de investigação da nossa tese, provar que a avaliação simultânea dos fenómenos inflamatórios do sistema respiratório, bem como do stresse nitrosativo e oxidativo subjacente a inúmeras patologias ocupacionais e não ocupacionais, era exequível e viável.

A maior parte dos poucos estudos publicados sobre a monitorização de EBC em ambiente ocupacional refere-se à asma ocupacional e às pneumoconioses.

Na nossa tese, quer no Projeto FUMEXP, quer nos estudos das amostras industriais, optámos por realizar uma bateria alargada de determinações, que pudesse dar uma perspetiva global sobre vários aspetos da inflamação das vias respiratórias e estabelecer eventuais correlações com outros parâmetros do ar exalado ($F_{E}NO$, CO exalado) ou com os valores de exposição individual. Foi uma decisão essencialmente baseada na vasta experiência do Departamento de Medicina Clínica e do Laboratório de Toxicologia Industrial da Universidade de Parma, onde foram estudadas as amostras efetuadas em todos os grupos em estudo e no grupo controlo e com quem estabelecemos uma importante parceria.

Uma das opções que tomámos conscientemente foi a de não determinarmos o pH nas nossas amostras, não obstante a acidificação das vias aéreas poder estar presente em várias doenças respiratórias. Essa decisão foi baseada em vários fatores: a determinação do pH exige uma grande porção da amostra de EBC, uma vez que a sua avaliação rigorosa necessita habitualmente da de-aeração prévia da amostra com gás árgon ou CO_2 ; assim ficaríamos com substancialmente menor quantidade de EBC para poder realizar as várias análises a que nos propusemos; a temperatura do condensador e o tipo de sonda usado também podem alterar a reprodutibilidade do pH da amostra, fazendo variar os resultados finais (277); finalmente os valores de amónia oral podem afetar as amostras e o pH medido pode refletir, de forma maioritária, a acidificação das vias respiratórias superiores (278).

A análise das dimetilargininas e do metaboloma da arginina tem vindo a ganhar terreno no estudo de várias patologias, nomeadamente a nível cardio-circulatório. As dimetilargininas são moléculas formadas durante a proteólise de proteínas metiladas, processo que é catalisado pelas *N*-metiltransferases, que leva à formação de várias moléculas de importância cada vez mais reconhecida e onde se destacam a forma simétrica e a assimétrica (*SDMA-symmetric dimethylarginine* e *ADMA-asymmetric dimethylarginine*) (586). A ADMA é uma das reguladoras fundamentais da NOS, inibindo a sua síntese. A elevação plasmática da ADMA pode estar relacionada com a disfunção vascular endotelial e observa-se na hipertrigliceridémia, na hipertensão, na diabetes *mellitus*, na resistência à insulina e na insuficiência cardíaca crónica (587).

As inter-relações e os mecanismos de auto-regulação entre o substrato L-arginina, o NO e as dimetilargininas têm vindo a ser cada vez mais investigadas desde a exemplar revisão de Moncada e Higgs, publicada em 1993, citando a importância fundamental da NOS na síntese de NO a partir da arginina e o seu papel fundamental na génese de patologia respiratória e cardíaca (195). O estudo do metaboloma da arginina, nomeadamente dos seus derivados

metilados, ADMA e SDMA, levou ao conhecimento que a inibição da síntese de NO por estes dois compostos poderia explicar em parte a fisiopatologia de várias doenças relevantes. Como já vimos, o NO pode ter um papel fundamental nos fenómenos inflamatórios agudos e crónicos. O tratamento com inibidores da NOS reduz o grau de inflamação em modelos murinos, enquanto a arginina pode promover estes fenómenos (195). O NO parece ter um papel multifacetado nas reações inflamatórias, ao induzir a vasodilatação e a formação de edema, bem como ao modular a atividade leucocitária e ao suscitar eventuais fenómenos de citotoxicidade (195). Moncada e Higgs já postulavam que metabolitos da via metabólica arginina-NO (tais como o nitrito, o nitrato e a citrulina) poderiam vir a tornar-se marcadores fundamentais na monitorização e tratamento de várias patologias de relevo (195).

Se existirem concentrações sub-ótimas de arginina ou défice de co-fatores da NOS, pode haver uma perturbação ao normal funcionamento desta enzima, o que leva a uma oxidação incompleta de arginina (que em condições normais produz NO e citrulina), transformando a NOS numa enzima produtora de radicais superóxido (O_2^-). A ADMA pode interromper a normal produção de NO pela NOS, efetuando um *switch* da sua atividade enzimática de produção de NO para produção de O_2^- (588, 589). A primeira área que despertou interesse nestes fenómenos foi precisamente a da aterosclerose e da disfunção endotelial, ao reconhecer-se que os níveis de ADMA estavam elevados em indivíduos com hipercolesterolemia (590).

O metaboloma da arginina também tem potencial interesse no estudo da fisiopatologia respiratória. As arginases convertem a arginina em ornitina e ureia, enquanto, como vimos, a NOS converte a arginina em citrulina numa reação produtora de NO (591). A ADMA e a SDMA são inibidoras diretas da NOS. O pulmão normal apresenta mecanismos de *clearance* destas metilargininas, mantendo a homeostasia entre o substrato potencial e o funcionamento da NOS e das arginases. A presença de níveis elevados de metilargininas pode reduzir ou redirecionar o metabolismo da arginina (592). As relações intrínsecas entre estes compostos ficaram mais recentemente conhecidas como o “ciclo arginina-ADMA” e envolvem, para além das moléculas já mencionadas, a NMMA (*monomethylated arginine*), a homo-arginina, a citrulina e a tirosina (592).

A arginina é um aminoácido semi-essencial que participa em várias vias metabólicas de grande importância, incluindo a clivagem em ureia e ornitina no ciclo da ureia (via arginases), desaminação em citrulina (via arginina-desaminase), síntese de creatina (via arginina-glicina amidinotransferase e guanidinoacetato-*N*-metiltransferase), síntese de várias proteínas

(podendo ser metilada pelas proteína-arginina-metiltransferases) e como já vimos, como precursor na síntese do NO (via NOS) [Sy e col. (593) cit. por Dweik e col. (594)].

Só recentemente se começou a dar importância fundamental a este ciclo e às suas implicações para a saúde respiratória, uma vez que o maior número de publicações na área se refere ao sistema cardiovascular. O pulmão é uma fonte significativa de NO, nomeadamente devido à atividade de três isoformas da NOS: NOS III no endotélio vascular pulmonar, NOS II no epitélio das vias respiratórias e NOS I nas terminações nervosas não-adrenérgicas não-colinérgicas (595).

O pulmão é também uma fonte considerável de ADMA, o que pode ter um papel importante não só nos fenómenos inflamatórios pulmonares, mas também na inflamação sistémica (596).

Entre as possíveis vias de eliminação para as metilargininas, citam-se a sua metabolização em citrulina e dimetil ou monometilamina. Curiosamente, o LBA e o soro exibem relações ADMA/SDMA praticamente idênticas, sugerindo que o metabolismo das metilargininas no pulmão pode contribuir significativamente para os níveis sistémicos de ADMA e SDMA (596).

Scott e col. verificaram um aumento da ADMA na expetoração induzida de indivíduos asmáticos (597) e só muito recentemente se descobriu a potencial importância da determinação das metilarginases no EBC.

Di Gangi e col. observaram níveis elevados de ADMA e de SDMA no EBC de adolescentes asmáticos, bem como da razão ADMA/tirosina e SDMA/tirosina. Não foram observadas, contudo, diferenças significativas de arginina, citrulina e tirosina no EBC destes jovens. Assim, os autores postularam que a razão metiltransferases/tirosina poderia ser um interessante biomarcador de stresse oxidativo e de inflamação pulmonar (592) Estes biomarcadores (sendo não-voláteis) poderão também ser usados na correção do grau de diluição das colheitas de EBC, garantindo a qualidade e standardização dos procedimentos analíticos (598).

Como vimos anteriormente, a produção de NO está geralmente aumentada durante as doenças inflamatórias das vias respiratórias, ou após exposição a agentes irritantes como o ozono, o que é demonstrado pela indução da iNOS, pelos níveis aumentados dos metabolitos finais, nitrito (NO_2^-) e/ou nitrato (NO_3^-) em fluidos respiratórios, e eventualmente pelo aumento dos níveis de NO alveolar no ar exalado. A interação do NO com os radicais O_2^- produz o poderoso oxidante peroxinitrilo que, como mencionámos anteriormente, pode ser um dos responsáveis pelos efeitos adversos da produção excessiva de NO (599, 600). A síntese

de iNOS no sistema respiratório pode, assim, ser avaliada pela presença de nitrito e/ou nitrato em fluidos respiratórios, representando alguns dos mais importantes aspetos de stresse nitrosativo e de produção de espécies reativas de azoto (600).

Por exemplo, Lara e col. investigaram o potencial papel do metaboloma da arginina na asma brônquica. Os doentes estudados apresentavam uma maior biodisponibilidade de arginina e maiores níveis de catabolismo deste aminoácido, observando uma associação forte entre a obstrução brônquica e a biodisponibilidade de arginina (601).

A nível do EBC, o aumento das espécies reativas de oxigénio e de azoto, ou dos biomarcadores que delas derivam, pode ser usado como um indicador de stresse e de inflamação das vias aéreas. Comparativamente com amostras controlo de indivíduos saudáveis e não fumadores, as concentrações de nitrito, nitrato, 3-nitrotirosina, H_2O_2 e S-nitrosotióis estão aumentadas na asma, DPOC, fibrose pulmonar idiopática e fibrose quística (602).

Nas amostras do Projeto FUMEXP, observámos valores significativamente superiores em quase todos os parâmetros medidos no EBC dos bombeiros antes de qualquer exposição ocupacional, comparativamente à nossa amostra controlo (após ajustamento, a ADMA, SDMA e a hidroxiprolina estavam mais elevados em média, mas de forma não significativa). Estes dados poderão marcar a presença de fenómenos crónicos de inflamação brônquica e de stresse nitrosativo e oxidativo na nossa amostra de bombeiros, mesmo antes das exposições ocupacionais e do início da época de incêndios; este facto poderá vir a desempenhar nestes profissionais um eventual risco aumentado de patologia pulmonar em que a inflamação tem um papel central (nomeadamente a DPOC e a asma brônquica). Também verificámos que a exposição a fumo dos incêndios florestais aumentava significativamente a quantidade de diversos destes biomarcadores estudados face aos valores basais, com particular destaque para as metiltransferases ADMA e SDMA, e ainda para a arginina, ornitina, prolina, hidroxiprolina, citrulina, isoleucina, leucina e tirosina. Observámos também um aumento dos nitratos no EBC colhido após incêndios reais, mas sem significado estatístico.

Os F2-isoprostanos (nomeadamente o 8-isoprostano) são atualmente dos biomarcadores mais usados e com maior reprodutibilidade na avaliação da patologia respiratória. Os seus valores estão elevados sobretudo nos quadros clínicos com aumento do stresse oxidativo (asma e DPOC) (303, 304) e em fumadores saudáveis (306); a corticoterapia inalada e sistémica induz a

sua descida (308). O 8-isoprostano pode também ser um biomarcador de stresse oxidativo bastante útil nas doenças intersticiais pulmonares (603) e na fibrose quística (604).

Todos os elementos da nossa amostra controlo apresentaram valores abaixo do limiar de deteção do método utilizado; assim, usámos esse valor de 1,35 pg/mL nos cálculos estatísticos efetuados.

Os bombeiros envolvidos no Projeto FUMEXP apresentaram valores significativamente superiores de 8-isoprostano face à amostra controlo; os valores deste parâmetro também subiram após a exposição ao fumo, embora de forma não significativa, sendo também mais elevados após os incêndios reais face à exposição ocorrida nos ensaios de campo. No estudo de exposição experimental de Barregard e col. houve um aumento dos valores urinários de 8-isoprostano, embora não tivessem sido efetuadas determinações deste parâmetro no EBC (501).

Num interessante estudo de Patel e col., verificou-se uma associação entre o 8-isoprostano no EBC de adolescentes de escolas de Nova Iorque e os valores de matéria particulada ambiental (*carbon black*) (605).

Pensamos pois que a determinação do 8-isoprostano a nível do EBC de indivíduos ocupacional ou ambientalmente expostos a agentes agressivos pode ser extremamente útil para a avaliação do stresse oxidativo e sobretudo dos fenómenos de peroxidação lipídica, que se encontram envolvidos na génese de várias patologias do foro respiratório (606).

Uma outra vertente, que igualmente quisemos investigar foi a da presença e quantificação dos aldeídos a nível do EBC, que também pode dar informações relevantes sobre os fenómenos inflamatórios do sistema respiratório, quer associados a determinadas doenças, quer potencialmente relacionados com exposições ocupacionais ou ambientais. Os aldeídos são importantes biomarcadores dos fenómenos de peroxidação lipídica.

Na década de 90 começou a compreender-se que poderiam ser detetados no LBA de ratos expostos a ozono (607) e amianto (608) o que poderia mostrar a sua importância como biomarcadores de exposição ocupacional e/ou ambiental.

A metodologia rigorosa de determinação de padrões de aldeídos clinicamente relevantes no EBC e que usámos na nossa tese foi precisamente desenvolvida pela instituição italiana com

quem estabelecemos parceria (Laboratório de Toxicologia Industrial, Departamento de Medicina Clínica da Universidade de Parma) (560). Este método (Cromatografia Líquida – Espectrometria de Massa em *tandem*: LC-MS/MS) permite a determinação precisa de quantidades mínimas de vários aldeídos, nomeadamente malondialdeído (MDA), acroleína, *n*-hexanal, (C6), *n*-heptanal (C7), *n*-nonanal (C9), 4-hidroxinonenal (HNE) e 4-hidroxihexenal (HHE). Estes aldeídos são subprodutos da peroxidação lipídica e pensa-se poderem refletir alguma da lesão oxidativa induzida sobre os lípidos insaturados das membranas celulares (609).

Entre os vários aldeídos potencialmente quantificáveis por esta metodologia, selecionámos o MDA e o HNE, sobretudo pela sua relevância clínica e fisiopatológica já anteriormente referida, uma vez que os seus níveis se encontram habitualmente aumentados em patologia respiratória de grande significado epidemiológico, onde se destacam a DPOC e a asma brônquica.

Corradi e col. observaram níveis aumentados de MDA no EBC de crianças com exacerbações de asma brônquica, que diminuíram após a corticoterapia (610). Foram também observados níveis elevados deste biomarcador na DPOC, apresentando diferenças estatisticamente significativas entre indivíduos saudáveis fumadores e doentes (611). Estes fenómenos estão muito provavelmente relacionados com o aumento do stresse oxidativo e com a produção de espécies reativas de oxigénio (*Reactive Oxygen Species* – ROS).

Dentro dos aldeídos mais estudados nos mecanismos fisiopatológicos respiratórios de peroxidação lipídica, o MDA é o que tem fomentado maior quantidade de publicações. Contudo, a sua determinação exige cuidados especiais; os ensaios colorimétricos habitualmente usados têm sido muito contestados, uma vez que são muito pouco específicos, pois medem o MDA conjuntamente com a família das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances* – TBARS) (342). Assim, escolhemos a metodologia descrita previamente, que constitui atualmente a referência para a correta determinação de aldeídos em amostras biológicas.

Como já vimos anteriormente, o fumo dos incêndios florestais apresenta quantidades significativas de aldeídos na sua constituição (onde se destaca o formaldeído e o acetaldeído). Contudo, o que nos parece fundamental analisar na fração volátil dos fluidos respiratórios é, não propriamente a presença dos compostos originais emitidos pelas combustões, mas sim os aldeídos que são clinicamente relevantes por significarem a presença de fenómenos

importantes de peroxidação lipídica e de destruição das membranas celulares e que são induzidos pela cascata inflamatória resultante das múltiplas exposições químicas e a partículas verificadas no combate a incêndios florestais. Estes aldeídos pertencem também à grande família dos COVs, mas têm particular relevância por poderem ser usados como biomarcadores.

Depois da exaustiva revisão da literatura efetuada, não encontramos quaisquer estudos que se debruçassem especificamente sobre estes biomarcadores no EBC de bombeiros ou de outros grupos profissionais expostos ocupacionalmente. Só muito recentemente, já em 2013, foram publicados estudos em bombeiros florestais que avaliaram o stresse oxidativo potencialmente induzido pela combustão deste tipo de biomassa; contudo, os biomarcadores MDA e 8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina (8-oxo-dG) foram apenas analisados em urina de 19 bombeiros após um incêndio prescrito. Os autores em questão não encontraram diferenças estatisticamente significativas nos valores destes dois biomarcadores entre a amostragem pré e pós-exposição ocupacional (503).

Contudo, no nosso estudo (que aparentemente será o pioneiro na avaliação global de uma gama mais alargada de biomarcadores respiratórios ocupacionais, com potencial representação de vários ciclos e vias da fisiopatologia da inflamação pulmonar), detetámos níveis significativamente aumentados de ADMA e de SDMA no EBC dos bombeiros após a exposição dos ensaios de campo da Gestosa e ainda no MDA e no HNE do EBC das amostras colhidas aos bombeiros após os diversos episódios de incêndio real em que estiveram envolvidos.

O HNE também fez parte das nossas escolhas quanto aos aldeídos selecionados para análise do EBC, uma vez que é, como já referimos, um metabolito altamente reativo resultante da peroxidação lipídica, e cujos níveis estão elevados em importantes patologias respiratórias, nomeadamente na DPOC (342). O HNE é um potente agente alquilante que reage diretamente com o ADN e com várias proteínas, formando adutos proteicos e induzindo stresse celular e mesmo apoptose (612). Rahman e col. detetaram níveis elevados deste biomarcador em fragmentos pulmonares provenientes de resseções cirúrgicas de doentes com DPOC, quer a nível brônquico, quer alveolar, observando uma correlação negativa com os valores de FEV₁ (612).

Observámos valores superiores de HNE nos bombeiros pré-exposição face à nossa amostra controlo, bem como nos valores pós-exposição. Por outro lado o HNE foi significativamente maior nas amostras obtidas após incêndio real, face às obtidas após os ensaios da Gestosa, o

que também aconteceu com outros parâmetros avaliados e que pode potencialmente traduzir a maior intensidade da agressão inalatória verificada em incêndios florestais reais.

Vários dos mecanismos apresentados podem ser responsáveis pelo aumento dos fenômenos inflamatórios em bombeiros expostos. Um dos mais bem estudados é precisamente o da exposição a partículas respiráveis. A combinação de vários estudos *in vitro* e *in vivo* suportam a ideia que as partículas respiráveis aumentam os fenômenos de stresse oxidativo pulmonar. A perturbação dos macrófagos alveolares induzida pela inalação de partículas pode induzir a formação de ROS, citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento e TNF- α , com subsequente lesão celular (613).

A perturbação da função ciliar, induzida pelas alterações da homeostasia do NO observada após a inalação de partículas, pode ser responsável pela acumulação de secreções, aumento do risco de infecção respiratória e obstrução brônquica. Por outro lado, as ROS e outros oxidantes como o H₂O₂ e o superóxido podem lesar diretamente os cílios da mucosa respiratória (613). Certo é que a exposição *in vivo* de ratos a fumos de combustão de madeira provoca uma alteração dos seus macrófagos alveolares e menor ativação linfocitária (614). Já previamente Leonard e col. tinham demonstrado várias alterações em culturas de macrófagos murinos expostas a fumo de combustão de madeiras, onde se destacavam lesões do ADN, peroxidação lipídica, ativação do fator de transcrição nuclear *NFkappaB* e libertação de TNF- α (615)

Pope e col. estudaram a mortalidade por todas as causas, por causas cardiopulmonares e por cancro do pulmão nas áreas metropolitanas dos EUA e concluíram que poderia estar relacionada com a exposição a atmosferas poluídas contendo partículas finas respiráveis e óxidos de enxofre. Cada aumento de 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ na poluição atmosférica por partículas finas estava associado aproximadamente com um aumento de 4, 6 e 8% do risco de mortalidade por todas as causas, por causa cardiopulmonar e por cancro do pulmão, respetivamente (616).

A própria persistência dos fenômenos inflamatórios pulmonares e sistêmicos desencadeados pelas diversas espécies reativas pode ser responsável pelo aumento da incidência de várias patologias entre os grupos mais expostos, nomeadamente DPOC, asma brônquica, neoplasias e patologia intersticial (610, 617, 618).

Será natural assumir também que a exposição a elevados níveis de agentes químicos agressivos (CO, aldeídos, outros COVs, NO₂) presentes no fumo dos incêndios florestais possa induzir fenômenos de lesão pulmonar, pelos mecanismos fisiopatológicos já apontados.

Pensamos, pois, que os fenómenos que observámos e monitorizámos de forma não invasiva na nossa amostra do Projeto FUMEXP, dos quais destacamos o aumento da obstrução brônquica, o stresse oxidativo e nitrosativo e a peroxidação lipídica, sejam resultado da sinergia de múltiplas exposições concomitantes e possam vir a ser responsáveis pelo aumento de várias patologias, nomeadamente de tipo intersticial e obstrutivo pulmonar (asma e DPOC), sistémico (lesão endotelial vascular) e eventualmente neoplásico.

5.2 PROJETO DE INVESTIGAÇÃO NA INDÚSTRIA

Foi nosso objetivo aplicar as metodologias que desenvolvemos no triénio do Projeto FUMEXP ao estudo não invasivo de trabalhadores ocupacionalmente expostos a riscos inalatórios. Decidimos efetuá-lo em dois tipos de indústria (calçado e plásticos) por representarem um papel importante na economia nacional, mas sobretudo devido ao elevado potencial de exposição diária a compostos orgânicos voláteis da mais variada tipologia e potencialmente indutores de alterações fisiopatológicas respiratórias importantes.

Quisemos, assim, dar o nosso contributo alargado para a futura utilização das sinergias dos métodos e técnicas utilizados em ambiente ocupacional e sobretudo para a promoção de estratégias preventivas que possibilitem a monitorização não invasiva regular de trabalhadores expostos e que possa constituir um importante auxílio à tomada de decisões no âmbito da Saúde e Segurança no Trabalho.

Após a interpretação dos principais resultados obtidos, é da nossa opinião que, face aos conhecimentos atuais, a perspetiva que nos parece mais interessante e com impacto futuro no acompanhamento dos trabalhadores ocupacionalmente expostos a riscos inalatórios é a utilização concomitante de formas mais clássicas de avaliação respiratória (nomeadamente a espirometria e os exames radiológicos) juntamente com inovadora metodologia não invasiva, onde precisamente destacamos a $F_{E}NO$ e o EBC. Relativamente ao último, enfatizamos o imenso potencial resultante do facto de, no mesmo volume colhido, poderem ser determinados múltiplos parâmetros que refletem fenómenos e vias fisiopatológicas distintas. A verificação de inter-relações entre os dados de exposição ambiental e de monitorização individual também nos parece de grande relevo porque, para além de permitir averiguar o cumprimento dos limites definidos na Lei, possibilita a identificação dos postos e sectores de trabalho de maior risco e onde devem ser tomadas medidas mais precoces.

As nossas amostras industriais diferiam entre si no tipo e magnitude dos riscos: a amostra da indústria do calçado com níveis de exposição muito mais significativos a COVs face à amostra da indústria de plásticos. Este fenómeno também foi confirmado pelas avaliações independentes efetuadas por organismos autónomos e homologados, que reportaram níveis de risco superiores na empresa do ramo do calçado que estudámos.

Por outro lado e tal como já tínhamos efetuado no Projeto FUMEXP, recorreremos ao modelo estatístico *General Linear Model* (GLM) para controlar as variáveis género e/ou idade, que poderiam induzir vieses na interpretação da significância dos resultados.

5.2.1 Monitorização da exposição

Os níveis de exposição a COVs na amostra da indústria do calçado foram muito elevados, próximos do limiar de deteção máximo dos equipamentos (1000 ppm) e muito superiores em média aos obtidos na amostra da indústria de plásticos. Este fenómeno pode ter sido dependente de muitos fatores: tipo, duração e técnica de trabalho, matérias-primas e compostos químicos utilizados, ventilação dos locais de trabalho e estratégias gerais em Saúde e Segurança.

Não obstante termos monitorizado apenas os COVs totais e esta medida não identificar individualmente os COVs de maior risco potencial, certo é que, ao avaliarmos os resultados do relatório da monitorização externa independente posteriormente solicitada, observamos que os níveis de etilenoglicol e de percloroetileno ultrapassavam os limites recomendáveis, o que, conjuntamente com o nosso estudo, levou à pronta implementação de medidas pela empresa em causa.

Na indústria de plásticos e embora todos os COVs individuais estudados pela empresa externa estivessem dentro dos limites legais, como o valor do tolueno (61 mg/m^3) se encontrava acima de metade do VLE estabelecido pela normativa em vigor ($1/2 \text{ VLE-MP}=96 \text{ mg/m}^3$), também foram tomadas medidas no sentido de reduzir a exposição química inalatória.

Na indústria nacional do calçado foram descritas, por Mayan e col., exposições significativas a COVs (onde se destacavam o tolueno e o *n*-hexano), verificando-se uma correlação linear entre o metabolito urinário 2,5 hexanediona e a exposição a *n*-hexano. Curiosamente, na empresa estudada, os COVs mais elevados eram outros químicos, também com riscos significativos (533, 535).

Atendendo a que a família dos COVs é vastíssima, pensamos que a escolha dos COVs individuais a monitorizar deve estar sempre dependente do conhecimento do processo produtivo em questão, bem como dos químicos e da matéria-prima envolvidos e da sua descrição molecular; por outro lado, situações em que a matéria-prima tem que ser aquecida ou em que sejam necessárias misturas entre substâncias químicas diferentes, devem ser avaliadas com particular atenção, pelo facto de os efluentes resultantes poderem contaminar a atmosfera de trabalho de forma secundária, para além dos poluentes primários já presentes.

5.2.2 Estudo da função ventilatória

Após a aplicação do modelo GLM, não foram observadas diferenças significativas entre a amostra controlo e a amostra da indústria do calçado em pré-exposição. Observou-se, contudo, uma diminuição estatisticamente significativa dos parâmetros espirométricos FEV₁ ($p=0,006$) e CVF ($p=0,005$) entre o início e o final da semana de trabalho.

A amostra da indústria de plásticos apresentou valores mais baixos de DEM₂₅ e de FEV₁/CVF após o ajuste para a idade, através do modelo GLM.

Não houve diferenças significativas entre os parâmetros espirométricos desta amostra antes da exposição e no final da semana de trabalho, o que poderá eventualmente estar relacionado com a menor exposição inalatória verificada na amostra desta empresa.

Poucos estudos avaliaram a evolução dos parâmetros espirométricos de trabalhadores expostos regularmente a solventes orgânicos na sua profissão e mais raros são os estudos longitudinais que avaliaram a função respiratória ao longo do turno ou da semana de trabalho.

Harving e col. observaram diminuição do FEV₁ após a exposição de indivíduos asmáticos e/ou com hiper-reatividade brônquica a metacolina a solventes orgânicos em cabina. No entanto, este estudo não foi efetuado em ambiente ocupacional real, mas sim com exposição a doses crescentes de uma mistura de solventes orgânicos (contendo *n*-hexano e 3-xileno, entre outros), com concentrações máximas de 25 mg/m³ (528).

Ould-Kadi e col. referem valores de FEV₁ mais baixos num estudo transversal descritivo realizado em trabalhadores expostos a solventes numa empresa de gás e eletricidade da Argélia, bem como maiores níveis de hiper-reatividade brônquica (619).

Schweigert e col. observaram uma correlação negativa entre a exposição a solventes orgânicos e o FEV₁ e a CVF em trabalhadores de uma empresa de pintura e acabamento no ramo automóvel (620).

Num outro estudo sobre estimativas de exposição ocupacional através de matrizes de tipo de emprego realizada no âmbito do Programa francês PAARC (*Pollution Atmosphérique et Affections Respiratoires Chroniques*), Le Moual e col. apontam uma associação forte entre a diminuição do FEV₁ e a exposição a poeiras, gases e fumos químicos e uma associação possível quanto à exposição a solventes (621).

Angerer e col. verificaram a presença de uma diminuição significativa do FEV₁ ao longo do turno em trabalhadores expostos a solventes orgânicos na aplicação de pisos, alteração essa que foi mais notável no grupo dos indivíduos fumadores e no grupo dos mais jovens (521).

Especificamente no trabalho com plásticos, num estudo transversal descritivo na Índia, realizado com trabalhadores de reciclagem, Khaliq e col. tinham também observado uma diminuição significativa da função ventilatória nos parâmetros DEM₂₅, DEM₅₀, DEM₇₅, DEM₂₅₋₇₅, CVF, FEV₁, CV, VT, VRE, VMV) (555).

5.2.3 Avaliação do stresse oxidativo, stresse nitrosativo e peroxidação lipídica

5.2.3.1 Avaliação da F_ENO

Nas determinações da F_ENO que realizámos às nossas amostras da indústria do calçado e de plásticos, no início e no fim do turno e também comparativamente à amostra controlo, não observámos diferenças estatisticamente significativas.

Da revisão da literatura que efetuámos, só um estudo averiguou especificamente a evolução da F_ENO em trabalhadores da indústria do calçado: Maniscalco e col. (542) estudaram 17 trabalhadores e 10 controlos e verificaram um aumento da F_ENO de 9,1±1,3 ppb para 12,8±1,7 ppb ao longo do turno ($p < 0,02$). Na nossa amostra, observámos um aumento não significativo de 12,82±11,01 ppb (pré-turno e início da semana de trabalho) para 13,91±9,61 ppb (pós-turno e final da semana de trabalho) ($p = 0,23$).

Estes autores postulam que a interferência provocada pela exposição a solventes no NO das vias aéreas possa ser relacionada com alterações da dinâmica e atividade da NOS, ou eventualmente com alterações das reações químicas que envolvem o NO nas vias aéreas;

estímulos pró-inflamatórios, tais como a inalação de tolueno ou xileno, poderiam estimular a expressão da iNOS (542).

Atendendo à importância e facilidade de determinação da F_eNO , pensamos que esta deveria ser significativamente mais usada em ambiente ocupacional, nomeadamente industrial, quer na monitorização de trabalhadores expostos, quer na tomada de decisões clínicas e médico-legais em concomitância com outros exames respiratórios, tais como a monitorização espirométrica ou do DEMI nos locais de trabalho.

5.2.3.2 Avaliação do EBC

Na amostra da indústria do calçado obtivemos valores significativamente mais altos de ornitina e das metilarginases ADMA e SDMA, bem como do MDA face à amostra controlo; contudo, após o ajustamento para a idade e género através da metodologia GLM, o aumento do valor de MDA perdeu a significância estatística.

Quanto à amostra da indústria de plásticos, e após a aplicação da mesma metodologia, observámos uma diferença significativa para os parâmetros arginina e 8-isoprostano, que se encontravam mais elevados face à amostra controlo.

Ao comparar o início e o final de turno (do início e final de uma semana de trabalho) na indústria do calçado, observámos um aumento significativo dos parâmetros citrulina, SDMA e nitratos. Todos os outros parâmetros avaliados no EBC desta amostra subiram entre as duas determinações, embora de forma não significativa.

Ao comparar o início e o final de turno (do início e final de uma semana de trabalho) na indústria de plásticos, não observámos diferenças estatisticamente significativas.

Pensamos que estes resultados estão em relação próxima com o facto de as exposições ocupacionais inalatórias que detetámos na empresa de plásticos estudada serem significativamente menores do que as verificadas na empresa do calçado, o que poderá, naturalmente, induzir uma menor intensidade de fenómenos inflamatórios e de produção de ROS e RNS, bem como de metabolitos de peroxidação lipídica. De igual modo, como já referido anteriormente, e ao contrário do verificado na amostra da indústria do calçado, não houve diferenças significativas em nenhum dos parâmetros da espirometria obtidos nos mesmos dois tempos de medição em que foi obtida a amostra de EBC e o valor da F_eNO .

Na revisão da literatura que efetuámos, não encontramos qualquer estudo que tivesse monitorizado o EBC de indivíduos expostos ocupacionalmente, quer de forma transversal descritiva, quer de forma prospetiva.

5.3 SÍNTESE

Na nossa tese, tivemos como objetivo central o desenvolvimento e a aplicação de técnicas e metodologias não invasivas de monitorização dos fenómenos fisiopatológicos que eventualmente possam ocorrer como resultado de exposições ocupacionais de risco.

Quisemos efetuar uma abordagem alargada das várias vertentes potencialmente implicadas no complexo processo da homeostasia (e possível desregulação) das delicadas vias e ciclos bioquímicos e fisiológicos respiratórios, que poderão constituir precisamente o início do processo de doença, ocupacional ou não ocupacional.

Muito nos motivou o recente desenvolvimento de novos métodos não invasivos (onde destacamos a F_ENO e o EBC) de enorme potencial no estudo, avaliação e melhor compreensão destes fenómenos. O próprio desenvolvimento exponencial no conhecimento das principais vias de etiopatogénese da doença respiratória, nomeadamente através da produção de radicais livres, de várias espécies reativas e da perturbação dos mecanismos auto-reguladores do NO e de outras moléculas no sistema respiratório, muito tem contribuído para uma nova perspetiva sobre o binómio saúde-doença.

Verificámos existir uma lacuna significativa na produção de estudos que tivessem uma abordagem deste tema numa perspetiva preventiva, nomeadamente adaptada à realidade da Saúde Ocupacional.

Assim, ambicionámos produzir sinergias entre formas mais clássicas de avaliação dos fenómenos respiratórios (como o são os estudos funcionais) com novas metodologias, igualmente não invasivas, que aplicámos a várias amostras constituídas por diversos elementos de distintas profissões de risco inalatório suposto ou já reconhecido, num esforço, que julgamos ser pioneiro, de avaliação simultânea de múltiplos parâmetros e biomarcadores.

Obtivemos resultados que nos permitiram confirmar não só o risco geral destas ocupações, mas também, ao que supomos, lançar uma nova luz sobre os processos fisiopatológicos potenciais que podem ser subjacentes ao surgimento de novos casos de doença profissional respiratória.

Dentro das principais limitações dos nossos estudos, referimos o tamanho das amostras (que por vicissitudes diversas, de ordem técnica e organizacional, não foi tão grande como desejaríamos) e o facto de não as podermos ter selecionado de forma aleatória. Escolhemos um painel alargado de biomarcadores que investigámos em vários tempos de colheita, dentro das exposições ocupacionais das nossas amostras.

Será sempre lícito pensar que, face à complexidade dos mecanismos fisiológicos e fisiopatológicos respiratórios, outros biomarcadores também poderiam ser de elevado interesse; é obviamente uma limitação que poderemos vir a corrigir ao desenvolver futuramente novos estudos neste âmbito. Por outro lado, nem sempre conseguimos efetuar todas as monitorizações de exposição ocupacional individual que objetivámos (mais uma vez por motivos técnicos e/ou de motivação dos elementos da amostra); este facto pode ter prejudicado o estudo da associação das variáveis entre si, ao não permitir, em todas as ocasiões, uma leitura e interpretação estatística mais global e abrangente.

São seguramente limitações que não queríamos deixar de apontar e que nos motivarão certamente para a realização de novos projetos na área da saúde ocupacional respiratória, privilegiando sempre uma abordagem preventiva, que infelizmente tem sido algo esquecida na produção científica internacional e nacional.

6. CONCLUSÕES

É atualmente possível realizar o estudo e monitorização de populações ocupacionalmente expostas a riscos inalatórios através da conjugação entre exames complementares de diagnóstico mais clássicos (como o são os exames de função respiratória e os exames imagiológicos) e novas metodologias de avaliação não invasiva das vias respiratórias (nomeadamente a avaliação da $F_{E}NO$ e de vários parâmetros do EBC).

Estas metodologias são tecnicamente exequíveis e aplicáveis em ambiente ocupacional, possuindo uma excelente adesão por parte dos trabalhadores. Poderão, mesmo, complementar ou substituir em algumas situações, técnicas mais invasivas (broncofibroscopia com LBA), ou mais desagradáveis na forma de obtenção da amostra (estudo da expetoração induzida).

Os novos métodos e técnicas propostos poderão, a curto e médio prazo, vir a desempenhar um papel de relevo no melhor conhecimento da fisiopatologia das doenças ocupacionais respiratórias e sobretudo permitir a monitorização e rastreio precoces de alterações ainda em fase reversível.

Damos particular destaque ao futuro do EBC em ambiente ocupacional: a sua obtenção é muito fácil e rápida e a amostra colhida pode ser trabalhada laboratorialmente quanto a um significativo número de biomarcadores, que podem dar uma perspetiva abrangente sobre os fenómenos inflamatórios respiratórios presentes em trabalhadores expostos, nos mais diferentes tipos de profissão; estes marcadores têm o potencial de monitorizar os fenómenos de stresse oxidativo, nitrosativo e de peroxidação lipídica e que constituem, à luz dos conhecimentos atuais, as vias e ciclos mais importantes na génese e etiologia das doenças respiratórias.

É nosso objetivo de trabalho futuro constituir uma base sólida institucional a nível do Centro de Pneumologia e do Instituto de Higiene e Medicina Social da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, que possibilite estudar e monitorizar futuramente populações ocupacionais mais numerosas e eventualmente estabelecer parcerias que permitam estender este tipo de monitorização a um universo mais alargado.

Nos grupos ocupacionais estudados (amostra de bombeiros portugueses – Projeto FUMEXP e amostra industrial – indústria do calçado e de plásticos) realizámos a aplicação desta estratégia conjunta de monitorização e avaliação dos vários mecanismos fisiopatológicos potencialmente

indutores de doença respiratória ocupacional e obtivemos alguns resultados que consideramos relevantes:

No Projeto FUMEXP, que envolveu o estudo de uma amostra saudável de quatro corporações de bombeiros da Região Centro do País, regularmente envolvidos em combate a fogos florestais, detetámos uma diminuição de alguns parâmetros espirométricos ao longo dos três anos de estudo ($FEV_{1,}$ $DEM_{50,}$ DEM_{25} e DEM_{25-75}), nomeadamente no setor etário mais jovem, ao contrário do que seria expectável na normal evolução espirométrica dos jovens com menos de 25 anos.

Não obstante tratar-se de uma amostra saudável e com *scores* acima da média nacional nos inquéritos SF-36 e SF-6D, observámos uma discreta diminuição, não significativa, de algumas das suas dimensões.

Na avaliação dos vários parâmetros respiratórios que realizámos, quer após ensaios de campo com fogos prescritos, quer após incêndio real, observámos valores elevados de CO exalados (e da percentagem de carboxihemoglobina medida indiretamente) e uma diminuição da F_eNO ; este último fenómeno pensamos poder estar em associação com uma redução da expressão da iNOS, já debatida em outros estudos que envolveram fumadores ou linhas celulares expostas a fumo (339, 341).

Ao avaliarmos, através dos estudos do EBC, vários outros biomarcadores de stresse oxidativo, stresse nitrosativo e peroxidação lipídica, constatámos valores mais elevados face a uma amostra controlo de indivíduos saudáveis, bem como o seu aumento generalizado após a exposição ao fumo dos incêndios florestais; obteve-se significância estatística para várias destas diferenças:

-Entre a amostra antes e após os ensaios de campo: arginina, ornitina, prolina, hidroxiprolina, citrulina, isoleucina, leucina, tirosina, ADMA, SDMA e MDA.

-Entre a amostra pré-exposição e após incêndios reais: arginina, ornitina, prolina, hidroxiprolina, citrulina, isoleucina, leucina, tirosina, ADMA, SDMA, MDA, HNE e 8-isoprostano.

-Entre a amostra após ensaios de campo e após incêndios reais: arginina, ornitina, prolina, isoleucina, leucina, tirosina, MDA e HNE.

A etiologia da elevação de muitos destes biomarcadores estudados pode potencialmente estar relacionada com as múltiplas exposições de risco que monitorizámos nesta amostra; destacamos os elevados valores de exposição a CO, COVs, $PM_{2,5}$ e NO_2 , que ultrapassaram várias vezes as recomendações nacionais e internacionais. O nosso Projeto pode, mesmo

assim, ter subavaliado algumas destas exposições, o que se deveu ao limiar de deteção dos equipamentos usados e ao facto de não ter sido efetuada a avaliação estratificada dos diferentes COVs presentes no fumo (mas apenas a medição do seu valor total).

Não quisemos limitar-nos apenas ao ambiente ocupacional de risco vivido pelos bombeiros, não obstante a sua importância e relevo nacionais. Assim, estendemos a metodologia que tínhamos desenvolvido no Projeto FUMEXP à avaliação do risco de saúde de outros profissionais expostos, tendo escolhido pela sua relevância, o sector do calçado e dos plásticos.

Nos estudos que efetuámos em amostras destas duas indústrias, expostas regularmente a vários tipos de COVs, observámos, desde logo, diferenças na magnitude das exposições (consideravelmente maior na empresa do calçado), facto este que pode estar dependente do tipo de indústria e também dos métodos e técnicas laborais, bem como da intervenção dos Serviços de Saúde e Segurança no Trabalho. Esta exposição significativa na indústria do calçado nacional já tinha sido referida em estudos anteriores (533). De facto, a monitorização dos COVs totais desta amostra mostrou valores de pico muito próximos do limiar de deteção do equipamento usado (1000 ppm).

No que diz respeito ao estudo da função ventilatória, observou-se uma diminuição estatisticamente significativa dos parâmetros espirométricos FEV₁ e CVF entre o início e o final da semana de trabalho. Pelo contrário, na indústria dos plásticos não se verificaram alterações estatisticamente significativas nestas duas medidas diferenciadas.

Em ambas as amostras industriais não foram detetadas alterações estatisticamente significativas da F_eNO. Contudo, na extensa avaliação dos biomarcadores do EBC, verificámos níveis mais elevados de ornitina e das metilarginases ADMA e SDMA, na amostra da empresa do calçado face à amostra controlo. Nas comparações entre o início e o fim da semana de trabalho, observámos um aumento significativo dos parâmetros citrulina, SDMA e nitratos e um aumento não significativo de todos os outros parâmetros estudados.

Na amostra da indústria de plásticos, só observámos valores significativamente mais altos dos parâmetros medidos antes do início da exposição ocupacional face aos da amostra controlo, no caso da arginina e do 8-isoprostano. Contrariamente ao ocorrido na amostra da empresa do calçado, não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os dois tempos de colheita, no início e final da semana de trabalho.

CONCLUSÕES

Ao longo dos estudos desenvolvidos nesta tese, obtivemos resultados que nos permitiram confirmar não só o risco geral de várias profissões avaliadas, mas também, estabelecer algumas correlações entre os tipos de exposição e múltiplos biomarcadores que podem estar alterados nas fases iniciais de várias doenças respiratórias, sendo importantes sinalizadores de alguns dos fenómenos fisiopatológicos pulmonares fundamentais.

Quisemos efetuar estudos essencialmente não invasivos e, sempre que possível, inovadores. Era nosso objetivo aplicar novas técnicas e metodologias ao estudo dos complexos mecanismos subjacentes ao delicado binómio saúde-doença respiratória.

O futuro dirá se os resultados que alcançámos e os métodos que desenvolvemos, para além de avaliarem e traduzirem riscos específicos de determinadas profissões, poderão vir a ser usados de forma generalizada na prática clínica em Medicina Preventiva e, sobretudo, na área da Saúde Ocupacional.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Huang Y-CT, Ghio AJ, Maier LA. A clinical guide to occupational and environmental lung diseases. New York: Humana Press; 2012.
2. Ferreira AJ, Cemlyn-Jones J, Robalo Cordeiro C. Nanoparticles, nanotechnology and pulmonary nanotoxicology. *Rev Port Pneumol*. 2013 Jan-Feb;19(1):28-37.
3. Cullinan P, D'Souza E, Tennant R, Barber C. Lesson of the month: extrinsic allergic (bronchiolo)alveolitis and metal working fluids. *Thorax*. 2014 Jul 8.
4. Kern DG, Crausman RS, Durand KT. The natural history of flock worker's lung. *Chest*. 2014 Jan;145(1):185-6.
5. Blanc PD. Historical Perspective of Occupational and Environmental Lung Disease. In: Huang Y-CT, Ghio AJ, Maier LA, editors. *A Clinical Guide to Occupational and Environmental Lung Diseases*: Humana Press; 2012. p. 1-26.
6. Canhão TF. A literatura egípcia do Império Médio: espelho de uma civilização. [Tese de doutoramento em Historia (Historia Antiga) apresentada à Faculdade de Letras da Universidade de Lisboa.]. Lisboa 2010.
7. Banks DE, Parker JE. Occupational lung disease: an international perspective. London: Chapman & Hall; 1998.
8. Bork RO. *De re metallica : the uses of metal in the Middle Ages*. Aldershot: Ashgate; 2005.
9. Ramazzini B, Wright WC. *De morbis artificum Diatriba*. Diseases of workers. The Latin text of 1713, revised, with translation and notes by Wilmer Cave Wright. [With a portrait.]. Chicago: University of Chicago Press; 1940.
10. Franco G. Ramazzini's "De morbis artificum Diatriba" and society, culture, and the human condition in the seventeenth century. *Int J Occup Environ Health*. 2000 Apr-Jun;6(2):80-5.
11. Thackrah CT. The effects of the principal arts, trades and professions and of civic states and habits of living, on health and longevity : with a particular reference to the trades and manufactures of Leeds: and suggesting for the removal of many of the agents which produce disease and shorten the duration of life. London: Longman, Rees, Orme, Brown and Green; 1831.
12. Fee E, Brown TM. Alice Hamilton: settlement physician, occupational health pioneer. *Am J Public Health*. 2001 Nov;91(11):1767.
13. Salerno DF, Feitshans IL. Alice Hamilton, MD: gaining visibility for industrial medicine. *J Epidemiol Community Health*. 2003 Oct;57(10):791.
14. Baron SL, Brown TM. Alice Hamilton (1869-1970): mother of US occupational medicine. *Am J Public Health*. 2009 Nov;99 Suppl 3:S548.
15. Nunes JPA. O Estado Novo e o volfrâmio (1933-1947): projectos de sociedade e opções geoestratégicas em contextos de recessão e de guerra económica [Tese de doutoramento em História (História Contemporânea), apresentada à Faculdade de Letras da Universidade de Coimbra]. Coimbra, 2005.
16. Graça L. Textos sobre saúde e trabalho. Notas sobre a Evolução do Ensino e da Prática da Medicina do Trabalho em Portugal. Pág. 18. Lisboa, 2005.
<http://www.ensp.unl.pt/lgraca/textos18.html>. Acedido em janeiro 2014.
17. Livro branco dos serviços de prevenção das empresas. Comissão do Livro Branco dos Serviços de Prevenção. 2nd ed. Lisboa: IDICT; 2001.
18. Venema A, van den Heuvel S, Geuskens G. Results of the Labour Force Survey 2007 ad hoc module on accidents at work and work-related health problems. Hoofddorp; 2009.
19. Commission E. Health and safety at work in Europe (1999–2007). Luxembourg: European Commission; 2010. Report No.: 978-92-79-14606-0.
20. Instituto de Desenvolvimento e Inspeção das Condições de Trabalho. Serviços de prevenção das empresas : livro verde. Lisboa: IDICT; 1997.

21. Portugal. Ministério da Saúde. Departamento de Estudos e Planeamento da Saúde. Divisão Geral de Estatística ec. Elementos Estatísticos: Informação Geral: Saúde 2008. Lisboa; 2010. Report No.: ISSN 0872-1114.
22. UGT. Compilação de Dados Estatísticos sobre Sinistralidade Laboral e Doenças Profissionais em Portugal. Lisboa; 2012.
23. Ghio AJ. Pneumoconiosis in the Twenty-First Century. In: Huang Y-CT, Ghio AJ, Maier LA, editors. A clinical guide to occupational and environmental lung diseases. New York: Humana Press; 2012. p. 171-87.
24. ILO. The Prevention of Occupational Diseases. Geneva; 2013.
25. Ahasic AM, Christiani DC. Respiratory Disorders. In: Levy BS, editor. Occupational and environmental health : recognizing and preventing disease and injury. 6th ed. ed. Oxford: Oxford University Press; 2011.
26. Cordeiro AJAR. Pneumologia Fundamental. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 1995.
27. Akira M. High-resolution CT in the evaluation of occupational and environmental disease. *Radiol Clin North Am.* 2002 Jan;40(1):43-59.
28. Savranlar A, Altin R, Mahmutyazicioglu K, Ozdemir H, Kart L, Ozer T, et al. Comparison of chest radiography and high-resolution computed tomography findings in early and low-grade coal worker's pneumoconiosis. *Eur J Radiol.* 2004 Aug;51(2):175-80.
29. Begin R, Ostiguy G, Fillion R, Colman N. Computed tomography scan in the early detection of silicosis. *Am Rev Respir Dis.* 1991 Sep;144(3 Pt 1):697-705.
30. American Thoracic Society. Medical Section of the American Lung Association: The diagnosis of nonmalignant diseases related to asbestos. *Am Rev Respir Dis.* 1986 Aug;134(2):363-8.
31. Fujimura N. Pathology and pathophysiology of pneumoconiosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2000 Mar;6(2):140-4.
32. Bricchet A, Salez F, Lamblin C, Wallaert B. Coal Workers' Pneumoconiosis and Silicosis. In: Mapp CE, editor. Occupational lung disorders ERS monograph 11. Sheffield: European Respiratory Society Journals; 1999.
33. Leung CC, Yu IT, Chen W. Silicosis. *Lancet.* 2012 May 26;379(9830):2008-18.
34. Greenberg MI, Waksman J, Curtis J. Silicosis: a review. *Dis Mon.* 2007 Aug;53(8):394-416.
35. Santos C, Norte A, Fradinho F, Catarino A, Ferreira AJ, Loureiro M, et al. Silicosis - brief review and experience of a pulmonology ward. *Rev Port Pneumol.* 2010 Jan-Feb;16(1):99-115.
36. ILO. Guidelines for the use of the ILO International Classification of Radiographs of Pneumoconioses. ILO, editor. Geneva: ILO; 2011.
37. Cordeiro CR, Jones JC, Alfaro T, Ferreira AJ. Bronchoalveolar lavage in occupational lung diseases. *Semin Respir Crit Care Med.* 2007 Oct;28(5):504-13.
38. Di Giuseppe M, Gambelli F, Hoyle GW, Lungarella G, Studer SM, Richards T, et al. Systemic inhibition of NF-kappaB activation protects from silicosis. *Plos One.* 2009;4(5):e5689.
39. Dodson RF, Hammar SP. Asbestos : risk assessment, epidemiology, and health effects. Boca Raton: Taylor & Francis; 2005.
40. Guia de boas práticas para prevenir ou minimizar os riscos decorrentes do amianto em trabalhos que envolvam (ou possam envolver) amianto, destinado a empregadores, trabalhadores e inspectores do trabalho. Comissão Europeia; 2006.
41. UONIE/ACSS. Guia para procedimentos de inventariação de materiais com amianto e acções de controlo em unidades de saúde – G 03/2008 Lisboa; 2008.
42. Decreto-Lei n.º 266/2007, de 24 de Julho. Diário da República, 1.ª série — N.º 141 — 24 de Julho de 2007. Ministério do Trabalho e da Solidariedade Social.
43. Tossavainen A. Asbestos, asbestosis, and cancer: the Helsinki criteria for diagnosis and attribution. *Scand J Work Environ Health.* 1997 Aug;23(4):311-6.
44. Pipavath SN, Godwin JD, Kanne JP. Occupational lung disease: a radiologic review. *Semin Roentgenol.* 2010 Jan;45(1):43-52.

45. Begin R. Asbestos-related Disorders. In: Mapp CE, editor. Occupational lung disorders ERS monograph 11. Sheffield: European Respiratory Society Journals; 1999.
46. Ho L, Kuschner WG. Hypersensitivity Pneumonitis. In: Huang Y-CT, Ghio AJ, Maier LA, editors. A clinical guide to occupational and environmental lung diseases. New York: Humana Press; 2012. p. 113-32.
47. Hirschmann JV, Pipavath SN, Godwin JD. Hypersensitivity pneumonitis: a historical, clinical, and radiologic review. *Radiographics*. 2009 Nov;29(7):1921-38.
48. Agostini C, Trentin L, Facco M, Semenzato G. New aspects of hypersensitivity pneumonitis. *Curr Opin Pulm Med*. 2004 Sep;10(5):378-82.
49. Fink JN, Ortega HG, Reynolds HY, Cormier YF, Fan LL, Franks TJ, et al. Needs and opportunities for research in hypersensitivity pneumonitis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Apr 1;171(7):792-8.
50. Lacasse Y, Girard M, Cormier Y. Recent advances in hypersensitivity pneumonitis. *Chest*. 2012 Jul;142(1):208-17.
51. Thomeer MJ, Costabel U, Rizzato G, Poletti V, Demedts M. Comparison of registries of interstitial lung diseases in three European countries. *Eur Respir J Suppl*. 2001 Sep;32:114s-8s.
52. Bang KM, Weissman DN, Pinheiro GA, Antao VC, Wood JM, Syamlal G. Twenty-three years of hypersensitivity pneumonitis mortality surveillance in the United States. *Am J Ind Med*. 2006 Dec;49(12):997-1004.
53. Winck JC, Delgado L, Murta R, Lopez M, Marques JA. Antigen characterization of major cork moulds in Suberosis (cork worker's pneumonitis) by immunoblotting. *Allergy*. 2004 Jul;59(7):739-45.
54. Morais A, Winck JC, Delgado L, Palmares MC, Fonseca J, Moura e Sa J, et al. Suberosis and bird fancier's disease: a comparative study of radiological, functional and bronchoalveolar lavage profiles. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2004;14(1):26-33.
55. Salvaggio JE, Vockroth AE, Lopez M. Hypersensitivity Pneumonitis. In: Banks DE, Parker JE, editors. Occupational lung disease : an international perspective. London: Chapman & Hall; 1998. p. 435-51.
56. Costabel U, Bonella F, Guzman J. Chronic hypersensitivity pneumonitis. *Clin Chest Med*. 2012 Mar;33(1):151-63.
57. Zacharisen MC, Fink JN. Hypersensitivity pneumonitis and related conditions in the work environment. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2011 Nov;31(4):769-86, vii.
58. Thaon I, Reboux G, Moulonguet S, Dalphin JC. [Occupational hypersensitivity pneumonitis]. *Rev Mal Respir*. 2006 Dec;23(6):705-25.
59. Cormier Y, Belanger J, LeBlanc P, Laviolette M. Bronchoalveolar lavage in farmers' lung disease: diagnostic and physiological significance. *Br J Ind Med*. 1986 Jun;43(6):401-5.
60. Mapp CE, Boschetto P. Occupational asthma. Chung KF, Fabbri LM, editors. Sheffield: European Respiratory Society Journals; 2003.
61. Vandenplas O, Malo JL. Definitions and types of work-related asthma: a nosological approach. *Eur Respir J*. 2003 Apr;21(4):706-12.
62. Baur X, Aasen TB, Burge PS, Heederik D, Henneberger PK, Maestrelli P, et al. The management of work-related asthma guidelines: a broader perspective. *Eur Respir Rev*. 2012 Jun 1;21(124):125-39.
63. Tarlo SM, Balmes J, Balkissoon R, Beach J, Beckett W, Bernstein D, et al. Diagnosis and management of work-related asthma: American College Of Chest Physicians Consensus Statement. *Chest*. 2008 Sep;134(3 Suppl):1S-41S.
64. Baur X, Sigsgaard T. The new guidelines for management of work-related asthma. *Eur Respir J*. 2012 Mar;39(3):518-9.
65. Henneberger PK, Redlich CA, Callahan DB, Harber P, Lemiere C, Martin J, et al. An official american thoracic society statement: work-exacerbated asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Aug 1;184(3):368-78.

66. Nicholson PJ, Cullinan P, Burge S. Concise guidance: diagnosis, management and prevention of occupational asthma. *Clin Med*. 2012 Apr;12(2):156-9.
67. Szema AM. Work-exacerbated asthma. *Clin Chest Med*. 2012 Dec;33(4):617-24.
68. Ribeiro M, Tarlo SM. Environmental and Occupational Causes of Asthma. In: Huang Y-CT, Ghio AJ, Maier LA, editors. *A clinical guide to occupational and environmental lung diseases*. New York: Humana Press; 2012. p. 93-112.
69. Tan J, Bernstein JA. Occupational asthma: an overview. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2014 May;14(5):431.
70. Blanc PD, Toren K. How much adult asthma can be attributed to occupational factors? *Am J Med*. 1999 Dec;107(6):580-7.
71. Lemiere C, Boulet LP, Chaboillez S, Forget A, Chiry S, Villeneuve H, et al. Work-exacerbated asthma and occupational asthma: do they really differ? *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Mar;131(3):704-10.
72. Bernstein LI, Bernstein DI, Chan-Yeung M, Malo JL. Definition and Classification of Asthma in the Workplace. In: Bernstein LI, Chan-Yeung M, Malo JL, Bernstein DI, editors. *Asthma in the workplace : and related conditions*. 3rd ed. New York: Taylor & Francis; 2006. p. 1-8.
73. Malo JL, Vandenplas O. Definitions and classification of work-related asthma. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2011 Nov;31(4):645-62, v.
74. Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, Brujnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahela T, et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*. 2001 Sep;56(9):813-24.
75. Newman Taylor AJ, Cullinan P, Burge PS, Nicholson P, Boyle C. BOHRF guidelines for occupational asthma. *Thorax*. 2005 May;60(5):364-6.
76. Tarlo SM, Boulet LP, Cartier A, Cockcroft D, Cote J, Hargreave FE, et al. Canadian Thoracic Society guidelines for occupational asthma. *Can Respir J*. 1998 Jul-Aug;5(4):289-300.
77. Tarlo SM, Liss GM. Evidence based guidelines for the prevention, identification, and management of occupational asthma. *Occup Environ Med*. 2005 May;62(5):288-9.
78. Orriols Martinez R, Abu Shams K, Alday Figueroa E, Cruz Carmona MJ, Galdiz Iturri JB, Isidro Montes I, et al. Guidelines for occupational asthma. *Arch Bronconeumol*. 2006 Sep;42(9):457-74.
79. Lytras T, Bonovas S, Chronis C, Konstantinidis AK, Kopsachilis F, Papamichail DP, et al. Occupational Asthma guidelines: a systematic quality appraisal using the AGREE II instrument. *Occup Environ Med*. 2014 Feb;71(2):81-6.
80. Baur X, Sigsgaard T, Aasen TB, Burge PS, Heederik D, Henneberger P, et al. Guidelines for the management of work-related asthma. *Eur Respir J*. 2012 Mar;39(3):529-45.
81. Beach J, Hoffman H. An Oasys for occupational asthma. *CMAJ*. 2003 Aug 5;169(3):189; author reply -90.
82. Becklake M, Malo JL, Chan-Yeung M. Epidemiological Approaches in Occupational Asthma. In: Bernstein DI, editor. *Asthma in the workplace : and related conditions*. 3rd ed. ed. New York; London: Taylor & Francis; 2006. p. 37-85.
83. Schilling RS. Byssinosis in cotton and other textile workers. *Lancet*. 1956 Aug 11;271(6937):261-5; contd.
84. Schilling RS, Hughes JP, Dingwall-Fordyce I, Gilson JC. An epidemiological study of byssinosis among Lancashire cotton workers. *Br J Ind Med*. 1955 Jul;12(3):217-27.
85. Recommended health-based occupational exposure limits for selected vegetable dusts. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 1983;684:1-78.
86. GOLD. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease / Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). ed. 2014. http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Report_2014_Jun11.pdf. Acedido em julho 2014.

87. Sunyer J, Zock JP, Kromhout H, Garcia-Esteban R, Radon K, Jarvis D, et al. Lung function decline, chronic bronchitis, and occupational exposures in young adults. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005 Nov 1;172(9):1139-45.
88. Zock JP, Sunyer J, Kogevinas M, Kromhout H, Burney P, Anto JM. Occupation, chronic bronchitis, and lung function in young adults. An international study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Jun;163(7):1572-7.
89. Korn RJ, Dockery DW, Speizer FE, Ware JH, Ferris BG, Jr. Occupational exposures and chronic respiratory symptoms. A population-based study. *Am Rev Respir Dis.* 1987 Aug;136(2):298-304.
90. Bakke PS, Baste V, Hanao R, Gulsvik A. Prevalence of obstructive lung disease in a general population: relation to occupational title and exposure to some airborne agents. *Thorax.* 1991 Dec;46(12):863-70.
91. Buist AS, McBurnie MA, Vollmer WM, Gillespie S, Burney P, Mannino DM, et al. International variation in the prevalence of COPD (the BOLD Study): a population-based prevalence study. *Lancet.* 2007 Sep 1;370(9589):741-50.
92. Barbara C, Rodrigues F, Dias H, Cardoso J, Almeida J, Matos MJ, et al. Chronic obstructive pulmonary disease prevalence in Lisbon, Portugal: the burden of obstructive lung disease study. *Rev Port Pneumol.* 2013 May-Jun;19(3):96-105.
93. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 2006 Nov;3(11):e442.
94. Lopez AD, Shibuya K, Rao C, Mathers CD, Hansell AL, Held LS, et al. Chronic obstructive pulmonary disease: current burden and future projections. *Eur Respir J.* 2006 Feb;27(2):397-412.
95. Hnizdo E, Sullivan PA, Bang KM, Wagner G. Association between chronic obstructive pulmonary disease and employment by industry and occupation in the US population: a study of data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol.* 2002 Oct 15;156(8):738-46.
96. Balmes J, Becklake M, Blanc P, Henneberger P, Kreiss K, Mapp C, et al. American Thoracic Society Statement: Occupational contribution to the burden of airway disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Mar 1;167(5):787-97.
97. Blanc PD, Toren K. Occupation in chronic obstructive pulmonary disease and chronic bronchitis: an update. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2007 Mar;11(3):251-7.
98. Blanc PD. Occupation and COPD: a brief review. *J Asthma.* 2012 Feb;49(1):2-4.
99. Mehta AJ, Miedinger D, Keidel D, Bettschart R, Bircher A, Bridevaux PO, et al. Occupational exposure to dusts, gases, and fumes and incidence of chronic obstructive pulmonary disease in the Swiss Cohort Study on Air Pollution and Lung and Heart Diseases in Adults. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012 Jun 15;185(12):1292-300.
100. Burge PS. Occupational Chronic Obstructive Pulmonary Disease. In: Mapp CE, editor. *Occupational lung disorders.* [Sheffield]: European Respiratory Society Journals; 1999. p. 242-54.
101. Diaz-Guzman E, Aryal S, Mannino DM. Occupational chronic obstructive pulmonary disease: an update. *Clin Chest Med.* 2012 Dec;33(4):625-36.
102. Salvi S. Tobacco smoking and environmental risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Chest Med.* 2014 Mar;35(1):17-27.
103. Trupin L, Earnest G, San Pedro M, Balmes JR, Eisner MD, Yelin E, et al. The occupational burden of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J.* 2003 Sep;22(3):462-9.
104. Meldrum M, Rawbone R, Curran AD, Fishwick D. The role of occupation in the development of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Occup Environ Med.* 2005 Apr;62(4):212-4.
105. Fishwick D, Naylor S. COPD and the workplace. Is it really possible to detect early cases? *Occup Med (Lond).* 2007 Mar;57(2):82-4.

106. Hnizdo E, Yan T, Hakobyan A, Enright P, Beeckman-Wagner LA, Hankinson J, et al. Spirometry Longitudinal Data Analysis Software (SPIROLA) for Analysis of Spirometry Data in Workplace Prevention or COPD Treatment. *Open Med Inform J.* 2010;4:94-102.
107. Yu ITS, Tse L, Qiu H. Occupational Lung Cancer. In: Huang Y-CT, Ghio AJ, Maier LA, editors. *A clinical guide to occupational and environmental lung diseases.* New York: Humana Press; 2012. p. 251-64.
108. Couraud S, Zalcmán G, Milleron B, Morin F, Souquet PJ. Lung cancer in never smokers--a review. *Eur J Cancer.* 2012 Jun;48(9):1299-311.
109. De Matteis S, Consonni D, Pesatori AC, Bergen AW, Bertazzi PA, Caporaso NE, et al. Are women who smoke at higher risk for lung cancer than men who smoke? *Am J Epidemiol.* 2013 Apr 1;177(7):601-12.
110. Simonato L, Vineis P, Fletcher AC. Estimates of the proportion of lung cancer attributable to occupational exposure. *Carcinogenesis.* 1988 Jul;9(7):1159-65.
111. van Loon AJ, Kant IJ, Swaen GM, Goldbohm RA, Kremer AM, van den Brandt PA. Occupational exposure to carcinogens and risk of lung cancer: results from The Netherlands cohort study. *Occup Environ Med.* 1997 Nov;54(11):817-24.
112. Driscoll T, Nelson DI, Steenland K, Leigh J, Concha-Barrientos M, Fingerhut M, et al. The global burden of disease due to occupational carcinogens. *Am J Ind Med.* 2005 Dec;48(6):419-31.
113. De Matteis S, Consonni D, Bertazzi PA. Exposure to occupational carcinogens and lung cancer risk. Evolution of epidemiological estimates of attributable fraction. *Acta Biomed.* 2008;79 Suppl 1:34-42.
114. De Matteis S, Consonni D, Lubin JH, Tucker M, Peters S, Vermeulen R, et al. Impact of occupational carcinogens on lung cancer risk in a general population. *Int J Epidemiol.* 2012 Jun;41(3):711-21.
115. Cogliano VJ, Baan R, Straif K, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F, et al. Preventable exposures associated with human cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2011 Dec 21;103(24):1827-39.
116. *European Lung White Book.* Gibson GJ, Loddenkemper R, Sibille Y, Lundbäck B, editors: Sheffield: ERS Journals; 2013.
117. Lenters V, Vermeulen R, Dogger S, Stayner L, Portengen L, Burdorf A, et al. A meta-analysis of asbestos and lung cancer: is better quality exposure assessment associated with steeper slopes of the exposure-response relationships? *Environ Health Perspect.* 2011 Nov;119(11):1547-55.
118. WHO. *Elimination of Asbestos Related Diseases: World Health Organization.* Geneva; 2006.
119. IARC. *A Review of Human Carcinogens: Arsenic, Metals, Fibres, and Dusts.* IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Vol 100 C. Lyon, France; 2009.
120. Nielsen LS, Baelum J, Rasmussen J, Dahl S, Olsen KE, Albin M, et al. Occupational asbestos exposure and lung cancer-a systematic review of the literature. *Arch Environ Occup Health.* 2014;69(4):191-206.
121. Begin R, Gauthier JJ, Desmeules M, Ostiguy G. Work-related mesothelioma in Quebec, 1967-1990. *Am J Ind Med.* 1992;22(4):531-42.
122. Wagner JC, Sleggs CA, Marchand P. Diffuse pleural mesothelioma and asbestos exposure in the North Western Cape Province. *Br J Ind Med.* 1960 Oct;17:260-71.
123. Robertson A, Allen J, Laney R, Curnow A. The cellular and molecular carcinogenic effects of radon exposure: a review. *Int J Mol Sci.* 2013;14(7):14024-63.
124. IARC. *Man-made mineral fibres and radon.* IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Vol. 43. Lyon, France; 1988.
125. IARC. *Silica, some silicates, coal dust and paraaramid fibrils.* IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Vol. 68. Lyon, France; 1997.

126. Sanderson WT, Petersen MR, Ward EM. Estimating historical exposures of workers in a beryllium manufacturing plant. *Am J Ind Med.* 2001 Feb;39(2):145-57.
127. Steenland K, Ward E. Lung cancer incidence among patients with beryllium disease: a cohort mortality study. *J Natl Cancer Inst.* 1991 Oct 2;83(19):1380-5.
128. Ward E, Okun A, Ruder A, Fingerhut M, Steenland K. A mortality study of workers at seven beryllium processing plants. *Am J Ind Med.* 1992;22(6):885-904.
129. IARC. Tobacco Smoke and Involuntary Smoking. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Vol. 83. Lyon, France; 2004.
130. Pintos J, Parent ME, Richardson L, Siemiatycki J. Occupational exposure to diesel engine emissions and risk of lung cancer: evidence from two case-control studies in Montreal, Canada. *Occup Environ Med.* 2012 Nov;69(11):787-92.
131. Benbrahim-Tallaa L, Baan RA, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, et al. Carcinogenicity of diesel-engine and gasoline-engine exhausts and some nitroarenes. *Lancet Oncol.* 2012 Jul;13(7):663-4.
132. Townsend MC. Spirometry in the occupational health setting--2011 update. *J Occup Environ Med.* 2011 May;53(5):569-84.
133. Decreto-Lei n.º 352/2007 de 23 de Outubro. Ministério do Trabalho e da Solidariedade Social. 2007.
134. ISO 26782:2009 Anaesthetic and respiratory equipment—spirometers intended for the measurement of time forced expired volumes in humans. International Organization for Standardization. 2009.
135. Townsend MC. ACOEM position statement. Spirometry in the occupational setting. American College of Occupational and Environmental Medicine. *J Occup Environ Med.* 2000 Mar;42(3):228-45.
136. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J.* 2005 Aug;26(2):319-38.
137. Townsend MC. Evaluating pulmonary function change over time in the occupational setting. *J Occup Environ Med.* 2005 Dec;47(12):1307-16.
138. Swanney MP, Ruppel G, Enright PL, Pedersen OF, Crapo RO, Miller MR, et al. Using the lower limit of normal for the FEV1/FVC ratio reduces the misclassification of airway obstruction. *Thorax.* 2008 Dec;63(12):1046-51.
139. Lung function testing: selection of reference values and interpretative strategies. American Thoracic Society. *Am Rev Respir Dis.* 1991 Nov;144(5):1202-18.
140. Hnizdo E, Sircar K, Yan T, Harber P, Fleming J, Glindmeyer HW. Limits of longitudinal decline for the interpretation of annual changes in FEV1 in individuals. *Occup Environ Med.* 2007 Oct;64(10):701-7.
141. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi R, et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J.* 2005 Nov;26(5):948-68.
142. Malo JL. Use of Laboratory Tests in Occupational and Environmental Lung Diseases. In: Huang Y-CT, Ghio AJ, Maier LA, editors. A clinical guide to occupational and environmental lung diseases. New York: Humana Press; 2012. p. 41-57.
143. Baldwin DR, Gannon P, Bright P, Newton DT, Robertson A, Venables K, et al. Interpretation of occupational peak flow records: level of agreement between expert clinicians and Oasys-2. *Thorax.* 2002 Oct;57(10):860-4.
144. Bright P, Newton DT, Gannon PF, Pantin CF, Burge PS. OASYS-3: improved analysis of serial peak expiratory flow in suspected occupational asthma. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2001 Jun;56(3):281-8.
145. Rodriguez-Pascual L, Cordero-Guevara J, Viejo-Banuelos JL. [Agreement between pneumotachograph and PiKo-1 measurements of PEF and FEV1]. *Arch Bronconeumol.* 2006 Mar;42(3):144-7.

146. Moore VC, Parsons NR, Jaakkola MS, Burge CB, Pantin CF, Robertson AS, et al. Serial lung function variability using four portable logging meters. *J Asthma*. 2009 Nov;46(9):961-6.
147. Hankinson JL. Beyond the peak flow meter: newer technologies for determining and documenting changes in lung function in the workplace. *Occup Med*. 2000 Apr-Jun;15(2):411-20.
148. Beach J, Rowe BH, Blitz S, Crumley E, Hooton N, Russell K, et al. Diagnosis and management of work-related asthma. *Evid Rep Technol Assess (Summ)*. 2005 Oct(129):1-8.
149. Jares EJ, Baena-Cagnani CE, Gomez RM. Diagnosis of occupational asthma: an update. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2012 Jun;12(3):221-31.
150. Liss GM, Tarlo SM. Peak expiratory flow rates in possible occupational asthma. *Chest*. 1991 Jul;100(1):63-9.
151. Altalag A, Road J, Wilcox P. *Pulmonary function tests in clinical practice*. London: Springer; 2009.
152. Criece CP, Sorichter S, Smith HJ, Kardos P, Merget R, Heise D, et al. Body plethysmography--its principles and clinical use. *Respir Med*. 2011 Jul;105(7):959-71.
153. Garcia-Rio F, Pino-Garcia JM, Serrano S, Racionero MA, Terreros-Caro JG, Alvarez-Sala R, et al. Comparison of helium dilution and plethysmographic lung volumes in pregnant women. *Eur Respir J*. 1997 Oct;10(10):2371-5.
154. O'Donnell CR, Bankier AA, Stiebellehner L, Reilly JJ, Brown R, Loring SH. Comparison of plethysmographic and helium dilution lung volumes: which is best for COPD? *Chest*. 2010 May;137(5):1108-15.
155. Kendrick AH. Comparison of methods of measuring static lung volumes. *Monaldi Arch Chest Dis*. 1996 Oct;51(5):431-9.
156. Garfield JL, Marchetti N, Gaughan JP, Steiner RM, Criner GJ. Total lung capacity by plethysmography and high-resolution computed tomography in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2012;7:119-26.
157. Wanger J, Clausen JL, Coates A, Pedersen OF, Brusasco V, Burgos F, et al. Standardisation of the measurement of lung volumes. *Eur Respir J*. 2005 Sep;26(3):511-22.
158. Vehmas T, Pallasaho P, Piirila P. Lung function predicts mortality: 10-year follow-up after lung cancer screening among asbestos-exposed workers. *Int Arch Occup Environ Health*. 2013 Aug;86(6):667-72.
159. Spyrtatos D, Chloros D, Haidich B, Dagdilelis L, Markou S, Sichletidis L. Chest imaging and lung function impairment after long-term occupational exposure to low concentrations of chrysotile. *Arch Environ Occup Health*. 2012;67(2):84-90.
160. Skogstad M, Sikkeland LI, Ovstebo R, Haug KB, Heldal KK, Skare O, et al. Long-term occupational outcomes of endotoxin exposure and the effect of exposure cessation. *Occup Environ Med*. 2012 Feb;69(2):107-12.
161. Toribio R, Cruz MJ, Morell F, Munoz X. Hypersensitivity pneumonitis related to medium-density fiberboard. *Arch Bronconeumol*. 2012 Jan;48(1):29-31.
162. Meijer E, Tjoe Nij E, Kraus T, van der Zee JS, van Delden O, van Leeuwen M, et al. Pneumoconiosis and emphysema in construction workers: results of HRCT and lung function findings. *Occup Environ Med*. 2011 Jul;68(7):542-6.
163. Brvar M. Interstitial pneumonitis after acetylene welding: A case report. *Int J Occup Med Environ Health*. 2014 Jan;27(1):132-6.
164. Tripathi A, Grammer LC. Extrinsic allergic alveolitis from a proteolytic enzyme. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2001 Apr;86(4):425-7.
165. Plummer AL. The carbon monoxide diffusing capacity: clinical implications, coding, and documentation. *Chest*. 2008 Sep;134(3):663-7.
166. American Thoracic Society. Single-breath carbon monoxide diffusing capacity (transfer factor). Recommendations for a standard technique-1995 update. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995 Dec;152(6 Pt 1):2185-98.

167. Crapo RO, Casaburi R, Coates AL, Enright PL, Hankinson JL, Irvin CG, et al. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000 Jan;161(1):309-29.
168. Burge PS, Moscato G, Johnson AS, Chan-Yeung M. Physiological Assessment: Serial Measurements of Lung Function and Bronchial Responsiveness. In: Bernstein DI, editor. *Asthma in the workplace: and related conditions.* 3rd ed. New York ; London: Taylor & Francis; 2006. p. 199-226.
169. Chan-Yeung M, Malo JL, Tarlo SM, Bernstein L, Gautrin D, Mapp C, et al. Proceedings of the first Jack Pepys Occupational Asthma Symposium. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Feb 1;167(3):450-71.
170. Vandenplas O, Cartier A, Malo JL. Occupational Challenge Tests. In: Bernstein DI, editor. *Asthma in the workplace: and related conditions.* 3rd ed. New York ; London: Taylor & Francis; 2006. p. 227-52.
171. Vandenplas O, Suojalehto H, Aasen TB, Baur X, Burge PS, de Blay F, et al. Specific inhalation challenge in the diagnosis of occupational asthma: consensus statement. *Eur Respir J.* 2014 Mar 6.
172. Dykewicz MS. Occupational asthma: current concepts in pathogenesis, diagnosis, and management. *J Allergy Clin Immunol.* 2009 Mar;123(3):519-28; quiz 29-30.
173. Tarlo SM. Laboratory challenge testing for occupational asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2003 Apr;111(4):692-4.
174. Kennedy WA, Girard F, Chaboillez S, Cartier A, Cote J, Hargreave F, et al. Cost-effectiveness of various diagnostic approaches for occupational asthma. *Can Respir J.* 2007 Jul-Aug;14(5):276-80.
175. Munoz X, Morell F, Cruz MJ. The use of specific inhalation challenge in hypersensitivity pneumonitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2013 Apr;13(2):151-8.
176. Ochmann U, Kotschy-Lang N, Raab W, Kellberger J, Nowak D, Jorres RA. Long-term efficacy of pulmonary rehabilitation in patients with occupational respiratory diseases. *Respiration.* 2012;84(5):396-405.
177. Ferrazza AM, Martolini D, Valli G, Palange P. Cardiopulmonary exercise testing in the functional and prognostic evaluation of patients with pulmonary diseases. *Respiration.* 2009;77(1):3-17.
178. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 Jul 1;166(1):111-7.
179. Akira M. Imaging of occupational and environmental lung diseases. *Clin Chest Med.* 2008 Mar;29(1):117-31, vi.
180. Decreto-Lei n.º 352/2007, de 23 de Outubro. *Diário da República, 1.ª série — N.º 204 — 23 de Outubro de 2007.* Ministério do Trabalho e da Solidariedade Social.
181. Aziz ZA, Hansell DM. Occupational and Environmental Lung Disease: The Role of Imaging. In: Gevenois PA, Vuyst Pd, editors. *Imaging of occupational and environmental disorders of the chest.* Berlin ; [London]: Springer; 2006. p. 76-91.
182. Goodman PC. Radiography and CT of Occupational and Environmental Lung Diseases. In: Huang Y-CT, Ghio AJ, Maier LA, editors. *A clinical guide to occupational and environmental lung diseases.* New York: Humana Press; 2012. p. 59-92.
183. Copley SJ. Asbestosis. In: Gevenois PA, Vuyst Pd, editors. *Imaging of occupational and environmental disorders of the chest.* Berlin; [London]: Springer; 2006. p. 206-21.
184. Gevenois PA, Vuyst Pd. Non-Malignant Asbestos-Related Pleural Disorders. In: Gevenois PA, Vuyst Pd, editors. *Imaging of occupational and environmental disorders of the chest.* Berlin ; [London]: Springer; 2006. p. 222-37.

185. Cheng Ooi CG, Arakawa H. Silicosis. In: Gevenois PA, Vuyst Pd, editors. Imaging of occupational and environmental disorders of the chest. Berlin; [London]: Springer; 2006. p. 177-93.
186. Brauner MW, Brilllet P, Guillon P. Hypersensitivity Pneumonitis. In: Gevenois PA, Vuyst Pd, editors. Imaging of occupational and environmental disorders of the chest. Berlin ; [London]: Springer; 2006. p. 281-95.
187. Ignarro LJ. Nitric oxide: biology and pathobiology. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier; 2010.
188. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO, et al. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Sep 1;184(5):602-15.
189. Ricciardolo FL, Sterk PJ, Gaston B, Folkerts G. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol Rev*. 2004 Jul;84(3):731-65.
190. Murad F, Mittal CK, Arnold WP, Katsuki S, Kimura H. Guanylate cyclase: activation by azide, nitro compounds, nitric oxide, and hydroxyl radical and inhibition by hemoglobin and myoglobin. *Adv Cyclic Nucleotide Res*. 1978;9:145-58.
191. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980 Nov 27;288(5789):373-6.
192. Furchgott RF, Jothianandan D, Khan MT. Comparison of nitric oxide, S-nitrosocysteine and EDRF as relaxants of rabbit aorta. *Jpn J Pharmacol*. 1992;58 Suppl 2:185P-91P.
193. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987 Jun 11-17;327(6122):524-6.
194. Belvisi MG, Mitchell JA, Yacoub MHE. Nitric Oxide as a Biological Mediator. In: Marczin NE, editor. Disease markers in exhaled breath. New York: Marcel Dekker; 2003. p. 3-27.
195. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*. 1993 Dec 30;329(27):2002-12.
196. Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochem Biophys Res Commun*. 1991 Dec 16;181(2):852-7.
197. Persson MG, Zetterstrom O, Agrenius V, Ihre E, Gustafsson LE. Single-breath nitric oxide measurements in asthmatic patients and smokers. *Lancet*. 1994 Jan 15;343(8890):146-7.
198. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J*. 1993 Oct;6(9):1368-70.
199. Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet*. 1994 Jan 15;343(8890):133-5.
200. van Asch CJ, Balemans WA, Rovers MM, Schilder AG, van der Ent CK. Atopic disease and exhaled nitric oxide in an unselected population of young adults. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2008 Jan;100(1):59-65.
201. Schneider A, Tilemann L, Schermer T, Gindner L, Laux G, Szecsenyi J, et al. Diagnosing asthma in general practice with portable exhaled nitric oxide measurement-results of a prospective diagnostic study: FENO < or = 16 ppb better than FENO < or =12 ppb to rule out mild and moderate to severe asthma [added]. *Respir Res*. 2009;10:15.
202. Majid H, Kao C. Utility of exhaled nitric oxide in the diagnosis and management of asthma. *Curr Opin Pulm Med*. 2010 Jan;16(1):42-7.
203. Kostikas K, Minas M, Papaioannou AI, Papiris S, Dweik RA. Exhaled nitric oxide in asthma in adults: the end is the beginning? *Curr Med Chem*. 2011;18(10):1423-31.
204. Zeidler MR, Kleerup EC, Tashkin DP. Exhaled nitric oxide in the assessment of asthma. *Curr Opin Pulm Med*. 2004 Jan;10(1):31-6.
205. Lim KG, Mottram C. The use of fraction of exhaled nitric oxide in pulmonary practice. *Chest*. 2008 May;133(5):1232-42.

206. Petsky HL, Cates CJ, Lasserson TJ, Li AM, Turner C, Kynaston JA, et al. A systematic review and meta-analysis: tailoring asthma treatment on eosinophilic markers (exhaled nitric oxide or sputum eosinophils). *Thorax*. 2012 Mar;67(3):199-208.
207. Dressel H, de la Motte D, Reichert J, Ochmann U, Petru R, Angerer P, et al. Exhaled nitric oxide: independent effects of atopy, smoking, respiratory tract infection, gender and height. *Respir Med*. 2008 Jul;102(7):962-9.
208. Selby A, Clayton B, Grundy J, Pike K, Drew K, Raza A, et al. Are exhaled nitric oxide measurements using the portable NIOX MINO repeatable? *Respir Res*. 2010;11:43.
209. Michils A, Peche R, Baldassarre S, Mourid Z, Van Muylem A. Comparisons between portable and chemoluminescence exhaled nitric oxide measurements. *Eur Respir J*. 2008 Jul;32(1):243-4.
210. Pisi R, Aiello M, Tzani P, Marangio E, Olivieri D, Chetta A. Measurement of fractional exhaled nitric oxide by a new portable device: comparison with the standard technique. *J Asthma*. 2010 Sep;47(7):805-9.
211. Olaguibel JM, Parra A, Alvarez MJ, Quirce S, Lopez R. Measurements of fractional exhaled nitric oxide with 2 portable electrochemical sensors: a comparative study. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21(4):322-3.
212. Phillips CR, Giraud GD, Holden WE. Exhaled nitric oxide during exercise: site of release and modulation by ventilation and blood flow. *J Appl Physiol (1985)*. 1996 Jun;80(6):1865-71.
213. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Apr 15;171(8):912-30.
214. Brody DJ, Zhang X, Kit BK, Dillon CF. Reference values and factors associated with exhaled nitric oxide: U.S. youth and adults. *Respir Med*. 2013 Nov;107(11):1682-91.
215. Tsoukias NM, George SC. A two-compartment model of pulmonary nitric oxide exchange dynamics. *J Appl Physiol (1985)*. 1998 Aug;85(2):653-66.
216. Paredi P, Kharitonov SA, Meah S, Barnes PJ, Usmani OS. A novel approach to partition central and peripheral airway nitric oxide. *Chest*. 2014 Jan;145(1):113-9.
217. Kharitonov SA, Yates DH, Barnes PJ. Inhaled glucocorticoids decrease nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996 Jan;153(1):454-7.
218. Bazeghi N, Gerds TA, Budtz-Jorgensen E, Hove J, Vestbo J. Exhaled nitric oxide measure using multiple flows in clinically relevant subgroups of COPD. *Respir Med*. 2011 Sep;105(9):1338-44.
219. Malerba M, Radaeli A, Olivini A, Damiani G, Ragnoli B, Montuschi P, et al. Exhaled Nitric Oxide as a Biomarker in COPD and Related Comorbidities. *Biomed Res Int*. 2014;2014:271918.
220. Dummer JF, Epton MJ, Cowan JO, Cook JM, Condliffe R, Landhuis CE, et al. Predicting corticosteroid response in chronic obstructive pulmonary disease using exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 Nov 1;180(9):846-52.
221. Dummer JF, Taylor DR. Defining the role of exhaled nitric oxide measurements in COPD. *Respirology*. 2010 Apr;15(3):385-6.
222. Olin AC. Induced sputum, exhaled nitric oxide, and particles in exhaled air in assessing airways inflammation in occupational exposures. *Clin Chest Med*. 2012 Dec;33(4):771-82.
223. Berry MA, Shaw DE, Green RH, Brightling CE, Wardlaw AJ, Pavord ID. The use of exhaled nitric oxide concentration to identify eosinophilic airway inflammation: an observational study in adults with asthma. *Clin Exp Allergy*. 2005 Sep;35(9):1175-9.
224. Adisesh LA, Kharitonov SA, Yates DH, Snashell DC, Newman-Taylor AJ, Barnes PJ. Exhaled and nasal nitric oxide is increased in laboratory animal allergy. *Clin Exp Allergy*. 1998 Jul;28(7):876-80.
225. Chan-Yeung M, Obata H, Dittrick M, Chan H, Abboud R. Airway inflammation, exhaled nitric oxide, and severity of asthma in patients with western red cedar asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 May;159(5 Pt 1):1434-8.

226. Baur X, Barbinova L. Latex allergen exposure increases exhaled nitric oxide in symptomatic healthcare workers. *Eur Respir J*. 2005 Feb;25(2):309-16.
227. Barbinova L, Baur X. Increase in exhaled nitric oxide (eNO) after work-related isocyanate exposure. *Int Arch Occup Environ Health*. 2006 May;79(5):387-95.
228. Piipari R, Piirila P, Keskinen H, Tuppurainen M, Sovijarvi A, Nordman H. Exhaled nitric oxide in specific challenge tests to assess occupational asthma. *Eur Respir J*. 2002 Dec;20(6):1532-7.
229. Vizcaya D, Mirabelli MC, Orriols R, Anto JM, Barreiro E, Burgos F, et al. Functional and biological characteristics of asthma in cleaning workers. *Respir Med*. 2013 May;107(5):673-83.
230. Tossa P, Paris C, Zmirou-Navier D, Demange V, Acouetey DS, Michaely JP, et al. Increase in exhaled nitric oxide is associated with bronchial hyperresponsiveness among apprentices. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Sep 15;182(6):738-44.
231. Tossa P, Bohadana A, Demange V, Wild P, Michaely JP, Hannhart B, et al. Early markers of airways inflammation and occupational asthma: rationale, study design and follow-up rates among bakery, pastry and hairdressing apprentices. *BMC Public Health*. 2009;9:113.
232. Moore VC, Anees W, Jaakkola MS, Burge CB, Robertson AS, Burge PS. Two variants of occupational asthma separable by exhaled breath nitric oxide level. *Respir Med*. 2010 Jun;104(6):873-9.
233. Olin AC, Ljungkvist G, Bake B, Hagberg S, Henriksson L, Toren K. Exhaled nitric oxide among pulpmill workers reporting gassing incidents involving ozone and chlorine dioxide. *Eur Respir J*. 1999 Oct;14(4):828-31.
234. Olin AC, Andersson E, Andersson M, Granung G, Hagberg S, Toren K. Prevalence of asthma and exhaled nitric oxide are increased in bleachery workers exposed to ozone. *Eur Respir J*. 2004 Jan;23(1):87-92.
235. Allmers H, Chen Z, Barbinova L, Marczynski B, Kirschmann V, Baur X. Challenge from methacholine, natural rubber latex, or 4,4-diphenylmethane diisocyanate in workers with suspected sensitization affects exhaled nitric oxide [change in exhaled NO levels after allergen challenges]. *Int Arch Occup Environ Health*. 2000 Apr;73(3):181-6.
236. Demange V, Bohadana A, Massin N, Wild P. Exhaled nitric oxide and airway hyperresponsiveness in workers: a preliminary study in lifeguards. *BMC Pulm Med*. 2009;9:53.
237. Fell AK, Noto H, Skogstad M, Nordby KC, Eduard W, Svendsen MV, et al. A cross-shift study of lung function, exhaled nitric oxide and inflammatory markers in blood in Norwegian cement production workers. *Occup Environ Med*. 2011 Nov;68(11):799-805.
238. Kolbeck KG, Ehnhage A, Juto JE, Forsberg S, Gyllenhammar H, Palmberg L, et al. Airway reactivity and exhaled NO following swine dust exposure in healthy volunteers. *Respir Med*. 2000 Nov;94(11):1065-72.
239. Heldal KK, Madso L, Huser PO, Eduard W. Exposure, symptoms and airway inflammation among sewage workers. *Ann Agric Environ Med*. 2010 Dec;17(2):263-8.
240. Verbanck S, Malinowski A, George S, Gelb AF, Vincken W, Van Muylem A. Bronchial and alveolar components of exhaled nitric oxide and their relationship. *Eur Respir J*. 2012 May;39(5):1258-61.
241. Lehtimäki L, Kankaanranta H, Saarelainen S, Hahtola P, Jarvenpää R, Koivula T, et al. Extended exhaled NO measurement differentiates between alveolar and bronchial inflammation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Jun;163(7):1557-61.
242. Garcia-Rio F, Casitas R, Romero D. Utility of two-compartment models of exhaled nitric oxide in patients with asthma. *J Asthma*. 2011 May;48(4):329-34.
243. Swierczynska-Machura D, Krakowiak A, Wiszniewska M, Dudek W, Walusiak J, Palczynski C. Exhaled nitric oxide levels after specific inhaled challenge test in subjects with diagnosed occupational asthma. *Int J Occup Med Environ Health*. 2008;21(3):219-25.
244. Swierczynska-Machura D, Krakowiak A, Wiszniewska M, Palczynski C. [Diagnostics of occupational asthma: measurements of exhaled nitric oxide]. *Med Pr*. 2005;56(6):485-90.

245. Walters GI, Moore VC, McGrath EE, Burge S. Fractional exhaled nitric oxide in the interpretation of specific inhalational challenge tests for occupational asthma. *Lung*. 2014 Feb;192(1):119-24.
246. Sastre J, Costa C, del Garcia Potro M, Aguado E, Mahillo I, Fernandez-Nieto M. Changes in exhaled nitric oxide after inhalation challenge with occupational agents. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2013;23(6):421-7.
247. Chow S, Yates DH, Thomas PS. Reproducibility of exhaled breath condensate markers. *Eur Respir J*. 2008 Oct;32(4):1124-6.
248. Corradi M, Mutti A. Exhaled Breath Analysis in Occupational Medicine. In: Amann A, Smith D, editors. *Volatile Biomarkers*. Boston: Elsevier; 2013. p. 117-28.
249. Effros RM. Exhaled breath condensate: delusion or dilution? *Chest*. 2010 Sep;138(3):471-2.
250. Horvath I, Hunt J, Barnes PJ, Alving K, Antczak A, Baraldi E, et al. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J*. 2005 Sep;26(3):523-48.
251. Montuschi P. Analysis of exhaled breath condensate in respiratory medicine: methodological aspects and potential clinical applications. *Ther Adv Respir Dis*. 2007 Oct;1(1):5-23.
252. Montuschi P, Barnes PJ. Analysis of exhaled breath condensate for monitoring airway inflammation. *Trends Pharmacol Sci*. 2002 May;23(5):232-7.
253. Hoffmeyer F, Harth V, Merget R, Goldscheid N, Hainze E, Degens P, et al. Exhaled breath condensate analysis: evaluation of a methodological setting for epidemiological field studies. *J Physiol Pharmacol*. 2007 Nov;58 Suppl 5(Pt 1):289-98.
254. Hunt J. Exhaled breath condensate: an evolving tool for noninvasive evaluation of lung disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Jul;110(1):28-34.
255. Effros RM, Hoagland KW, Bosbous M, Castillo D, Foss B, Dunning M, et al. Dilution of respiratory solutes in exhaled condensates. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Mar 1;165(5):663-9.
256. Barnes PJ. Exhaled Breath Condensate: A New Approach to Monitoring Lung Inflammation. In: Montuschi P, editor. *New perspectives in monitoring lung inflammation: analysis of exhaled breath condensate*. Boca Raton, Florida 2005. p. 1-9.
257. Sidorenko GI, Zborovskii EI, Levina DI. [Surface-active properties of the exhaled air condensate (a new method of studying lung function)]. *Ter Arkh*. 1980;52(3):65-8.
258. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Jun;163(7):1693-722.
259. Montuschi P. Measurement of Biomarkers of Oxidative Stress and Airway Inflammation in Exhaled Breath Condensate: Methodology and Potential Applications in Patients with COPD and Healthy Smokers. In: Amann A, Smith D, editors. *Volatile Biomarkers*. Boston: Elsevier; 2013. p. 360-81.
260. Larson TV, Covert DS, Frank R. A method for continuous measurement of ammonia in respiratory airways. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*. 1979 Mar;46(3):603-7.
261. Kuban P, Foret F. Exhaled breath condensate: determination of non-volatile compounds and their potential for clinical diagnosis and monitoring. A review. *Anal Chim Acta*. 2013 Dec 17;805:1-18.
262. Beauchamp J, Kirsch F, Buettner A. Real-time breath gas analysis for pharmacokinetics: monitoring exhaled breath by on-line proton-transfer-reaction mass spectrometry after ingestion of eucalyptol-containing capsules. *J Breath Res*. 2010 Jun;4(2):026006.
263. Pleil JD. Role of exhaled breath biomarkers in environmental health science. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 2008 Oct;11(8):613-29.

264. Kietzmann D, Kahl R, Muller M, Burchardi H, Kettler D. Hydrogen peroxide in expired breath condensate of patients with acute respiratory failure and with ARDS. *Intensive Care Med.* 1993;19(2):78-81.
265. Effros RM, Biller J, Foss B, Hoagland K, Dunning MB, Castillo D, et al. A simple method for estimating respiratory solute dilution in exhaled breath condensates. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Dec 15;168(12):1500-5.
266. Zacharasiewicz A, Wilson N, Lex C, Li A, Kemp M, Donovan J, et al. Repeatability of sodium and chloride in exhaled breath condensates. *Pediatr Pulmonol.* 2004 Mar;37(3):273-5.
267. Dwyer TM. Sampling airway surface liquid: non-volatiles in the exhaled breath condensate. *Lung.* 2004;182(4):241-50.
268. Montuschi P. Analysis of Exhaled Breath Condensate: Methodological Issues. In: Montuschi P, editor. *New perspectives in monitoring lung inflammation: analysis of exhaled breath condensate*: Boca Raton; 2005. p. 11-30.
269. Montuschi P, Varone F, Valente S, Spina D, Mondino C, Ciappi G. Methodological aspects of exhaled prostanoid measurements. *Eur Respir J.* 2003;22(Suppl. 45).
270. Baraldi E, Ghio L, Piovan V, Carraro S, Ciabattini G, Barnes PJ, et al. Increased exhaled 8-isoprostane in childhood asthma. *Chest.* 2003 Jul;124(1):25-31.
271. Nowak D, Kalucka S, Bialasiewicz P, Krol M. Exhalation of H₂O₂ and thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) by healthy subjects. *Free Radic Biol Med.* 2001 Jan 15;30(2):178-86.
272. Gaston B, Hunt J. Measurement of Exhaled Breath Condensate pH: Implications for Pathophysiology and Monitoring of Inflammatory Airway Diseases. In: Montuschi P, editor. *New perspectives in monitoring lung inflammation: analysis of exhaled breath condensate*: Boca Raton; 2005. p. 73-84.
273. Bliss DZ. pH and concentration of bilirubin in feeding tube aspirates as predictors of tube placement. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2000 May-Jun;24(3):187-8.
274. Hunt JF, Fang K, Malik R, Snyder A, Malhotra N, Platts-Mills TA, et al. Endogenous airway acidification. Implications for asthma pathophysiology. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000 Mar;161(3 Pt 1):694-9.
275. Vaughan J, Ngamtrakulpanit L, Pajewski TN, Turner R, Nguyen TA, Smith A, et al. Exhaled breath condensate pH is a robust and reproducible assay of airway acidity. *Eur Respir J.* 2003 Dec;22(6):889-94.
276. Effros RM, Casaburi R, Porszasz J, Rehan VK. Assessment of exhaled breath condensate pH. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011 Apr 1;183(7):952; author reply -3.
277. Hunt J. Exhaled breath condensate pH assays. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2007 Nov;27(4):597-606; vi.
278. Effros RM. Endogenous airway acidification: implications for asthma pathology. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Jan;163(1):293-4.
279. Prieto L, Orosa B, Barato D, Marin J. The effect of different periods of argon deaeration on exhaled breath condensate pH. *J Asthma.* 2011 May;48(4):319-23.
280. Coop C, Hagan LL, Dice JP. Exhaled breath condensate pH in the evaluation of asthma. *Allergy Asthma Proc.* 2008 Jan-Feb;29(1):51-4.
281. Accordino R, Visentin A, Bordin A, Ferrazzoni S, Marian E, Rizzato F, et al. Long-term repeatability of exhaled breath condensate pH in asthma. *Respir Med.* 2008 Mar;102(3):377-81.
282. Al-Obaidy AH, Al-Samarai AG. Exhaled breath condensate pH and hydrogen peroxide as non-invasive markers for asthma. *Saudi Med J.* 2007 Dec;28(12):1860-3.
283. Papaioannou AI, Loukides S, Minas M, Kontogianni K, Bakakos P, Gourgoulidis KI, et al. Exhaled breath condensate pH as a biomarker of COPD severity in ex-smokers. *Respir Res.* 2011;12:67.

284. MacNee W, Rennard SI, Hunt JF, Edwards LD, Miller BE, Locantore NW, et al. Evaluation of exhaled breath condensate pH as a biomarker for COPD. *Respir Med*. 2011 Jul;105(7):1037-45.
285. Borrill Z, Starkey C, Vestbo J, Singh D. Reproducibility of exhaled breath condensate pH in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2005 Feb;25(2):269-74.
286. Antus B, Barta I, Csiszer E, Kelemen K. Exhaled breath condensate pH in patients with cystic fibrosis. *Inflamm Res*. 2012 Oct;61(10):1141-7.
287. Ojoo JC, Mulrennan SA, Kastelik JA, Morice AH, Redington AE. Exhaled breath condensate pH and exhaled nitric oxide in allergic asthma and in cystic fibrosis. *Thorax*. 2005 Jan;60(1):22-6.
288. de Broucker V, Hassoun SM, Hulo S, Cherot-Kornobis N, Neviere R, Matran R, et al. Non-invasive collection of exhaled breath condensate in rats: evaluation of pH, H(2)O(2) and NOx in lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Vet J*. 2012 Nov;194(2):222-8.
289. Gessner C, Hammerschmidt S, Kuhn H, Seyfarth HJ, Sack U, Engelmann L, et al. Exhaled breath condensate acidification in acute lung injury. *Respir Med*. 2003 Nov;97(11):1188-94.
290. Brooks WM, Lash H, Kettle AJ, Epton MJ. Optimising hydrogen peroxide measurement in exhaled breath condensate. *Redox Rep*. 2006;11(2):78-84.
291. Murata K, Fujimoto K, Kitaguchi Y, Horiuchi T, Kubo K, Honda T. Hydrogen peroxide content and pH of expired breath condensate from patients with asthma and COPD. *COPD*. 2014 Feb;11(1):81-7.
292. Nowak D, Kasielski M, Pietras T, Bialasiewicz P, Antczak A. Cigarette smoking does not increase hydrogen peroxide levels in expired breath condensate of patients with stable COPD. *Monaldi Arch Chest Dis*. 1998 Jun;53(3):268-73.
293. Van Beurden WJ, Dekhuijzen PN. Hydrogen Peroxide in Exhaled Breath Condensate. In: Montuschi P, editor. *New perspectives in monitoring lung inflammation: analysis of exhaled breath condensate*: Boca Raton; 2005. p. 67-72.
294. van Beurden WJ, Dekhuijzen PN, Harff GA, Smeenk FW. Variability of exhaled hydrogen peroxide in stable COPD patients and matched healthy controls. *Respiration*. 2002;69(3):211-6.
295. Schleiss MB, Holz O, Behnke M, Richter K, Magnussen H, Jorres RA. The concentration of hydrogen peroxide in exhaled air depends on expiratory flow rate. *Eur Respir J*. 2000 Dec;16(6):1115-8.
296. Wiedemair J, van Dorp HD, Olthuis W, van den Berg A. Developing an amperometric hydrogen peroxide sensor for an exhaled breath analysis system. *Electrophoresis*. 2012 Nov;33(21):3181-6.
297. Milne GL, Musiek ES, Morrow JD. F2-isoprostanes as markers of oxidative stress in vivo: an overview. *Biomarkers*. 2005 Nov;10 Suppl 1:S10-23.
298. Montuschi P. Isoprostanes, Prostanoids, and Leukotrienes in Exhaled Breath Condensate. In: Montuschi P, editor. *New perspectives in monitoring lung inflammation: analysis of exhaled breath condensate*: Boca Raton; 2005. p. 53-66.
299. Busse WW. Leukotrienes and inflammation. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Jun;157(6 Pt 1):S210-3.
300. Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ, 2nd. A series of prostaglandin F2-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Dec;87(23):9383-7.
301. Roberts LJ, Morrow JD. Measurement of F(2)-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo. *Free Radic Biol Med*. 2000 Feb 15;28(4):505-13.
302. Tufvesson E, Bozovic G, Hesselstrand R, Bjermer L, Scheja A, Wuttge DM. Increased cysteinyl-leukotrienes and 8-isoprostane in exhaled breath condensate from systemic sclerosis patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2010 Dec;49(12):2322-6.

303. Makris D, Paraskakis E, Korakas P, Karagiannakis E, Sourvinos G, Siafakas NM, et al. Exhaled breath condensate 8-isoprostane, clinical parameters, radiological indices and airway inflammation in COPD. *Respiration*. 2008;75(2):138-44.
304. Kostikas K, Papatheodorou G, Psathakis K, Panagou P, Loukides S. Oxidative stress in expired breath condensate of patients with COPD. *Chest*. 2003 Oct;124(4):1373-80.
305. Carpenter CT, Price PV, Christman BW. Exhaled breath condensate isoprostanes are elevated in patients with acute lung injury or ARDS. *Chest*. 1998 Dec;114(6):1653-9.
306. Montuschi P, Collins JV, Ciabattoni G, Lazzeri N, Corradi M, Kharitonov SA, et al. Exhaled 8-isoprostane as an in vivo biomarker of lung oxidative stress in patients with COPD and healthy smokers. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Sep;162(3 Pt 1):1175-7.
307. Baraldi E, Carraro S, Alinovi R, Pesci A, Ghio L, Bordini A, et al. Cysteinyl leukotrienes and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of children with asthma exacerbations. *Thorax*. 2003 Jun;58(6):505-9.
308. Mondino C, Ciabattoni G, Koch P, Pistelli R, Trove A, Barnes PJ, et al. Effects of inhaled corticosteroids on exhaled leukotrienes and prostanoids in asthmatic children. *J Allergy Clin Immunol*. 2004 Oct;114(4):761-7.
309. Montuschi P, Ragazzoni E, Valente S, Corbo G, Mondino C, Ciappi G, et al. Validation of 8-isoprostane and prostaglandin E(2) measurements in exhaled breath condensate. *Inflamm Res*. 2003 Dec;52(12):502-7.
310. Carpagnano GE, Kharitonov SA, Resta O, Foschino-Barbaro MP, Gramiccioni E, Barnes PJ. 8-Isoprostane, a marker of oxidative stress, is increased in exhaled breath condensate of patients with obstructive sleep apnea after night and is reduced by continuous positive airway pressure therapy. *Chest*. 2003 Oct;124(4):1386-92.
311. Carraro S, Cogo PE, Isak I, Simonato M, Corradi M, Carnielli VP, et al. EIA and GC/MS analysis of 8-isoprostane in EBC of children with problematic asthma. *Eur Respir J*. 2010 Jun;35(6):1364-9.
312. Piotrowski WJ, Majewski S, Marczak J, Kurmanowska Z, Gorski P, Antczak A. Exhaled breath 8-isoprostane as a marker of asthma severity. *Arch Med Sci*. 2012 Jul 4;8(3):515-20.
313. Cap P, Maly M, Pehal F, Pelikan Z. Exhaled leukotrienes and bronchial responsiveness to methacholine in patients with seasonal allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2009 Feb;102(2):103-9.
314. Lex C, Zacharasiewicz A, Payne DN, Wilson NM, Nicholson AG, Kharitonov SA, et al. Exhaled breath condensate cysteinyl leukotrienes and airway remodeling in childhood asthma: a pilot study. *Respir Res*. 2006;7:63.
315. Montuschi P, Barnes PJ. Exhaled leukotrienes and prostaglandins in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Apr;109(4):615-20.
316. Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattoni G, Barnes PJ. Exhaled leukotrienes and prostaglandins in COPD. *Thorax*. 2003 Jul;58(7):585-8.
317. Samitas K, Chorianopoulos D, Vittorakis S, Zervas E, Economidou E, Papatheodorou G, et al. Exhaled cysteinyl-leukotrienes and 8-isoprostane in patients with asthma and their relation to clinical severity. *Respir Med*. 2009 May;103(5):750-6.
318. Zanconato S, Carraro S, Corradi M, Alinovi R, Pasquale MF, Piacentini G, et al. Leukotrienes and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of children with stable and unstable asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2004 Feb;113(2):257-63.
319. Antczak A, Montuschi P, Kharitonov S, Gorski P, Barnes PJ. Increased exhaled cysteinyl-leukotrienes and 8-isoprostane in aspirin-induced asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Aug 1;166(3):301-6.
320. Carpagnano GE, Barnes PJ, Geddes DM, Hodson ME, Kharitonov SA. Increased leukotriene B4 and interleukin-6 in exhaled breath condensate in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Apr 15;167(8):1109-12.

321. Biernacki WA, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased leukotriene B4 and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of patients with exacerbations of COPD. *Thorax*. 2003 Apr;58(4):294-8.
322. Montuschi P, Ragazzoni E, Valente S, Corbo G, Mondino C, Ciappi G, et al. Validation of leukotriene B4 measurements in exhaled breath condensate. *Inflamm Res*. 2003 Feb;52(2):69-73.
323. Huszar E, Szabo Z, Jakab A, Barta I, Herjavec I, Horvath I. Comparative measurement of thromboxane A2 metabolites in exhaled breath condensate by different immunoassays. *Inflamm Res*. 2005 Aug;54(8):350-5.
324. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*. 2000 Aug;118(2):503-8.
325. Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin*. 2007 Spring;45(2):27-37.
326. Barta I, Kullmann T, Csiszer E, Antus B. Analysis of cytokine pattern in exhaled breath condensate of patients with squamous cell lung carcinoma. *Int J Biol Markers*. 2010 Jan-Mar;25(1):52-6.
327. Edme JL, Tellart AS, Launay D, Neviere R, Grutzmacher C, Boulenguez C, et al. Cytokine concentrations in exhaled breath condensates in systemic sclerosis. *Inflamm Res*. 2008 Apr;57(4):151-6.
328. Gessner C, Scheibe R, Wotzel M, Hammerschmidt S, Kuhn H, Engelmann L, et al. Exhaled breath condensate cytokine patterns in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med*. 2005 Oct;99(10):1229-40.
329. Kullmann T, Barta I, Csiszer E, Antus B, Horvath I. Differential cytokine pattern in the exhaled breath of patients with lung cancer. *Pathol Oncol Res*. 2008 Dec;14(4):481-3.
330. Matsunaga K, Yanagisawa S, Ichikawa T, Ueshima K, Akamatsu K, Hirano T, et al. Airway cytokine expression measured by means of protein array in exhaled breath condensate: correlation with physiologic properties in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Jul;118(1):84-90.
331. Shahid SK, Kharitonov SA, Wilson NM, Bush A, Barnes PJ. Increased interleukin-4 and decreased interferon-gamma in exhaled breath condensate of children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 May 1;165(9):1290-3.
332. Formanek W, Inci D, Lauener RP, Wildhaber JH, Frey U, Hall GL. Elevated nitrite in breath condensates of children with respiratory disease. *Eur Respir J*. 2002 Mar;19(3):487-91.
333. Straub DA, Ehmann R, Hall GL, Moeller A, Hamacher J, Frey U, et al. Correlation of nitrites in breath condensates and lung function in asthmatic children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2004 Feb;15(1):20-5.
334. Marteus H, Tornberg DC, Weitzberg E, Schedin U, Alving K. Origin of nitrite and nitrate in nasal and exhaled breath condensate and relation to nitric oxide formation. *Thorax*. 2005 Mar;60(3):219-25.
335. Stefanska J, Sarniak A, Wlodarczyk A, Sokolowska M, Doniec Z, Bialasiewicz P, et al. Hydrogen peroxide and nitrite reduction in exhaled breath condensate of COPD patients. *Pulm Pharmacol Ther*. 2012 Oct;25(5):343-8.
336. Corradi M, Montuschi P, Donnelly LE, Pesci A, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased nitrosothiols in exhaled breath condensate in inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Mar;163(4):854-8.
337. Ho LP, Innes JA, Greening AP. Nitrite levels in breath condensate of patients with cystic fibrosis is elevated in contrast to exhaled nitric oxide. *Thorax*. 1998 Aug;53(8):680-4.
338. Kharitonov SA. Nitric Oxide-Derived Markers in Exhaled Breath Condensate. In: Montuschi P, editor. *New perspectives in monitoring lung inflammation: analysis of exhaled breath condensate*: Boca Raton; 2005. p. 85-103.
339. Kharitonov SA, Robbins RA, Yates D, Keatings V, Barnes PJ. Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995 Aug;152(2):609-12.

340. Balint B, Donnelly LE, Hanazawa T, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased nitric oxide metabolites in exhaled breath condensate after exposure to tobacco smoke. *Thorax*. 2001 Jun;56(6):456-61.
341. Hoyt JC, Robbins RA, Habib M, Springall DR, BATTERY LD, Polak JM, et al. Cigarette smoke decreases inducible nitric oxide synthase in lung epithelial cells. *Exp Lung Res*. 2003 Jan-Feb;29(1):17-28.
342. Corradi M, Rubinstein I, Andreoli R, Manini P, Caglieri A, Poli D, et al. Aldehydes in exhaled breath condensate of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 May 15;167(10):1380-6.
343. Corradi M, Gergelova P, Mutti A. Use of exhaled breath condensate to investigate occupational lung diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2010 Apr;10(2):93-8.
344. Gergelova P, Corradi M, Acampa O, Goldoni M, Mutti A, Franchini I, et al. New techniques for assessment of occupational respiratory diseases. *Bratisl Lek Listy*. 2008;109(10):445-52.
345. Mutti A, Corradi M. Recent developments in human biomonitoring: non-invasive assessment of target tissue dose and effects of pneumotoxic metals. *Med Lav*. 2006 Mar-Apr;97(2):199-206.
346. Goldoni M, Catalani S, De Palma G, Manini P, Acampa O, Corradi M, et al. Exhaled breath condensate as a suitable matrix to assess lung dose and effects in workers exposed to cobalt and tungsten. *Environ Health Perspect*. 2004 Sep;112(13):1293-8.
347. Goldoni M, Caglieri A, Poli D, Vettori MV, Corradi M, Apostoli P, et al. Determination of hexavalent chromium in exhaled breath condensate and environmental air among chrome plating workers. *Anal Chim Acta*. 2006 Mar 15;562(2):229-35.
348. Goldoni M, Caglieri A, De Palma G, Acampa O, Gergelova P, Corradi M, et al. Chromium in exhaled breath condensate (EBC), erythrocytes, plasma and urine in the biomonitoring of chrome-plating workers exposed to soluble Cr(VI). *J Environ Monit*. 2010 Feb;12(2):442-7.
349. Caglieri A, Goldoni M, Acampa O, Andreoli R, Vettori MV, Corradi M, et al. The effect of inhaled chromium on different exhaled breath condensate biomarkers among chrome-plating workers. *Environ Health Perspect*. 2006 Apr;114(4):542-6.
350. Hoffmeyer F, Raulf-Heimsoth M, Bruning T. Exhaled breath condensate and airway inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2009 Feb;9(1):16-22.
351. Kazani S, Planaguma A, Ono E, Bonini M, Zahid M, Marigowda G, et al. Exhaled breath condensate eicosanoid levels associate with asthma and its severity. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Sep;132(3):547-53.
352. Boonpiyathad S, Pornsuriyasak P, Buranapraditkun S, Klaewsongkram J. Interleukin-2 levels in exhaled breath condensates, asthma severity, and asthma control in nonallergic asthma. *Allergy Asthma Proc*. 2013 Sep-Oct;34(5):e35-41.
353. Loukides S, Kontogianni K, Hillas G, Horvath I. Exhaled breath condensate in asthma: from bench to bedside. *Curr Med Chem*. 2011;18(10):1432-43.
354. Baraldi E, Ghiro L, Piovan V, Carraro S, Zacchello F, Zanconato S. Safety and success of exhaled breath condensate collection in asthma. *Arch Dis Child*. 2003 Apr;88(4):358-60.
355. Hanazawa T, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate of patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Oct;162(4 Pt 1):1273-6.
356. Pelclova D, Fenclova Z, Vlckova S, Klusackova P, Lebedova J, Syslova K, et al. Occupational asthma follow-up - which markers are elevated in exhaled breath condensate and plasma? *Int J Occup Med Environ Health*. 2014 Mar 19.
357. Munoz X, Velasco MI, Culebras M, Roca O, Morell F, Cruz MJ. Utility of exhaled breath condensate pH for diagnosing occupational asthma. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;159(3):313-20.

358. Ferrazzoni S, Scarpa MC, Guarnieri G, Corradi M, Mutti A, Maestrelli P. Exhaled nitric oxide and breath condensate pH in asthmatic reactions induced by isocyanates. *Chest*. 2009 Jul;136(1):155-62.
359. Klusackova P, Lebedova J, Kacer P, Kuzma M, Brabec M, Pelclova D, et al. Leukotrienes and 8-isoprostane in exhaled breath condensate in bronchoprovocation tests with occupational allergens. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2008 Apr-May;78(4-5):281-92.
360. Do R, Bartlett KH, Dimich-Ward H, Chu W, Kennedy SM. Biomarkers of airway acidity and oxidative stress in exhaled breath condensate from grain workers. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Nov 15;178(10):1048-54.
361. Sanchez-Vidaurre S, Cruz MJ, Gomez-Olles S, Morell F, Munoz X. Diagnostic utility of exhaled breath condensate analysis in conjunction with specific inhalation challenge in individuals with suspected work-related asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2012 Mar;108(3):151-6.
362. Boyce PD, Kim JY, Weissman DN, Hunt J, Christiani DC. pH increase observed in exhaled breath condensate from welding fume exposure. *J Occup Environ Med*. 2006 Apr;48(4):353-6.
363. Fireman E, Lerman Y, Stark M, Schwartz Y, Ganor E, Grinberg N, et al. Detection of occult lung impairment in welders by induced sputum particles and breath oxidation. *Am J Ind Med*. 2008 Jul;51(7):503-11.
364. Pelclova D, Fenclova Z, Vlckova S, Lebedova J, Syslova K, Pecha O, et al. Leukotrienes B4, C4, D4 and E4 in the exhaled breath condensate (EBC), blood and urine in patients with pneumoconiosis. *Ind Health*. 2012;50(4):299-306.
365. Syslova K, Kacer P, Kuzma M, Najmanova V, Fenclova Z, Vlckova S, et al. Rapid and easy method for monitoring oxidative stress markers in body fluids of patients with asbestos or silica-induced lung diseases. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2009 Aug 15;877(24):2477-86.
366. Chow S, Campbell C, Sandrini A, Thomas PS, Johnson AR, Yates DH. Exhaled breath condensate biomarkers in asbestos-related lung disorders. *Respir Med*. 2009 Aug;103(8):1091-7.
367. Chapman EA, Thomas PS, Yates DH. Breath analysis in asbestos-related disorders: a review of the literature and potential future applications. *J Breath Res*. 2010 Sep;4(3):034001.
368. Syslova K, Kacer P, Kuzma M, Pankracova A, Fenclova Z, Vlckova S, et al. LC-ESI-MS/MS method for oxidative stress multimarker screening in the exhaled breath condensate of asbestosis/silicosis patients. *J Breath Res*. 2010 Mar;4(1):017104.
369. Pelclova D, Fenclova Z, Kacer P, Kuzma M, Navratil T, Lebedova J. Increased 8-isoprostane, a marker of oxidative stress in exhaled breath condensate in subjects with asbestos exposure. *Ind Health*. 2008 Oct;46(5):484-9.
370. Pelclova D, Fenclova Z, Kacer P, Navratil T, Kuzma M, Lebedova JK, et al. 8-isoprostane and leukotrienes in exhaled breath condensate in Czech subjects with silicosis. *Ind Health*. 2007 Dec;45(6):766-74.
371. de Gennaro G, Dragonieri S, Longobardi F, Musti M, Stallone G, Trizio L, et al. Chemical characterization of exhaled breath to differentiate between patients with malignant pleural mesothelioma from subjects with similar professional asbestos exposure. *Anal Bioanal Chem*. 2010 Dec;398(7-8):3043-50.
372. Goldoni M, Caglieri A, Corradi M, Poli D, Rusca M, Carbognani P, et al. Chromium in exhaled breath condensate and pulmonary tissue of non-small cell lung cancer patients. *Int Arch Occup Environ Health*. 2008 Feb;81(4):487-93.
373. Gessner C, Rechner B, Hammerschmidt S, Kuhn H, Hoheisel G, Sack U, et al. Angiogenic markers in breath condensate identify non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2010 May;68(2):177-84.

374. Dalaveris E, Kerenidi T, Katsabeki-Katsafli A, Kiropoulos T, Tanou K, Gourgoulialis KI, et al. VEGF, TNF-alpha and 8-isoprostane levels in exhaled breath condensate and serum of patients with lung cancer. *Lung Cancer*. 2009 May;64(2):219-25.
375. Conrad DH, Goyette J, Thomas PS. Proteomics as a method for early detection of cancer: a review of proteomics, exhaled breath condensate, and lung cancer screening. *J Gen Intern Med*. 2008 Jan;23 Suppl 1:78-84.
376. Maniscalco M, De Laurentiis G, Pentella C, Mormile M, Sanduzzi A, Carratu P, et al. Exhaled breath condensate as matrix for toluene detection: a preliminary study. *Biomarkers*. 2006 May-Jun;11(3):233-40.
377. Felix PM, Franco C, Barreiros MA, Batista B, Bernardes S, Garcia SM, et al. Biomarkers of exposure to metal dust in exhaled breath condensate: methodology optimization. *Arch Environ Occup Health*. 2013;68(2):72-9.
378. Paggiaro PL, Chanez P, Holz O, Ind PW, Djukanovic R, Maestrelli P, et al. Sputum induction. *Eur Respir J Suppl*. 2002 Sep;37:3s-8s.
379. Djukanovic R, Sterk PJ, Fahy JV, Hargreave FE. Standardised methodology of sputum induction and processing. *Eur Respir J Suppl*. 2002 Sep;37:1s-2s.
380. Lerman Y, Schwarz Y, Kaufman G, Ganor E, Fireman E. Case series: use of induced sputum in the evaluation of occupational lung diseases. *Arch Environ Health*. 2003 May;58(5):284-9.
381. Lemiere C. Induced sputum and exhaled nitric oxide as noninvasive markers of airway inflammation from work exposures. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2007 Apr;7(2):133-7.
382. Lemiere C. The use of sputum eosinophils in the evaluation of occupational asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2004 Apr;4(2):81-5.
383. Baines KJ, Simpson JL, Wood LG, Scott RJ, Gibson PG. Transcriptional phenotypes of asthma defined by gene expression profiling of induced sputum samples. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Jan;127(1):153-60, 60 e1-9.
384. Lemiere C. Diagnosing occupational asthma: insight from induced sputum. *Can J Physiol Pharmacol*. 2006 Jan;84(1):1-4.
385. Sanchez-Vidaurre S, Cruz MJ, Gomez-Olles S, Morell F, Munoz X. Sputum inflammatory profile before and after specific inhalation challenge in individuals with suspected occupational asthma. *Plos One*. 2013;8(11):e78304.
386. Prince P, Lemiere C, Dufour MH, Chaboillez S, Boulet LP. Airway inflammatory responses following exposure to occupational agents. *Chest*. 2012 Jun;141(6):1522-7.
387. Lemiere C, Chaboillez S, Malo JL, Cartier A. Changes in sputum cell counts after exposure to occupational agents: what do they mean? *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Jun;107(6):1063-8.
388. Malo JL, Cardinal S, Ghezzi H, L'Archeveque J, Castellanos L, Maghni K. Association of bronchial reactivity to occupational agents with methacholine reactivity, sputum cells and immunoglobulin E-mediated reactivity. *Clin Exp Allergy*. 2011 Apr;41(4):497-504.
389. Lemiere C, Chaboillez S, Welman M, Maghni K. Outcome of occupational asthma after removal from exposure: A follow-up study. *Can Respir J*. 2010 Mar-Apr;17(2):61-6.
390. Marek W, Kotschy-Lang N, Muti A, Kohler CH, Nielsen L, Topalidis TH, et al. Can semi-automated image cytometry on induced sputum become a screening tool for lung cancer? Evaluation of quantitative semi-automated sputum cytometry on radon- and uranium-exposed workers. *Eur Respir J*. 2001 Dec;18(6):942-50.
391. Teschler H, Thompson AB, Dollenkamp R, Konietzko N, Costabel U. Relevance of asbestos bodies in sputum. *Eur Respir J*. 1996 Apr;9(4):680-6.
392. Capellaro E, Chiesa A, Villari S, Bontempi S, Sulotto F, Scansetti G. Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid and sputum. *Med Lav*. 1997 Mar-Apr;88(2):99-107.

393. Paris C, Galateau-Salle F, Creveuil C, Morello R, Raffaelli C, Gillon JC, et al. Asbestos bodies in the sputum of asbestos workers: correlation with occupational exposure. *Eur Respir J*. 2002 Nov;20(5):1167-73.
394. Fireman E, Greif J, Schwarz Y, Man A, Ganor E, Ribak Y, et al. Assessment of hazardous dust exposure by BAL and induced sputum. *Chest*. 1999 Jun;115(6):1720-8.
395. Lerman Y, Segal B, Rochvarger M, Weinberg D, Kivity O, Fireman E. Induced-sputum particle size distribution and pulmonary function in foundry workers. *Arch Environ Health*. 2003 Sep;58(9):565-71.
396. Ikeda S. Flexible bronchofiberscope. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1970 Oct;79(5):916-23.
397. Ikeda S, Tsuboi E, Ono R, Ishikawa S. Flexible bronchofiberscope. *Jpn J Clin Oncol*. 2010 Sep;40(9):e55-64.
398. Mehta A, Jain P. *Interventional bronchoscopy: a clinical guide*. New York: Springer; 2013.
399. Bolliger CT, Mathur PN. *Interventional bronchoscopy*. Basel; London: Karger; 1997.
400. Meyer KC, Raghu G, Baughman RP, Brown KK, Costabel U, du Bois RM, et al. An official American Thoracic Society clinical practice guideline: the clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012 May 1;185(9):1004-14.
401. Baughman RP. Technical aspects of bronchoalveolar lavage: recommendations for a standard procedure. *Semin Respir Crit Care Med*. 2007 Oct;28(5):475-85.
402. Djukanovic R, Dahl R, Jarjour N, Aalbers R. Safety of biopsies and bronchoalveolar lavage. *Eur Respir J Suppl*. 1998 Mar;26:39S-41S.
403. Du Rand IA, Blaikley J, Booton R, Chaudhuri N, Gupta V, Khalid S, et al. British Thoracic Society guideline for diagnostic flexible bronchoscopy in adults: accredited by NICE. *Thorax*. 2013 Aug;68 Suppl 1:i1-i44.
404. Meyer KC, Raghu G, Baughman RP, Brown KK, Costabel U, du Bois RM, et al. An official American Thoracic Society clinical practice guideline: the clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease - Online supplement; 2012. <http://www.thoracic.org/statements/resources/interstitial-lung-disease/online-supplement-clinical-utility-blcaild.pdf>. Acedido em maio 2014.
405. Wolff H, Teppo AM, Mutanen P, Sutinen S, Backman R, Pietinalho A, et al. Studies of cytokine levels in bronchoalveolar fluid lavage from patients with interstitial lung diseases. *Scand J Clin Lab Invest*. 2003;63(1):27-36.
406. Mohr LC. Hypersensitivity pneumonitis. *Curr Opin Pulm Med*. 2004 Sep;10(5):401-11.
407. Pardo A, Barrios R, Gaxiola M, Segura-Valdez L, Carrillo G, Estrada A, et al. Increase of lung neutrophils in hypersensitivity pneumonitis is associated with lung fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 May;161(5):1698-704.
408. Hasan SA, Eksteen B, Reid D, Paine HV, Alansary A, Johannson K, et al. Role of IL-17A and neutrophils in fibrosis in experimental hypersensitivity pneumonitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Jun;131(6):1663-73.
409. Avila R, Villar TG. Suberosis. Respiratory disease in cork workers. *Lancet*. 1968 Mar 23;1(7543):620-1.
410. Barbarin V, Xing Z, Delos M, Lison D, Huaux F. Pulmonary overexpression of IL-10 augments lung fibrosis and Th2 responses induced by silica particles. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005 May;288(5):L841-8.
411. Moreira VB, Ferreira AS, Soares PJ, Gabetto JM, Rodrigues CC. The role of bronchoalveolar lavage in quantifying inhaled particles in silicosis. *Rev Port Pneumol*. 2005 Sep-Oct;11(5):457-75.
412. Guo J, Gu N, Chen J, Shi T, Zhou Y, Rong Y, et al. Neutralization of interleukin-1 beta attenuates silica-induced lung inflammation and fibrosis in C57BL/6 mice. *Arch Toxicol*. 2013 Nov;87(11):1963-73.

413. Cordeiro A, Cordeiro CR. Exposição pulmonar profissional: pneumoconioses. In: Marques Gomes MJ, Sotto-Mayor R, editores. *Tratado de Pneumologia*. Lisboa, Portugal: Permanyer; 2003. p. 1407-14019.
414. Monso E, Carreres A, Tura JM, Ruiz J, Fiz J, Xaus C, et al. Electron microscopic microanalysis of bronchoalveolar lavage: a way to identify exposure to silica and silicate dust. *Occup Environ Med*. 1997 Aug;54(8):560-5.
415. De Vuyst P, Karjalainen A, Dumortier P, Pairon JC, Monso E, Brochard P, et al. Guidelines for mineral fibre analyses in biological samples: report of the ERS Working Group. European Respiratory Society. *Eur Respir J*. 1998 Jun;11(6):1416-26.
416. Vathesatogkit P, Harkin TJ, Addrizzo-Harris DJ, Bodkin M, Crane M, Rom WN. Clinical correlation of asbestos bodies in BAL fluid. *Chest*. 2004 Sep;126(3):966-71.
417. De Vuyst P, Dumortier P, Moulin E, Yourassowsky N, Roomans P, de Francquen P, et al. Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage reflect lung asbestos body concentration. *Eur Respir J*. 1988 Apr;1(4):362-7.
418. De Vuyst P, Dumortier P, Moulin E, Yourassowsky N, Yernault JC. Diagnostic value of asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid. *Am Rev Respir Dis*. 1987 Nov;136(5):1219-24.
419. Sebastien P, Armstrong B, Monchaux G, Bignon J. Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid and in lung parenchyma. *Am Rev Respir Dis*. 1988 Jan;137(1):75-8.
420. Roggli VL, Coin PG, MacIntyre NR, Bell DY. Asbestos content of bronchoalveolar lavage fluid. A comparison of light and scanning electron microscopic analysis. *Acta Cytol*. 1994 Jul-Aug;38(4):502-10.
421. Alexopoulos EC, Bouros D, Dimadi M, Serbescu A, Bakoyannis G, Kokkinis FP. Comparative analysis of induced sputum and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) profile in asbestos exposed workers. *J Occup Med Toxicol*. 2011;6:23.
422. Chain JL, Martin AK, Mack DG, Maier LA, Palmer BE, Fontenot AP. Impaired function of CTLA-4 in the lungs of patients with chronic beryllium disease contributes to persistent inflammation. *J Immunol*. 2013 Aug 15;191(4):1648-56.
423. Sawyer RT, Parsons CE, Fontenot AP, Maier LA, Gillespie MM, Gottschall EB, et al. Beryllium-induced tumor necrosis factor-alpha production by CD4+ T cells is mediated by HLA-DP. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2004 Jul;31(1):122-30.
424. Rossman MD, Kern JA, Elias JA, Cullen MR, Epstein PE, Preuss OP, et al. Proliferative response of bronchoalveolar lymphocytes to beryllium. A test for chronic beryllium disease. *Ann Intern Med*. 1988 May;108(5):687-93.
425. Nugent KM, Dodson RF, Idell S, Devillier JR. The utility of bronchoalveolar lavage and transbronchial lung biopsy combined with energy-dispersive X-ray analysis in the diagnosis of silicosis. *Am Rev Respir Dis*. 1989 Nov;140(5):1438-41.
426. Morell F, Roger A, Reyes L, Cruz MJ, Murio C, Munoz X. Bird fancier's lung: a series of 86 patients. *Medicine (Baltimore)*. 2008 Mar;87(2):110-30.
427. Kern DG, Kuhn C, 3rd, Ely EW, Pransky GS, Mello CJ, Fraire AE, et al. Flock worker's lung: broadening the spectrum of clinicopathology, narrowing the spectrum of suspected etiologies. *Chest*. 2000 Jan;117(1):251-9.
428. Gerfaud-Valentin M, Reboux G, Tracllet J, Thivolet-Bejui F, Cordier JF, Cottin V. Occupational hypersensitivity pneumonitis in a baker: a new cause. *Chest*. 2014 Apr 1;145(4):856-8.
429. Kreiss K. Occupational causes of constrictive bronchiolitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2013 Apr;13(2):167-72.
430. Austin CC, Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail. *Wildland firefighter health risks and respiratory protection*. Montréal: Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail; 2008.
431. Harrison R, Materna BL, Rothman N. Respiratory health hazards and lung function in wildland firefighters. *Occup Med*. 1995 Oct-Dec;10(4):857-70.

432. PORDATA. Incêndios florestais e área ardida – Continente 1980-2012. <http://www.pordata.pt/Portugal/Incendios+florestais+e+area+ardida+%20+Continente-1192>. Acedido em junho 2014.
433. Viegas DX, Ribeiro LM, Almeida MA, Oliveira R, Viegas MTP, Raposo JRR, et al. Os Grandes Incêndios Florestais e os Acidentes Mortais Ocorridos em 2013. Coimbra: Centro de Estudos sobre Incêndios Florestais. ADAI/LAETA. Departamento de Engenharia Mecânica Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra 2013.
434. Landrigan PJ, Liroy PJ, Thurston G, Berkowitz G, Chen LC, Chillrud SN, et al. Health and environmental consequences of the world trade center disaster. *Environ Health Perspect*. 2004 May;112(6):731-9.
435. Prezant DJ, Weiden M, Banauch GI, McGuinness G, Rom WN, Aldrich TK, et al. Cough and bronchial responsiveness in firefighters at the World Trade Center site. *N Engl J Med*. 2002 Sep 12;347(11):806-15.
436. Berger KI, Reibman J, Oppenheimer BW, Vlahos I, Harrison D, Goldring RM. Lessons from the World Trade Center disaster: airway disease presenting as restrictive dysfunction. *Chest*. 2013 Jul;144(1):249-57.
437. Sauler M, Gulati M. Newly recognized occupational and environmental causes of chronic terminal airways and parenchymal lung disease. *Clin Chest Med*. 2012 Dec;33(4):667-80.
438. Wu M, Gordon RE, Herbert R, Padilla M, Moline J, Mendelson D, et al. Case report: Lung disease in World Trade Center responders exposed to dust and smoke: carbon nanotubes found in the lungs of World Trade Center patients and dust samples. *Environ Health Perspect*. 2010 Apr;118(4):499-504.
439. Izbicki G, Chavko R, Banauch GI, Weiden MD, Berger KI, Aldrich TK, et al. World Trade Center "sarcoid-like" granulomatous pulmonary disease in New York City Fire Department rescue workers. *Chest*. 2007 May;131(5):1414-23.
440. Li J, Cone JE, Kahn AR, Brackbill RM, Farfel MR, Greene CM, et al. Association between World Trade Center exposure and excess cancer risk. *JAMA*. 2012 Dec 19;308(23):2479-88.
441. Stefanidou M, Athanaselis S, Spiliopoulou C. Health impacts of fire smoke inhalation. *Inhal Toxicol*. 2008 Jun;20(8):761-6.
442. Cone DC, MacMillan D, Parwani V, Van Gelder C. Threats to life in residential structure fires. *Prehosp Emerg Care*. 2008 Jul-Sep;12(3):297-301.
443. Caux C, O'Brien C, Viau C. Determination of firefighter exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and benzene during fire fighting using measurement of biological indicators. *Appl Occup Environ Hyg*. 2002 May;17(5):379-86.
444. Fabian TZ, Borgerson JL, Gandhi PD, Baxter CS, Ross CS, Lockey JE, et al. Characterization of Firefighter Smoke Exposure. *Fire Technology*. 2014 Jul;50(4):993-1019.
445. Swiston JR, Davidson W, Attridge S, Li GT, Brauer M, van Eeden SF. Wood smoke exposure induces a pulmonary and systemic inflammatory response in firefighters. *Eur Respir J*. 2008 Jul;32(1):129-38.
446. Stec A, Hull TR. Introduction to fire toxicity. In: Stec A, Hull TR, editors. *Fire toxicity*. Cambridge: Woodhead Pub.; 2010. p. 4-25.
447. Purser DA. Asphyxiant components of fire effluents. In: Stec A, Hull TR, editors. *Fire toxicity*. Cambridge: Woodhead Pub.; 2010. p. 118-98.
448. Guidotti TL. Human factors in firefighting: ergonomic-, cardiopulmonary-, and psychogenic stress-related issues. *Int Arch Occup Environ Health*. 1992;64(1):1-12.
449. Musk AW, Peters JM, Bernstein L, Rubin C, Monroe CB. Pulmonary function in firefighters: a six-year follow-up in the Boston Fire Department. *Am J Ind Med*. 1982;3(1):3-9.
450. Musk AW, Smith TJ, Peters JM, McLaughlin E. Pulmonary function in firefighters: acute changes in ventilatory capacity and their correlates. *Br J Ind Med*. 1979 Feb;36(1):29-34.

451. Loke J, Farmer W, Matthay RA, Putman CE, Smith GJ. Acute and chronic effects of fire fighting on pulmonary function. *Chest*. 1980 Mar;77(3):369-73.
452. Unger KM, Snow RM, Mestas JM, Miller WC. Smoke inhalation in firemen. *Thorax*. 1980 Nov;35(11):838-42.
453. Sparrow D, Bosse R, Rosner B, Weiss ST. The effect of occupational exposure on pulmonary function: a longitudinal evaluation of fire fighters and nonfire fighters. *Am Rev Respir Dis*. 1982 Mar;125(3):319-22.
454. Brandt-Rauf PW, Cosman B, Fallon LF, Jr., Tarantini T, Idema C. Health hazards of firefighters: acute pulmonary effects after toxic exposures. *Br J Ind Med*. 1989 Mar;46(3):209-11.
455. Liu D, Tager IB, Balmes JR, Harrison RJ. The effect of smoke inhalation on lung function and airway responsiveness in wildland fire fighters. *Am Rev Respir Dis*. 1992 Dec;146(6):1469-73.
456. Reh C, Letts D, Deitchman S. Health Hazard Evaluation Report, Yosemite National Park (Report HETA 90-0365-2415): National Institute for Occupational Safety and Health; 1994.
457. Naeher LP, Brauer M, Lipsett M, Zelikoff JT, Simpson CD, Koenig JQ, et al. Woodsmoke health effects: a review. *Inhal Toxicol*. 2007 Jan;19(1):67-106.
458. McNamara ML, Semmens EO, Gaskill S, Palmer C, Noonan CW, Ward TJ. Base camp personnel exposure to particulate matter during wildland fire suppression activities. *J Occup Environ Hyg*. 2012;9(3):149-56.
459. Materna BL, Jones JR, Sutton PM, Rothman N, Harrison RJ. Occupational exposures in California wildland fire fighting. *Am Ind Hyg Assoc J*. 1992 Jan;53(1):69-76.
460. Dunn KH, Shulman S, Stock AL, Naeher LP. Personal carbon monoxide exposures among firefighters at prescribed forest burns in the Southeastern United States. *Arch Environ Occup Health*. 2013;68(1):55-9.
461. Rothman N, Ford DP, Baser ME, Hansen JA, O'Toole T, Tockman MS, et al. Pulmonary function and respiratory symptoms in wildland firefighters. *J Occup Med*. 1991 Nov;33(11):1163-7.
462. Letts D, Fidler AT, Deitchman S, Reh C. Health-hazard evaluation report HETA 91-152-2140.1991.
463. Betchley C, Koenig JQ, van Belle G, Checkoway H, Reinhardt T. Pulmonary function and respiratory symptoms in forest firefighters. *Am J Ind Med*. 1997 May;31(5):503-9.
464. Slaughter JC, Koenig JQ, Reinhardt TE. Association between lung function and exposure to smoke among firefighters at prescribed burns. *J Occup Environ Hyg*. 2004 Jan;1(1):45-9.
465. Reinhardt TE, Ottmar RD. Smoke exposure at western wildfires. Portland, OR (333 S.W. First Avenue, P.O. Box 3890, Portland, 97208): United States Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station; 2000.
466. Bergstrom CE, Eklund A, Skold M, Tornling G. Bronchoalveolar lavage findings in firefighters. *Am J Ind Med*. 1997 Oct;32(4):332-6.
467. Gaughan DM, Piacitelli CA, Chen BT, Law BF, Virji MA, Edwards NT, et al. Exposures and Cross-shift Lung Function Declines in Wildland Firefighters. *J Occup Environ Hyg*. 2014 Feb 25.
468. Gaughan DM, Cox-Ganser JM, Enright PL, Castellan RM, Wagner GR, Hobbs GR, et al. Acute upper and lower respiratory effects in wildland firefighters. *J Occup Environ Med*. 2008 Sep;50(9):1019-28.
469. Adetona O, Simpson CD, Onstad G, Naeher LP. Exposure of wildland firefighters to carbon monoxide, fine particles, and levoglucosan. *Ann Occup Hyg*. 2013 Oct;57(8):979-91.
470. Adetona O, Hall DB, Naeher LP. Lung function changes in wildland firefighters working at prescribed burns. *Inhal Toxicol*. 2011 Nov;23(13):835-41.
471. Adetona O, Dunn K, Hall DB, Achtemeier G, Stock A, Naeher LP. Personal PM(2.5) exposure among wildland firefighters working at prescribed forest burns in Southeastern United States. *J Occup Environ Hyg*. 2011 Aug;8(8):503-11.

472. Serra A, Mocci F, Randaccio FS. Pulmonary function in Sardinian fire fighters. *Am J Ind Med.* 1996 Jul;30(1):78-82.
473. Jacquin L, Michelet P, Brocq FX, Houel JG, Truchet X, Auffray JP, et al. Short-term spirometric changes in wildland firefighters. *Am J Ind Med.* 2011 Nov;54(11):819-25.
474. Almeida AG, Duarte R, Mieiro L, Paiva AC, Rodrigues AM, Almeida MH, et al. [Pulmonary function in Portuguese firefighters]. *Rev Port Pneumol.* 2007 May-Jun;13(3):349-64.
475. Miranda AI, Ferreira J, Valente J, Santos P, Amorim JH, Borrego C. Smoke measurements during Gestosa-2002 experimental field fires. *Int J Wildland Fire.* [Article; Proceedings Paper]. 2005;14(1):107-16.
476. Burgess JL, Nanson CJ, Bolstad-Johnson DM, Gerkin R, Hysong TA, Lantz RC, et al. Adverse respiratory effects following overhaul in firefighters. *J Occup Environ Med.* 2001 May;43(5):467-73.
477. Kales SN, Soteriades ES, Christophi CA, Christiani DC. Emergency duties and deaths from heart disease among firefighters in the United States. *N Engl J Med.* 2007 Mar 22;356(12):1207-15.
478. Wolkow A, Netto K, Langridge P, Green J, Nichols D, Sergeant M, et al. Coronary heart disease risk in volunteer firefighters in Victoria, Australia. *Arch Environ Occup Health.* 2014;69(2):112-20.
479. Friel JK, Stones M. Firefighters and heart disease. *Am J Public Health.* 1992 Aug;82(8):1175-6.
480. Kales SN, Smith DL. Sudden cardiac death in the fire service. *Occup Med (Lond).* 2014 Jun;64(4):228-30.
481. Rosenstock L, Olsen J. Firefighting and death from cardiovascular causes. *N Engl J Med.* 2007 Mar 22;356(12):1261-3.
482. Yang J, Teehan D, Farioli A, Baur DM, Smith D, Kales SN. Sudden cardiac death among firefighters \leq 45 years of age in the United States. *Am J Cardiol.* 2013 Dec 15;112(12):1962-7.
483. Geibe JR, Holder J, Peeples L, Kinney AM, Burrell JW, Kales SN. Predictors of on-duty coronary events in male firefighters in the United States. *Am J Cardiol.* 2008 Mar 1;101(5):585-9.
484. Angerer P, Kadlez-Gebhardt S, Delius M, Raluca P, Nowak D. Comparison of cardiocirculatory and thermal strain of male firefighters during fire suppression to exercise stress test and aerobic exercise testing. *Am J Cardiol.* 2008 Dec 1;102(11):1551-6.
485. Fuks KB, Weinmayr G, Foraster M, Dratva J, Hampel R, Houthuijs D, et al. Arterial Blood Pressure and Long-Term Exposure to Traffic-Related Air Pollution: An Analysis in the European Study of Cohorts for Air Pollution Effects (ESCAPE). *Environ Health Perspect.* 2014 May 16.
486. Lippmann M, Chen LC, Gordon T, Ito K, Thurston GD. National Particle Component Toxicity (NPACT) Initiative: integrated epidemiologic and toxicologic studies of the health effects of particulate matter components. *Res Rep Health Eff Inst.* 2013 Oct(177):5-13.
487. Goheer A, Bailey M, Gittelsohn J, Pollack KM. Fighting fires and fat: an intervention to address obesity in the fire service. *J Nutr Educ Behav.* 2014 May-Jun;46(3):219-20.
488. Aisbett B, Wolkow A, Sprajcer M, Ferguson SA. "Awake, smoky, and hot": providing an evidence-base for managing the risks associated with occupational stressors encountered by wildland firefighters. *Appl Ergon.* 2012 Sep;43(5):916-25.
489. Youakim S. Risk of cancer among firefighters: a quantitative review of selected malignancies. *Arch Environ Occup Health.* 2006 Sep-Oct;61(5):223-31.
490. LeMasters GK, Genaidy AM, Succop P, Deddens J, Sobeih T, Barriera-Viruet H, et al. Cancer risk among firefighters: a review and meta-analysis of 32 studies. *J Occup Environ Med.* 2006 Nov;48(11):1189-202.
491. Golden AL, Markowitz SB, Landrigan PJ. The risk of cancer in firefighters. *Occup Med.* 1995 Oct-Dec;10(4):803-20.

492. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Painting, firefighting, and shiftwork. Lyon, France. Geneva: Distributed by WHO Press; 2010.
493. Pukkala E, Martinsen JI, Weiderpass E, Kjaerheim K, Lynge E, Tryggvadottir L, et al. Cancer incidence among firefighters: 45 years of follow-up in five Nordic countries. *Occup Environ Med*. 2014 Jun;71(6):398-404.
494. Daniels RD, Kubale TL, Yiin JH, Dahm MM, Hales TR, Baris D, et al. Mortality and cancer incidence in a pooled cohort of US firefighters from San Francisco, Chicago and Philadelphia (1950-2009). *Occup Environ Med*. 2014 Jun;71(6):388-97.
495. Booze TF, Reinhardt TE, Quiring SJ, Ottmar RD. A screening-level assessment of the health risks of chronic smoke exposure for wildland firefighters. *J Occup Environ Hyg*. 2004 May;1(5):296-305.
496. Reinhardt TE, Ottmar RD. Baseline measurements of smoke exposure among wildland firefighters. *J Occup Environ Hyg*. 2004 Sep;1(9):593-606.
497. Ottmar R, Miranda AI, Sandberg V. Characterizing Sources of Emissions from Wildland Fires. In: Bytnerowicz A, Arbaugh MJ, Riebau AR, Andersen C, editors. *Wildland fires and air pollution*. Amsterdam ; Boston: Elsevier; 2009. p. 61-78.
498. Urbanski SP, Hao WM, Baker S. Chemical Composition of Wildland Fire emissions. In: Bytnerowicz A, Arbaugh MJ, Riebau AR, Andersen C, editors. *Wildland fires and air pollution*. Amsterdam ; Boston: Elsevier; 2009. p. 79-107.
499. Danielsen PH, Moller P, Jensen KA, Sharma AK, Wallin H, Bossi R, et al. Oxidative stress, DNA damage, and inflammation induced by ambient air and wood smoke particulate matter in human A549 and THP-1 cell lines. *Chem Res Toxicol*. 2011 Feb 18;24(2):168-84.
500. Leonard SS, Castranova V, Chen BT, Schwegler-Berry D, Hoover M, Piacitelli C, et al. Particle size-dependent radical generation from wildland fire smoke. *Toxicology*. 2007 Jul 1;236(1-2):103-13.
501. Barregard L, Sallsten G, Andersson L, Almstrand AC, Gustafson P, Andersson M, et al. Experimental exposure to wood smoke: effects on airway inflammation and oxidative stress. *Occup Environ Med*. 2008 May;65(5):319-24.
502. Barregard L, Sallsten G, Gustafson P, Andersson L, Johansson L, Basu S, et al. Experimental exposure to wood-smoke particles in healthy humans: effects on markers of inflammation, coagulation, and lipid peroxidation. *Inhal Toxicol*. 2006 Oct;18(11):845-53.
503. Adetona O, Zhang JJ, Hall DB, Wang JS, Vena JE, Naeher LP. Occupational exposure to woodsmoke and oxidative stress in wildland firefighters. *Sci Total Environ*. 2013 Apr 1;449:269-75.
504. Hejl AM, Adetona O, Diaz-Sanchez D, Carter JD, Commodore AA, Rathbun SL, et al. Inflammatory effects of woodsmoke exposure among wildland firefighters working at prescribed burns at the Savannah River Site, SC. *J Occup Environ Hyg*. 2013;10(4):173-80.
505. Gilbert SG. *A small dose of toxicology : the health effects of common chemicals*. Boca Raton ; London: CRC Press; 2004.
506. EPA. Definition of Volatile Organic Compounds (VOC). 2014.
http://www.epa.gov/ttn/naaqs/ozone/ozonetech/def_voc.htm. Acedido em maio 2014.
507. Diretiva 2004/42/CE da União Europeia. 2004.
508. Diretiva 1999/13/CE da União Europeia. 1999.
509. Heinrich-Ramm R, Jakubowski M, Heinzow B, Christensen JM, Olsen E, Hertel O. Biological monitoring for exposure to volatile organic compounds (VOCs). *Pure Appl Chem*. [Review]. 2000 Mar;72(3):385-436.
510. Lapare S, Tardif R, Brodeur J. Effect of various exposure scenarios on the biological monitoring of organic solvents in alveolar air. I. Toluene and m-xylene. *Int Arch Occup Environ Health*. 1993;64(8):569-80.

511. Estevan C, Ferri F, Sogorb MA, Vilanova E. Characterization and evolution of exposure to volatile organic compounds in the Spanish shoemaking industry over a 5-year period. *J Occup Environ Hyg*. 2012;9(11):653-62.
512. Massolo L, Rehwagen M, Porta A, Ronco A, Herbarth O, Mueller A. Indoor-outdoor distribution and risk assessment of volatile organic compounds in the atmosphere of industrial and urban areas. *Environ Toxicol*. 2010 Aug;25(4):339-49.
513. Leung MK, Liu CH, Chan AH. Occupational exposure to volatile organic compounds and mitigation by push-pull local exhaust ventilation in printing plants. *J Occup Health*. 2005 Nov;47(6):540-7.
514. Vermeulen R, Li G, Lan Q, Dosemeci M, Rappaport SM, Bohong X, et al. Detailed exposure assessment for a molecular epidemiology study of benzene in two shoe factories in China. *Ann Occup Hyg*. 2004 Mar;48(2):105-16.
515. Ridgway P, Nixon TE, Leach JP. Occupational exposure to organic solvents and long-term nervous system damage detectable by brain imaging, neurophysiology or histopathology. *Food Chem Toxicol*. 2003 Feb;41(2):153-87.
516. Dittmer DK, Jhamandas JH, Johnson ES. Glue-sniffing neuropathies. *Can Fam Physician*. 1993 Sep;39:1965-71.
517. Lundberg I, Milatou-Smith R. Mortality and cancer incidence among Swedish paint industry workers with long-term exposure to organic solvents. *Scand J Work Environ Health*. 1998 Aug;24(4):270-5.
518. Peters S, Glass DC, Greenop KR, Armstrong BK, Kirby M, Milne E, et al. Childhood brain tumours: associations with parental occupational exposure to solvents. *Br J Cancer*. 2014 Jun 24.
519. IARC. A review of human carcinogens. Iarc Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Conference. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2012.
520. Gochfeld M, Laumbach R. Chemical Hazards. In: Levy BS, Wegman DH, Baron SL, Sokas RK, editors. *Occupational and environmental health: recognizing and preventing disease and injury*. New York.: Oxford University Press; 2011. p. 192-226.
521. Angerer P, Marstaller H, Bahemann-Hoffmeister A, Rommelt H, Hoppe P, Kessel R. Alterations in lung function due to mixtures of organic solvents used in floor laying. *Int Arch Occup Environ Health*. 1991;63(1):43-50.
522. Al-Batanony MA, Abdel-Rasoul GM, Abu-Salem MA, Al-Ahmar IA, Al-Badry AS. Cohort study on respiratory and neurological disorders among workers in a bone glue factory in Egypt. *Int J Occup Environ Med*. 2012 Apr;3(2):84-91.
523. Saygun M, Cakmak A, Ekici A, Pinar T, Bulcun E, Ulu N, et al. Five annual observations of respiratory findings in gun factory workers exposed to solvents. *J Occup Environ Med*. 2007 Aug;49(8):909-12.
524. Mathur N, Rastogi SK. Respiratory effects due to occupational exposure to formaldehyde: Systematic review with meta-analysis. *Indian J Occup Environ Med*. 2007 Jan;11(1):26-31.
525. Park J, Lee CG, Ryu SY. Factors related to the prevalence of respiratory symptoms in workers in a petrochemical complex. *J Occup Health*. 2006 May;48(3):216-22.
526. Schenker MB, Jacobs JA. Respiratory effects of organic solvent exposure. *Tuber Lung Dis*. 1996 Feb;77(1):4-18.
527. Todd L, Puangthongthub ST, Mottus K, Mihlan G, Wing S. Health survey of workers exposed to mixed solvent and ergonomic hazards in footwear and equipment factory workers in Thailand. *Ann Occup Hyg*. 2008 Apr;52(3):195-205.
528. Harving H, Dahl R, Molhave L. Lung function and bronchial reactivity in asthmatics during exposure to volatile organic compounds. *Am Rev Respir Dis*. 1991 Apr;143(4 Pt 1):751-4.

529. Cakmak A, Ekici A, Ekici M, Arslan M, Iteginli A, Kurtipek E, et al. Respiratory findings in gun factory workers exposed to solvents. *Respir Med*. 2004 Jan;98(1):52-6.
530. Lehman EJ, Hein MJ. Mortality of workers employed in shoe manufacturing: an update. *Am J Ind Med*. 2006 Jul;49(7):535-46.
531. Análise Setorial da Indústria do Calçado. Estudos da Central de Balanços. Banco de Portugal. Lisboa: Banco de Portugal; 2012.
532. Calçado, Componentes e Artigos de Pele. Monografia Estatística 2013; 2013.
533. Mayan O, Pires A, Neves P, Capela F. Shoe manufacturing and solvent exposure in northern Portugal. *Appl Occup Environ Hyg*. 1999 Nov;14(11):785-90.
534. Perbellini L, Soave C, Cerpelloni M. [Solvent pollution in shoe factories]. *Med Lav*. 1992 Mar-Apr;83(2):115-9.
535. Mayan O, Teixeira JP, Pires AF. Biological monitoring of n-hexane exposure in Portuguese shoe manufacturing workers. *Appl Occup Environ Hyg*. 2001 Jul;16(7):736-41.
536. Pitarque M, Vaglenov A, Nosko M, Pavlova S, Petkova V, Hirvonen A, et al. Sister chromatid exchanges and micronuclei in peripheral lymphocytes of shoe factory workers exposed to solvents. *Environ Health Perspect*. 2002 Apr;110(4):399-404.
537. Heuser VD, Erdtmann B, Kvitko K, Rohr P, da Silva J. Evaluation of genetic damage in Brazilian footwear-workers: biomarkers of exposure, effect, and susceptibility. *Toxicology*. 2007 Apr 11;232(3):235-47.
538. Gonzalez-Yebra AL, Kornhauser C, Wrobel K, Perez-Luque EL, Barbosa G. Occupational exposure to toluene and its possible causative role in renal damage development in shoe workers. *Int Arch Occup Environ Health*. 2006 Mar;79(3):259-64.
539. Lee DH, Park IG, Kim JH, Lee YH, Kim D, Kang SK. Neurobehavioral changes in shoe manufacturing workers. *Neurotoxicol Teratol*. 1998 May-Jun;20(3):259-63.
540. Wang L, Zhou Y, Liang Y, Wong O, Armstrong T, Schnatter AR, et al. Benzene exposure in the shoemaking industry in China, a literature survey, 1978-2004. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2006 Nov;46(2):149-56.
541. Paggiaro P, Lastrucci L, Di Pede C, Bacci E, Rossi O, Talini D. [Respiratory pathology caused by exposure to solvents in the shoe industry: description of 3 clinical cases]. *G Ital Med Lav*. 1985 Jul;7(4):149-52.
542. Maniscalco M, Grieco L, Galdi A, Lundberg JO, Sofia M. Increase in exhaled nitric oxide in shoe and leather workers at the end of the work-shift. *Occup Med (Lond)*. 2004 Sep;54(6):404-7.
543. Instituto Nacional de Estatística IP. Estatísticas da Produção Industrial 2012. Lisboa; 2013.
544. Helal SF, Elshafy WS. Health hazards among workers in plastic industry. *Toxicol Ind Health*. 2013 Oct;29(9):812-9.
545. Sati PC, Khaliq F, Vaney N, Ahmed T, Tripathi AK, Banerjee BD. Pulmonary function and oxidative stress in workers exposed to styrene in plastic factory: occupational hazards in styrene-exposed plastic factory workers. *Hum Exp Toxicol*. 2011 Nov;30(11):1743-50.
546. Rueff J, Teixeira JP, Santos LS, Gaspar JF. Genetic effects and biotoxicity monitoring of occupational styrene exposure. *Clin Chim Acta*. 2009 Jan;399(1-2):8-23.
547. Strafella E, Bracci M, Staffolani S, Manzella N, Giantomasi D, Valentino M, et al. Occupational styrene exposure induces stress-responsive genes involved in cytoprotective and cytotoxic activities. *Plos One*. 2013;8(9):e75401.
548. Eriksson K, Wiklund L. Dermal exposure to styrene in the fibreglass reinforced plastics industry. *Ann Occup Hyg*. 2004 Apr;48(3):203-8.
549. Sharman P, Wood-Baker R. Interstitial lung disease due to fumes from heat-cutting polymer rope. *Occup Med (Lond)*. 2013 Sep;63(6):451-3.

550. Nemery B. Chemical-Induced Lung Injury and Its Long-Term Sequelae. In: Gevenois PA, Vuyst Pd, editors. *Imaging of Occupational and Environmental Disorders of the Chest*. Berlin: Springer; 2006. p. 67-75.
551. Booth K, Cummings B, Karoly WJ, Mullins S, Robert WP, Spence M, et al. Measurements of airborne methylene diphenyl diisocyanate (MDI) concentration in the U.S. workplace. *J Occup Environ Hyg*. 2009 Apr;6(4):228-38.
552. Creely KS, Hughson GW, Cocker J, Jones K. Assessing isocyanate exposures in polyurethane industry sectors using biological and air monitoring methods. *Ann Occup Hyg*. 2006 Aug;50(6):609-21.
553. Gannon PF, Berg AS, Gayosso R, Henderson B, Sax SE, Willems HM. Occupational asthma prevention and management in industry--an example of a global programme. *Occup Med (Lond)*. 2005 Dec;55(8):600-5.
554. Bakerly ND, Moore VC, Vellore AD, Jaakkola MS, Robertson AS, Burge PS. Fifteen-year trends in occupational asthma: data from the Shield surveillance scheme. *Occup Med (Lond)*. 2008 May;58(3):169-74.
555. Khaliq F, Singh P, Chandra P, Gupta K, Vaney N. Pulmonary functions in plastic factory workers: a preliminary study. *Indian J Physiol Pharmacol*. 2011 Jan-Mar;55(1):60-6.
556. Ferreira PL. Criação da versão portuguesa dos MOS SF-36. Parte I - Adaptação cultural e linguística. *Acta Médica Portuguesa*. 2000(13):55-66.
557. Ferreira PL. Criação da versão portuguesa dos MOS SF-36. Parte II - Testes de validação. 2000(13):119-27.
558. Ferreira PL, Ferreira LN, Pereira LN. O sistema português de valores do SF-6D. *Revista Portuguesa de Saúde Pública*. 2009;Vol. temático 8:7-23.
559. Estatística - dados sobre incêndios florestais nacionais. Autoridade Florestal Nacional. 2010. <http://www.icnf.pt/portal/florestas/dfci/inc/estatisticas>. Acedido em junho 2014.
560. Andreoli R, Manini P, Corradi M, Mutti A, Niessen WM. Determination of patterns of biologically relevant aldehydes in exhaled breath condensate of healthy subjects by liquid chromatography/atmospheric chemical ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2003;17(7):637-45.
561. Decreto-Lei n.º 102/2010. *Diário da República*, 1.ª série — N.º 186 — 23 de Setembro de 2010. Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território.
562. Norma Portuguesa NP1796 2007. Segurança e Saúde do Trabalho. Valor limite de exposição profissional a agentes químicos. Instituto Português da Qualidade. Lisboa. 2007.
563. Decreto-Lei n.º 24/2012. Ministério da Economia e do Emprego. *Diário da República*, 1.ª série — N.º 26 — 6 de fevereiro de 2012.
564. ACGIH. Policy Statement on the Uses of TLVs® and BEIs®. 2014. <http://www.acgih.org/products/tlvintro.htm>. Acedido em julho 2014.
565. NIOSH. Documentation for Immediately Dangerous To Life or Health Concentrations (IDLHs). 1994; Available from: <http://www.cdc.gov/niosh/idlh/idlhintr.html>.
566. Exposure standards for atmospheric contaminants in the occupational environment. Australian Safety and Compensation Council. Canberra. Australia; 1995.
567. Ferreira PL. Percepção de estado de saúde e de qualidade de vida da população activa: contributo para a definição de normas portuguesas. *Revista Portuguesa de Saúde Pública*. 2003;21(2):15-30.
568. Ferreira PL, Ferreira LN, Pereira LN. Medidas sumário física e mental de estado de saúde para a população portuguesa. *Revista Portuguesa de Saúde Pública*. 2012;30(2):163-71.
569. Ferreira PL, Ferreira LN, Pereira LN. SF-6D Portuguese population norms. *Eur J Health Econ*. 2014 Feb 7.
570. Reisen F, Hansen D, Meyer CP. Exposure to bushfire smoke during prescribed burns and wildfires: firefighters' exposure risks and options. *Environ Int*. 2011 Feb;37(2):314-21.

571. Carvalho FP, Oliveira JM, Malta M. Exposure to radionuclides in smoke from vegetation fires. *Sci Total Environ*. 2014 Feb 15;472:421-4.
572. Carey MG, Al-Zaiti SS, Dean GE, Sessanna L, Finnell DS. Sleep problems, depression, substance use, social bonding, and quality of life in professional firefighters. *J Occup Environ Med*. 2011 Aug;53(8):928-33.
573. Chen YS, Chen MC, Chou FH, Sun FC, Chen PC, Tsai KY, et al. The relationship between quality of life and posttraumatic stress disorder or major depression for firefighters in Kaohsiung, Taiwan. *Qual Life Res*. 2007 Oct;16(8):1289-97.
574. Schermer T, Malbon T, Morgan M, Briggs N, Holton C, Appleton S, et al. Lung function and health status in metropolitan fire-fighters compared to general population controls. *Int Arch Occup Environ Health*. 2010 Oct;83(7):715-23.
575. Schermer TR, Malbon W, Adams R, Morgan M, Smith M, Crockett AJ. Change in lung function over time in male metropolitan firefighters and general population controls: a 3-year follow-up study. *J Occup Health*. 2013;55(4):267-75.
576. Janssens JP, Pache JC, Nicod LP. Physiological changes in respiratory function associated with ageing. *Eur Respir J*. 1999 Jan;13(1):197-205.
577. Greven F, Krop E, Spithoven J, Rooyackers J, Kerstjens H, Heederik D. Lung function, bronchial hyperresponsiveness, and atopy among firefighters. *Scand J Work Environ Health*. 2011 Jul;37(4):325-31.
578. Durackova Z. Free Radicals and Antioxidants for Non-Experts. In: Laher I, editor. *Systems biology of free radicals and antioxidants*. Berlin; Heidelberg: Springer Verlag; 2014. p. 3-38.
579. Kilgour J, Roberts R. Pathophysiological Roles of Reactive Oxygen and Nitrogen Species. In: Laher I, editor. *Systems biology of free radicals and antioxidants*. Berlin; Heidelberg: Springer Verlag; 2014. p. 171-206.
580. Kanazawa H, Shoji S, Yoshikawa T, Hirata K, Yoshikawa J. Increased production of endogenous nitric oxide in patients with bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Exp Allergy*. 1998 Oct;28(10):1244-50.
581. Corradi M, Majori M, Cacciani GC, Consigli GF, de'Munari E, Pesci A. Increased exhaled nitric oxide in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 1999 Jul;54(7):572-5.
582. Agusti AG, Villaverde JM, Togores B, Bosch M. Serial measurements of exhaled nitric oxide during exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 1999 Sep;14(3):523-8.
583. Norman V, Keith CH. Nitrogen oxides in tobacco smoke. *Nature*. 1965;205(27 February 1965):915-6.
584. Masiol M, Agostinelli C, Formenton G, Tarabotti E, Pavoni B. Thirteen years of air pollution hourly monitoring in a large city: Potential sources, trends, cycles and effects of car-free days. *Sci Total Environ*. 2014 Jul 15;494-495C:84-96.
585. White KA, Marletta MA. Nitric oxide synthase is a cytochrome P-450 type hemoprotein. *Biochemistry*. 1992 Jul 28;31(29):6627-31.
586. Rawal N, Rajpurohit R, Lischwe MA, Williams KR, Paik WK, Kim S. Structural specificity of substrate for S-adenosylmethionine:protein arginine N-methyltransferases. *Biochim Biophys Acta*. 1995 Apr 5;1248(1):11-8.
587. Boger RH, Vallance P, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a key regulator of nitric oxide synthase. *Atheroscler Suppl*. 2003 Dec;4(4):1-3.
588. Boger RH, Bode-Boger SM, Tsao PS, Lin PS, Chan JR, Cooke JP. An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase regulates endothelial adhesiveness for monocytes. *J Am Coll Cardiol*. 2000 Dec;36(7):2287-95.

589. Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martasek P, Hogg N, Masters BS, Karoui H, et al. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Aug 4;95(16):9220-5.
590. Mugge A, Hanefeld C, Boger RH. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine and the risk of coronary heart disease: rationale and design of the multicenter CARDIAC study. *Atheroscler Suppl*. 2003 Dec;4(4):29-32.
591. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*. 2001 Aug 1;357(Pt 3):593-615.
592. Di Gangi IM, Pirillo P, Carraro S, Gucciardi A, Naturale M, Baraldi E, et al. Online trapping and enrichment ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for sensitive measurement of "arginine-asymmetric dimethylarginine cycle" biomarkers in human exhaled breath condensate. *Anal Chim Acta*. 2012 Nov 19;754:67-74.
593. Sy BMC, Dweik EE, Dweik RA. Arginine and nitric oxide. In: Shils ME, Shike M, C. RA, Caballero B, Cousins RJ, editors. *Modern Nutrition in Health and Disease*. 10th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2005.
594. Dweik RA. The lung in the balance: arginine, methylated arginines, and nitric oxide. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007 Jan;292(1):L15-7.
595. Dweik RA, Laskowski D, Abu-Soud HM, Kaneko F, Hutte R, Stuehr DJ, et al. Nitric oxide synthesis in the lung. Regulation by oxygen through a kinetic mechanism. *J Clin Invest*. 1998 Feb 1;101(3):660-6.
596. Bulau P, Zakrzewicz D, Kitowska K, Leiper J, Gunther A, Grimminger F, et al. Analysis of methylarginine metabolism in the cardiovascular system identifies the lung as a major source of ADMA. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007 Jan;292(1):L18-24.
597. Scott JA, North ML, Rafii M, Huang H, Pencharz P, Subbarao P, et al. Asymmetric dimethylarginine is increased in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Oct 1;184(7):779-85.
598. Conventz A, Musiol A, Brodowsky C, Muller-Lux A, Dewes P, Kraus T, et al. Simultaneous determination of 3-nitrotyrosine, tyrosine, hydroxyproline and proline in exhaled breath condensate by hydrophilic interaction liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2007 Dec 1;860(1):78-85.
599. Gaston B, Drazen JM, Loscalzo J, Stamler JS. The biology of nitrogen oxides in the airways. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994 Feb;149(2 Pt 1):538-51.
600. van der Vliet A, Eiserich JP, Shigenaga MK, Cross CE. Reactive nitrogen species and tyrosine nitration in the respiratory tract: epiphenomena or a pathobiologic mechanism of disease? *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 Jul;160(1):1-9.
601. Lara A, Khatri SB, Wang Z, Comhair SA, Xu W, Dweik RA, et al. Alterations of the arginine metabolome in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Oct 1;178(7):673-81.
602. Liang Y, Yeligar SM, Brown LA. Exhaled breath condensate: a promising source for biomarkers of lung disease. *ScientificWorldJournal*. 2012;2012:217518.
603. Montuschi P, Ciabattini G, Paredi P, Pantelidis P, du Bois RM, Kharitonov SA, et al. 8-Isoprostane as a biomarker of oxidative stress in interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Nov;158(5 Pt 1):1524-7.
604. Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattini G, Corradi M, van Rensen L, Geddes DM, et al. Exhaled 8-isoprostane as a new non-invasive biomarker of oxidative stress in cystic fibrosis. *Thorax*. 2000 Mar;55(3):205-9.
605. Patel MM, Chillrud SN, Deepti KC, Ross JM, Kinney PL. Traffic-related air pollutants and exhaled markers of airway inflammation and oxidative stress in New York City adolescents. *Environ Res*. 2013 Feb;121:71-8.
606. Corradi M, Gergelova P, Di Pilato E, Folesani G, Goldoni M, Andreoli R, et al. Effect of exposure to detergents and other chemicals on biomarkers of pulmonary response in exhaled

- breath from hospital cleaners: a pilot study. *Int Arch Occup Environ Health*. 2012 May;85(4):389-96.
607. Cueto R, Squadrito GL, Bermudez E, Pryor WA. Identification of heptanal and nonanal in bronchoalveolar lavage from rats exposed to low levels of ozone. *Biochem Biophys Res Commun*. 1992 Oct 15;188(1):129-34.
608. Petruska JM, Leslie KO, Mossman BT. Enhanced lipid peroxidation in lung lavage of rats after inhalation of asbestos. *Free Radic Biol Med*. 1991;11(4):425-32.
609. Corradi M, Pignatti P, Manini P, Andreoli R, Goldoni M, Poppa M, et al. Comparison between exhaled and sputum oxidative stress biomarkers in chronic airway inflammation. *Eur Respir J*. 2004 Dec;24(6):1011-7.
610. Corradi M, Folesani G, Andreoli R, Manini P, Bodini A, Piacentini G, et al. Aldehydes and glutathione in exhaled breath condensate of children with asthma exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Feb 1;167(3):395-9.
611. Whitsett J, Martasek P, Zhao H, Schauer DW, Hatakeyama K, Kalyanaraman B, et al. Endothelial cell superoxide anion radical generation is not dependent on endothelial nitric oxide synthase-serine 1179 phosphorylation and endothelial nitric oxide synthase dimer/monomer distribution. *Free Radic Biol Med*. 2006 Jun 1;40(11):2056-68.
612. Rahman I, van Schadewijk AA, Crowther AJ, Hiemstra PS, Stolk J, MacNee W, et al. 4-Hydroxy-2-nonenal, a specific lipid peroxidation product, is elevated in lungs of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Aug 15;166(4):490-5.
613. Haberzettl P, Bhatnagar A, Conklin DJ. Particulate Matter and Oxidative Stress – Pulmonary and Cardiovascular Targets and Consequences. In: Laher I, editor. *Systems biology of free radicals and antioxidants*. Berlin; Heidelberg: Springer Verlag; 2014. p. 1557-1586.
614. Migliaccio CT, Kobos E, King QO, Porter V, Jessop F, Ward T. Adverse effects of wood smoke PM(2.5) exposure on macrophage functions. *Inhal Toxicol*. 2013 Feb;25(2):67-76.
615. Leonard SS, Wang S, Shi X, Jordan BS, Castranova V, Dubick MA. Wood smoke particles generate free radicals and cause lipid peroxidation, DNA damage, NFkappaB activation and TNF-alpha release in macrophages. *Toxicology*. 2000 Sep 7;150(1-3):147-57.
616. Pope CA, 3rd, Burnett RT, Thun MJ, Calle EE, Krewski D, Ito K, et al. Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *JAMA*. 2002 Mar 6;287(9):1132-41.
617. Rahman I, Skwarska E, Henry M, Davis M, O'Connor CM, FitzGerald MX, et al. Systemic and pulmonary oxidative stress in idiopathic pulmonary fibrosis. *Free Radic Biol Med*. 1999 Jul;27(1-2):60-8.
618. Psathakis K, Mermigkis D, Papatheodorou G, Loukides S, Panagou P, Polychronopoulos V, et al. Exhaled markers of oxidative stress in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur J Clin Invest*. 2006 May;36(5):362-7.
619. Ould-Kadi F, Nawrot TS, Hoet PH, Nemery B. Respiratory function and bronchial responsiveness among industrial workers exposed to different classes of occupational agents: a study from Algeria. *J Occup Med Toxicol*. 2007;2:11.
620. Schweigert M, Sax S, House R, Henderson B. Investigation of pulmonary function among employees exposed to low levels of monomeric isocyanates and solvents at an automobile finishings plant. *J Occup Environ Med*. 2002 Nov;44(11):1083-90.
621. Le Moual N, Orłowski E, Schenker MB, Avignon M, Brochard P, Kauffmann F. Occupational exposures estimated by means of job exposure matrices in relation to lung function in the PAARC survey. *Occup Environ Med*. 1995 Oct;52(10):634-43.

ANEXOS

Anexo 1: Questionário SF-36v2

QUESTIONÁRIO DE ESTADO DE SAÚDE (SF-36v2)

INSTRUÇÕES: As questões que se seguem pedem-lhe opinião sobre a sua saúde, a forma como se sente e sobre a sua capacidade de desempenhar as actividades habituais.

Pedimos que leia com atenção cada pergunta e que responda o mais honestamente possível. Se não tiver a certeza sobre a resposta a dar, dê-nos a que achar mais apropriada e, se quiser, escreva um comentário a seguir à pergunta.

Para as perguntas 1 e 2, por favor coloque um círculo no número que melhor descreve a sua saúde.

1. Em geral, diria que a sua saúde é:

Ótima	Muito boa	Boa	Razoável	Fraca
1	2	3	4	5

2. Comparando com o que acontecia há um ano, como descreve o seu estado geral actual:

Muito melhor	Com algumas melhoras	Aproximadamente igual	Um pouco pior	Muito pior
1	2	3	4	5

3. As perguntas que se seguem são sobre actividades que executa no seu dia-a-dia. Será que a sua saúde o/a limita nestas actividades? Se sim, quanto?

(Por favor assinale com um círculo um número em cada linha)

	Sim, muito limitado/a	Sim, um pouco limitado/a	Não, nada limitado/a
a. Actividades violentas , tais como correr, levantar pesos, participar em desportos extenuantes	1	2	3
b. Actividades moderadas , tais como deslocar uma mesa ou aspirar a casa	1	2	3
c. Levantar ou pegar nas compras de mercearia	1	2	3
d. Subir vários lanços de escada	1	2	3
e. Subir um lanço de escadas	1	2	3
f. Inclinar-se, ajoelhar-se ou baixar-se	1	2	3
g. Andar mais de 1 Km	1	2	3
h. Andar várias centenas de metros	1	2	3
i. Andar uma centena de metros	1	2	3
j. Tomar banho ou vestir-se sozinho/a.....	1	2	3

Copyright © 1992. New England Medical Center Hospitals, Inc. All rights reserved.
Copyright © 1997. Versão Portuguesa 2 Centro de Estudos e Investigação em Saúde. Todos os direitos reservados.

4. Durante as últimas 4 semanas teve, no seu trabalho ou actividades diárias, algum dos problemas apresentados a seguir como consequência do seu estado de saúde físico?

Quanto tempo, nas últimas quatro semanas...	Sempre	A maior parte do tempo	Algum tempo	Pouco tempo	Nunca
a. Diminuiu o tempo gasto a trabalhar ou noutras actividades	1	2	3	4	5
b. Fez menos do que queria?	1	2	3	4	5
c. Sentiu-se limitado/a no tipo de trabalho ou outras actividades	1	2	3	4	5
d. Teve dificuldade em executar o seu trabalho ou outras actividades (por exemplo, foi preciso mais esforço).....	1	2	3	4	5

5. Durante as últimas 4 semanas, teve com o seu trabalho ou com as suas actividades diárias, algum dos problemas apresentados a seguir devido a quaisquer problemas emocionais (tal como sentir-se deprimido/a ou ansioso/a)?

Quanto tempo, nas últimas quatro semanas...	Sempre	A maior parte do tempo	Algum tempo	Pouco tempo	Nunca
a. Diminuiu o tempo gasto a trabalhar ou noutras actividades	1	2	3	4	5
b. Fez menos do que queria?	1	2	3	4	5
c. Executou o seu trabalho ou outras actividades menos cuidadosamente do que era costume .	1	2	3	4	5

Para cada uma das perguntas 6, 7 e 8, por favor ponha um círculo no número que melhor descreve a sua saúde.

6. Durante as últimas 4 semanas, em que medida é que a sua saúde física ou problemas emocionais interferiram no seu relacionamento social normal com a família, amigos, vizinhos ou outras pessoas?

Absolutamente nada	Pouco	Moderadamente	Bastante	Imenso
1	2	3	4	5

7. Durante as últimas 4 semanas teve dores?

Nenhumas	Muito fracas	Ligeiras	Moderadas	Fortes	Muito fortes
1	2	3	4	5	6

8. Durante as últimas 4 semanas, de que forma é que a dor interferiu com o seu trabalho normal (tanto o trabalho fora de casa como o trabalho doméstico)?

Absolutamente nada	Pouco	Moderadamente	Bastante	Imenso
1	2	3	4	5

9. As perguntas que se seguem pretendem avaliar a forma como se sentiu e como lhe correram as coisas nas últimas quatro semanas.

Para cada pergunta, coloque por favor um círculo à volta do número que melhor descreve a forma como se sentiu.

Certifique-se que coloca um círculo em cada linha.

Quanto tempo, nas últimas quatro semanas...	Sempre	A maior parte do tempo	Algum tempo	Pouco tempo	Nunca
a. Se sentiu cheio/a de vitalidade?	1	2	3	4	5
b. Se sentiu muito nervoso/a?	1	2	3	4	5
c. Se sentiu tão deprimido/a que nada o/a animava?	1	2	3	4	5
d. Se sentiu calmo/a e tranquilo/a?	1	2	3	4	5
e. Se sentiu com muita energia?	1	2	3	4	5
f. Se sentiu deprimido/a?	1	2	3	4	5
g. Se sentiu estafado/a?	1	2	3	4	5
h. Se sentiu feliz?	1	2	3	4	5
i. Se sentiu cansado/a?	1	2	3	4	5

10. Durante as últimas quatro semanas, até que ponto é que a sua saúde física ou problemas emocionais limitaram a sua actividade social (tal como visitar amigos ou familiares próximos)?

Sempre	A maior parte do tempo	Algum tempo	Pouco tempo	Nunca
1	2	3	4	5

11. Por favor, diga em que medida são verdadeiras ou falsas as seguintes afirmações. Ponha um círculo para cada linha.

	Absolutamente verdade	Verdade	Não sei	Falso	Absolutamente falso
a. Parece que adoeço mais facilmente do que os outros	1	2	3	4	5
b. Sou tão saudável como qualquer outra pessoa	1	2	3	4	5
c. Estou convencido/a que a minha saúde vai piorar	1	2	3	4	5
d. A minha saúde é óptima	1	2	3	4	5

MUITO OBRIGADO

Pág. 4

Anexo 2: Correlações entre os valores obtidos nas diversas amostras

Quadro I – Correlações (ρ) entre os valores exalados na amostra controlo (EBC, $F_{E}NO$ e CO)

Quadro II – Correlações (ρ) entre os valores exalados nos bombeiros pré ensaios de campo (EBC, $F_{E}NO$ e CO)

Quadro III – Correlações (ρ) entre os valores exalados nos bombeiros pós-ensaios de campo (EBC, $F_{E}NO$ e CO)

Quadro IV – Correlações (ρ) entre a diferença dos valores obtidos antes e após ensaios de campo e os valores dos monitores individuais

Quadro V – Correlações (ρ) entre os valores exalados nos bombeiros pós incêndios reais (EBC, $F_{E}NO$ e CO)

Quadro VI – Correlações(ρ) entre a diferença dos valores exalados nos bombeiros antes e após fogo real e os valores dos monitores individuais

Quadro VII – Correlações (ρ) entre os valores exalados na amostra da indústria do calçado no início da semana de trabalho (EBC e $F_{E}NO$)

Quadro VIII – Correlações (ρ) entre os valores exalados na amostra da indústria do calçado no final da semana de trabalho (EBC e $F_{E}NO$)

Quadro IX – Correlações (ρ) entre a diferença dos valores exalados de EBC, $F_{E}NO$, espirometria e os valores dos monitores individuais na amostra do calçado

Quadro X – Correlações (ρ) entre a diferença dos valores exalados de EBC e $F_{E}NO$ na amostra do calçado e as variações espirométricas

Quadro XI – Correlações (ρ) entre os valores exalados na amostra da indústria de plásticos no início da semana de trabalho (EBC e $F_{E}NO$)

Quadro XII – Correlações (ρ) entre os valores exalados na amostra da indústria de plásticos no final da semana de trabalho (EBC e $F_{E}NO$)

Quadro XIII – Correlações (ρ) entre a diferença dos valores exalados de EBC, $F_{E}NO$, espirometria e os valores dos monitores individuais na indústria de plásticos

Quadro XIV – Correlações (ρ) entre a diferença dos valores exalados de EBC e $F_{E}NO$ na amostra de plásticos e as variações espirométricas

Quadro I - Correlações entre os valores exalados na amostra controlo (EBC, F_ENO e CO)

Correlações dos valores exalados na amostra controlo (EBC, F _E NO e CO)																
		Orn	Prol	4OHProl	Citr	Isoleu	Leu	Tyr	ADMA	SDMA	Nitrato	MDA	HNE	F _E NO	CO	
Arg	rho	0,583	0,817**	-0,083	0,800**	0,817**	0,833**	0,817**	0,267	0,300	0,445	-0,417	-0,600	0,151	0,321	
	p	0,099	0,007	0,831	0,010	0,007	0,005	0,007	0,488	0,433	0,230	0,265	0,088	0,699	0,400	
	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
Orn	rho		0,867**	-0,067	0,350	0,867**	,850**	0,867**	0,450	0,700*	0,773*	-0,400	0,083	0,134	0,089	
	p		0,002	0,865	0,356	0,002	0,004	0,002	0,224	0,036	0,015	0,286	0,831	0,731	0,820	
	n		9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
Prol	rho			-0,167	0,633	1,000**	0,967**	1,000**	0,400	0,583	0,655	-0,283	-0,183	0,008	0,321	
	p			0,668	0,067	0,000	0,000	0,000	0,286	0,099	0,055	0,460	0,637	0,983	0,400	
	n			9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
4OHProl	rho				0,150	-0,167	-0,133	-0,167	-0,433	-0,250	0,067	0,417	-0,083	0,569	-0,490	
	p				0,700	0,668	0,732	0,668	0,244	0,516	0,864	0,265	0,831	0,110	0,181	
	n				9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
Citr	rho					0,633	0,567	0,633	-0,200	-0,100	0,261	0,017	-0,400	0,209	0,526	
	p					0,067	0,112	0,067	0,606	0,798	0,498	0,966	0,286	0,589	0,146	
	n					9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
Isoleu	rho							0,967**	1,000**	0,400	0,583	0,655	-0,283	-0,183	0,008	0,321
	p							0,000	0,000	0,286	0,099	0,055	0,460	0,637	0,983	0,400
	n							9	9	9	9	9	9	9	9	9
Leu	rho							0,967**	1,000**	0,383	0,633	0,613	-0,433	-0,333	0,167	0,267
	p							0,000	0,000	0,308	0,067	0,079	0,244	0,381	0,667	0,487
	n							9	9	9	9	9	9	9	9	9
Tyr	rho								0,400	0,583	0,655	-0,283	-0,183	0,008	0,321	
	p								0,286	0,099	0,055	0,460	0,637	0,983	0,400	
	n								9	9	9	9	9	9	9	9
ADMA	rho									0,800**	0,655	-0,217	0,117	-0,368	-0,374	
	p									0,010	0,055	0,576	0,765	0,330	0,321	
	n									9	9	9	9	9	9	9
SDMA	rho										0,798**	-0,300	0,117	0,084	-0,258	
	p										0,010	0,433	0,765	0,831	0,502	
	n										9	9	9	9	9	9
Nitrato	rho											-0,059	0,261	0,194	-0,305	
	p											0,881	0,498	0,617	0,424	
	n											9	9	9	9	9
MDA	rho												0,400	-0,234	-0,214	
	p												0,286	0,544	0,581	
	n												9	9	9	9
HNE	rho													-0,251	-0,196	
	p													0,515	0,613	
	n													9	9	9
F _E NO	rho														-0,152	
	p														0,696	
	n														9	9

*p < 0,05; **p < 0,001. Teste de Spearman.

Quadro II - Correlações entre os valores exalados nos bombeiros pré ensaios de campo (EBC, F_ENO e CO)

Correlações entre os valores exalados nos bombeiros pré ensaios de campo (EBC, F _E NO e CO)																	
		Orn	Prol	4OHProI	Citr	Isoleu	Leu	Tyr	ADMA	SDMA	8-isoprostano	Nitrato	MDA	HNE	F _E NO	CO	
Arg	rho	0,547*	0,567*	-0,202	0,765**	0,595**	0,616**	0,623**	0,529	0,423	0,339	0,007	-0,030	0,118	-0,189	0,027	
	p	0,015	0,011	0,406	0,000	0,007	0,005	0,004	0,020	0,071	0,155	0,977	0,904	0,631	0,439	0,912	
	n	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
Orn	rho		0,940**	0,256	0,632**	0,968**	0,950**	0,947**	0,566*	0,303	-0,219	0,044	-0,133	-0,145	-0,123	-0,265	
	p		0,000	0,290	0,004	0,000	0,000	0,000	0,012	0,208	0,368	0,858	0,586	0,554	0,616	0,274	
	n		19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
Prol	rho			0,258	0,737**	0,963**	0,951**	0,933**	0,579**	0,295	-0,222	0,074	-0,105	-0,163	-0,057	-0,321	
	p			0,287	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,220	0,362	0,764	0,668	0,504	0,816	0,180	
	n			19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
4OHProI	rho				0,247	0,215	0,157	0,264	0,026	-0,004	-0,213	0,235	0,053	-0,019	-0,021	-0,030	
	p				0,308	0,376	0,521	0,275	0,915	0,989	0,382	0,333	0,830	0,937	0,932	0,905	
	n				19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
Citr	rho					0,689**	0,663**	0,691**	0,421	0,335	0,143	0,175	0,053	0,060	-0,087	0,029	
	p					0,001	0,002	0,001	0,073	0,160	0,558	0,473	0,831	0,808	0,723	0,906	
	n					19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
Isoleu	rho						0,988**	0,947**	0,566*	0,291	-0,185	-0,002	-0,139	-0,189	-0,055	-0,251	
	p						0,000	0,000	0,012	0,226	0,447	0,994	0,571	0,439	0,822	0,300	
	n						19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
Leu	rho							0,939**	0,615**	0,243	-0,144	-0,065	-0,131	-0,162	-0,061	-0,280	
	p							0,000	0,005	0,317	0,556	0,792	0,594	0,507	0,803	0,245	
	n							19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
Tyr	rho								0,642**	0,381	-0,060	0,126	0,040	0,014	-0,072	-0,198	
	p								0,003	0,107	0,808	0,606	0,870	0,954	0,770	0,415	
	n								19	19	19	19	19	19	19	19	19
ADMA	rho									0,366	0,004	0,013	-0,049	-0,096	-0,051	-0,358	
	p									0,124	0,986	0,957	0,842	0,696	0,836	0,133	
	n									19	19	19	19	19	19	19	19
SDMA	rho										0,385	-0,111	-0,144	-0,044	0,540*	-0,061	
	p										0,104	0,651	0,555	0,856	0,017	0,803	
	n										19	19	19	19	19	19	19
8-isoprostano	rho												-0,247	0,039	0,302	0,431	0,295
	p												0,308	0,875	0,209	0,065	0,221
	n												19	19	19	19	19
Nitrato	rho													0,409	0,309	-0,515*	0,037
	p													0,082	0,198	0,024	0,880
	n													19	19	19	19
MDA	rho														0,786**	-0,210	0,189
	p														0,000	0,389	0,437
	n														19	19	19
HNE	rho															-0,174	0,267
	p															0,477	0,269
	n															19	19
F _E NO	rho																0,008
	p																0,975
	n																19

*p < 0,05; **p < 0,001. Teste de Spearman.

Quadro III- Correlações entre os valores exalados nos bombeiros pós-ensaios de campo (EBC, F_eNO e CO)

Correlações entre os valores exalados nos bombeiros pós-ensaios de campo (EBC, F _e NO e CO)																
		Orn	Prol	4OHProL	Citr	Isoleu	Leu	Tyr	ADMA	SDMA	8-isoprostano	Nitrato	MDA	HNE	F _e NO	CO
Arg	rho	0,404	0,837**	0,559*	0,668**	0,702**	0,749**	0,768**	0,589**	0,379	-0,014	0,311	0,611**	0,427	-0,256	0,063
	p	0,087	0,000	0,013	0,002	0,001	0,000	0,000	0,008	0,109	0,955	0,196	0,005	0,068	0,290	0,796
	n	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
Orn	rho		0,732**	0,081	0,539*	0,893**	0,844**	0,804**	0,427	0,259	-0,075	-0,282	0,206	0,195	-0,004	0,390
	p		0,000	0,742	0,017	0,000	0,000	0,000	0,068	0,285	0,759	0,241	0,397	0,424	0,986	0,098
	n		19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
Prol	rho			0,439	0,518*	0,919**	0,958**	0,891**	0,636**	0,379	-0,230	0,002	0,535*	0,317	-0,157	0,159
	p			0,060	0,023	0,000	0,000	0,000	0,003	0,109	0,344	0,994	0,018	0,186	0,521	0,516
	n			19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
4OHProL	rho				0,287	0,311	0,322	0,452	0,403	0,220	0,083	0,168	0,252	0,406	-0,188	0,056
	p				0,233	0,195	0,178	0,052	0,087	0,366	0,737	0,493	0,298	0,084	0,440	0,821
	n				19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
Citr	rho					0,623**	0,558*	0,640**	0,290	0,249	0,181	0,139	0,298	0,456*	-0,344	0,372
	p					0,004	0,013	0,003	0,229	0,304	0,459	0,571	0,215	0,050	0,149	0,117
	n					19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
Isoleu	rho						0,971**	0,935**	0,603**	0,403	-0,188	-0,160	0,398	0,313	-0,094	0,331
	p						0,000	0,000	0,006	0,087	0,442	0,514	0,092	0,193	0,702	0,167
	n						19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
Leu	rho							0,928**	0,624**	0,378	-0,175	-0,093	0,486*	0,354	-0,140	0,229
	p							0,000	0,004	0,110	0,475	0,705	0,035	0,138	0,566	0,346
	n							19	19	19	19	19	19	19	19	19
Tyr	rho								0,673**	0,450	-0,077	-0,196	0,428	0,358	-0,190	0,242
	p								0,002	0,053	0,753	0,420	0,067	0,132	0,437	0,319
	n								19	19	19	19	19	19	19	19
ADMA	rho									0,794**	-0,106	-0,195	0,209	0,223	-0,137	-0,030
	p									0,000	0,665	0,424	0,390	0,360	0,577	0,904
	n									19	19	19	19	19	19	19
SDMA	rho										-0,067	-0,206	0,193	0,400	0,061	-0,034
	p										0,786	0,398	0,428	0,090	0,804	0,890
	n										19	19	19	19	19	19
8-isoprostano	rho											0,200	0,137	0,163	-0,341	-0,348
	p											0,412	0,576	0,504	0,153	0,144
	n											19	19	19	19	19
Nitrato	rho												0,350	0,369	-0,217	-0,056
	p												0,142	0,120	0,373	0,819
	n												19	19	19	19
MDA	rho													0,415	-0,157	-0,156
	p													0,077	0,522	0,525
	n													19	19	19
HNE	rho														-0,089	0,225
	p														0,717	0,355
	n														19	19
F _e NO	rho															0,091
	p															0,712
	n															19

*p < 0,05; **p < 0,001. Teste de Spearman.

Quadro IV - Correlações entre a diferença dos valores obtidos antes e após ensaios de campo e os valores dos monitores individuais

Correlações entre a diferença dos valores exalados antes e após ensaios de campo e os valores dos monitores individuais					
		CO monit	COV monit	NO ₂ monit	PM _{2,5} monit
Δ Arg	rho	0,500	0,154	-0,028	0,098
	p	0,117	0,632	0,931	0,762
	n	11	12	12	12
Δ Orn	rho	0,464	0,488	0,222	0,503
	p	0,151	0,108	0,488	0,095
	n	11	12	12	12
Δ Prol	rho	0,509	0,396	0,074	0,294
	p	0,110	0,202	0,819	0,354
	n	11	12	12	12
Δ 4OHprol	rho	0,327	-0,172	0,158	-0,105
	p	0,326	0,593	0,623	0,746
	n	11	12	12	12
Δ Citr	rho	0,173	0,046	0,282	-0,147
	p	0,612	0,888	0,375	0,649
	n	11	12	12	12
Δ Isoleu	rho	0,455	0,326	-0,039	0,336
	p	0,160	0,301	0,905	0,286
	n	11	12	12	12
Δ Leu	rho	0,464	0,232	-0,151	0,287
	p	0,151	0,469	0,639	0,366
	n	11	12	12	12
Δ Tyr	rho	0,409	0,182	-0,137	0,231
	p	0,212	0,570	0,670	0,471
	n	11	12	12	12
Δ ADMA	rho	0,164	-0,309	-0,081	-0,105
	p	0,631	0,329	0,802	0,746
	n	11	12	12	12
Δ SDMA	rho	0,373	-0,126	-0,349	0,252
	p	0,259	0,696	0,267	0,430
	n	11	12	12	12
Δ MDA	rho	0,383	0,401	-0,091	0,055
	p	0,308	0,250	0,802	0,881
	n	9	10	10	10
ΔHNE	rho	-0,067	-0,152	-0,610	-0,006
	p	0,865	0,675	0,061	0,987
	n	9	10	10	10
Δ 8-isoprostano	rho	0,291	-0,291	-0,419	-0,315
	p	0,385	0,358	0,175	0,319
	n	11	12	12	12
Δ Nitrato	rho	0,297	0,323	0,719*	0,082
	p	0,405	0,332	0,013	0,811
	n	10	11	11	11
Δ FeNO	rho	0,083	-0,071	-0,493	0,373
	p	0,809	0,827	0,103	0,232
	n	11	12	12	12
Δ CO	rho	0,505	0,489	-0,511	0,602*
	p	0,113	0,106	0,090	0,038
	n	11	12	12	12

*p < 0,05; **p < 0,001. Teste de Spearman.

Quadro V - Correlações entre os valores exalados nos bombeiros pós incêndios reais (EBC, F_eNO e CO)

Correlações entre os valores exalados nos bombeiros pós incêndios reais (EBC, F _e NO e CO)																									
	Orn	Prol	4OHProI	Citr	Isoleu	Leu	Tyr	ADMA	SDMA	8-isoprostano	Nitrato	MDA	HNE	F _e NO	CO	CO monit	COV monit	NO ₂ monit	PM ₁₀ monit						
Arg	rho	0,750**	0,858**	0,636**	0,935**	0,815**	0,796**	0,764**	0,692**	0,641**	0,093	-0,049	0,230	0,316	-0,255	-0,052	-0,102	-0,133	-0,126	nd					
	p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,638	0,806	0,238	0,101	0,191	0,791	0,706	0,623	0,643	nd					
	n	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	16	16	16	16	nd				
Orn	rho		0,949**	0,622**	0,710**	0,964**	0,955**	0,937**	0,916**	0,844**	0,065	-0,094	0,215	0,018	-0,123	-0,080	-0,297	-0,365	-0,315	nd					
	p		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,741	0,634	0,272	0,926	0,532	0,685	0,265	0,164	0,235	nd					
	n		28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	16	16	16	16	nd				
Prol	rho			0,661**	0,818**	0,986**	0,969**	0,939**	0,884**	0,787**	0,128	-0,084	0,189	0,101	-0,113	-0,167	-0,151	-0,211	-0,162	nd					
	p			0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,517	0,672	0,334	0,609	0,567	0,395	0,576	0,434	0,548	nd					
	n			28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	16	16	16	16	nd				
4OHProI	rho				0,515**	0,646**	0,675**	0,616**	0,625**	0,616**	0,018	-0,031	-0,086	-0,234	0,062	0,022	-0,196	0,128	-0,058	nd					
	p				0,005	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,927	0,874	0,665	0,232	0,755	0,910	0,468	0,638	0,831	nd					
	n				28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	16	16	16	16	nd				
Citr	rho					0,777**	0,743**	0,715**	0,692**	0,655**	0,093	-0,132	0,223	0,443	-0,234	-0,008	0,053	-0,025	0,010	nd					
	p					0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,639	0,502	0,255	0,018	0,230	0,969	0,844	0,926	0,972	nd					
	n					28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	16	16	16	16	nd				
Isoleu	rho						0,987**	0,958**	0,896**	0,811**	0,112	-0,147	0,209	0,053	-0,128	-0,149	-0,185	-0,280	-0,228	nd					
	p						0,000	0,000	0,000	0,000	0,572	0,455	0,287	0,789	0,516	0,449	0,492	0,293	0,396	nd					
	n						28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	16	16	16	16	nd				
Leu	rho							0,942**	0,894**	0,798**	0,111	-0,132	0,200	0,006	-0,108	-0,166	-0,165	-0,218	-0,166	nd					
	p							0,000	0,000	0,000	0,574	0,503	0,308	0,976	0,583	0,399	0,542	0,417	0,539	nd					
	n							28	28	28	28	28	28	28	28	28	16	16	16	16	nd				
Tyr	rho								0,862**	0,837**	0,038	-0,144	0,112	-0,004	-0,133	-0,119	-0,058	-0,346	-0,249	nd					
	p								0,000	0,000	0,846	0,466	0,572	0,985	0,499	0,546	0,831	0,189	0,352	nd					
	n								28	28	28	28	28	28	28	28	16	16	16	16	nd				
ADMA	rho									0,896**	0,079	-0,075	0,218	0,036	-0,004	-0,077	-0,297	-0,287	-0,318	nd					
	p									0,000	0,689	0,705	0,265	0,856	0,982	0,697	0,264	0,281	0,230	nd					
	n									28	28	28	28	28	28	28	16	16	16	16	nd				
SDMA	rho										0,179	-0,208	0,190	0,101	-0,122	0,027	-0,434	-0,334	-0,430	nd					
	p										0,363	0,287	0,333	0,608	0,535	0,892	0,093	0,206	0,097	nd					
	n										28	28	28	28	28	28	16	16	16	16	nd				
8-isoprostano	rho											-0,048	0,510**	0,369	0,043	0,104	0,071	-0,013	-0,142	nd					
	p											0,807	0,006	0,053	0,828	0,597	0,793	0,963	0,600	nd					
	n											28	28	28	28	28	16	16	16	16	nd				
Nitrato	rho													-0,085	-0,142	0,162	-0,256	-0,359	-0,170	-0,327	nd				
	p													0,668	0,473	0,411	0,189	0,172	0,529	0,217	nd				
	n													28	28	28	28	16	16	16	16	nd			
MDA	rho														0,484**	0,023	0,077	-0,132	-0,396	-0,363	nd				
	p														0,009	0,907	0,696	0,626	0,129	0,167	nd				
	n														28	28	28	16	16	16	16	nd			
HNE	rho																	-0,245	0,211	0,007	-0,029	nd			
	p																	0,210	0,282	0,978	0,776	0,915	nd		
	n																	28	28	16	16	16	16	nd	
F _e NO	rho																			-0,370	0,190	0,225	-0,254	nd	
	p																			0,053	0,482	0,403	0,343	nd	
	n																			28	16	16	16	16	nd
CO	rho																				0,415	0,656**	nd		
	p																				0,107	-0,276	0,032	nd	
	n																				0,693	0,302	0,906	nd	
CO_monit	rho																					16	16	16	nd
	p																					0,415	0,656**	nd	
	n																					0,110	0,006	nd	
COV_monit	rho																						0,694**	nd	
	p																						0,003	nd	
	n																						16	16	nd
NO ₂ _monit	rho																								nd
	p																								nd
	n																								nd

*p < 0,05; **p < 0,001. Teste de Spearman.

Quadro VI - Correlações entre a diferença dos valores exalados nos bombeiros antes e após fogo real e os valores dos monitores individuais

Correlações entre a diferença dos valores exalados nos bombeiros antes e após fogo real e os valores dos monitores individuais				
		CO monit	COV monit	NO ₂ monit
Δ Arg	rho	-0,011	0,800	-0,400
	p	0,970	0,200	0,600
	n	14	4	4
Δ Orn	rho	-0,427	0,600	0,800
	p	0,128	0,400	0,200
	n	14	4	4
Δ Prol	rho	-0,258	1,000**	0,200
	p	0,374	0,000	0,800
	n	14	4	4
Δ 4OHprol	rho	-0,087	0,400	-0,600
	p	0,768	0,600	0,400
	n	14	4	4
Δ Citr	rho	0,042	0,800	-0,400
	p	0,886	0,200	0,600
	n	14	4	4
Δ Isoleu	rho	-0,133	0,800	-0,400
	p	0,650	0,200	0,600
	n	14	4	4
Δ Leu	rho	-0,107	0,800	-0,400
	p	0,717	0,200	0,600
	n	14	4	4
Δ Tyr	rho	-0,011	0,800	-0,400
	p	0,970	0,200	0,600
	n	14	4	4
Δ ADMA	rho	-0,353	0,400	-0,800
	p	0,215	0,600	0,200
	n	14	4	4
Δ SDMA	rho	-0,533*	-0,800	-0,200
	p	0,050	0,200	0,800
	n	14	4	4
Δ MDA	rho	-0,513	0,000	-1,000**
	p	0,060	1,000	0,000
	n	14	4	4
ΔHNE	rho	-0,449	0,200	-0,800
	p	0,107	0,800	0,200
	n	14	4	4
Δ 8-isoprostano	rho	-0,087	0,000	-0,800
	p	0,768	1,000	0,200
	n	14	4	4
Δ Nittrato	rho	-0,120	-0,800	0,600
	p	0,683	0,200	0,400
	n	14	4	4
Δ F _E NO	rho	-0,198	-0,200	0,000
	p	0,496	0,800	1,000
	n	14	4	4
Δ CO	rho	0,218	0,400	-0,400
	p	0,453	0,600	0,600
	n	14	4	4

*p < 0,05; **p < 0,001. Teste de Spearman.

Não houve monitorizações de PM_{2,5}

Quadro VII - Correlações entre os valores exalados na amostra da indústria do calçado no início da semana de trabalho (EBC e F_ENO)

Correlações entre os valores exalados na amostra da indústria do calçado no início da semana de trabalho (EBC e F _E NO)																
		Orn	Prol	4OHProI	Citr	Isoleu	Leu	Tyr	ADMA	SDMA	8-isoprostano	Nitrato	MDA	HNE	F _E NO	
<i>n</i> = 11																
Arg	rho	0,564	0,700*	0,191	0,745**	0,455	0,573	0,764**	0,751**	0,756**	0,137	0,082	-0,292	0,032	-0,014	
	<i>p</i>	0,071	0,016	0,574	0,008	0,160	0,066	0,006	0,008	0,007	0,688	0,811	0,384	0,926	0,968	
Orn	rho		0,900**	0,236	0,682*	0,955**	0,964**	0,636*	0,433	0,558	0,158	0,418	0,009	0,210	0,100	
	<i>p</i>		0,000	0,484	0,021	0,000	0,000	0,035	0,183	0,075	0,643	0,201	0,979	0,535	0,769	
Prol	rho			0,200	0,855**	0,882**	0,927**	0,764**	0,608*	0,452	0,221	0,418	-0,128	0,201	-0,037	
	<i>p</i>			0,555	0,001	0,000	0,000	0,006	0,047	0,163	0,514	0,201	0,709	0,554	0,915	
4OHProI	rho				0,236	0,091	0,118	0,136	0,401	-0,005	0,211	0,136	-0,159	0,196	-0,370	
	<i>p</i>				0,484	0,790	0,729	0,689	0,222	0,989	0,534	0,689	0,640	0,563	0,263	
Citr	rho					0,618*	0,673*	0,600	0,544	0,378	0,116	0,245	-0,510	-0,205	0,219	
	<i>p</i>					0,043	0,023	0,051	0,084	0,252	0,735	0,467	0,109	0,544	0,517	
Isoleu	rho							0,973**	0,564	0,447	0,489	0,316	0,364	0,009	0,169	0,073
	<i>p</i>							0,000	0,071	0,168	0,127	0,344	0,272	0,979	0,619	0,831
Leu	rho							0,727*	0,516	0,581	0,316	0,300	0,055	0,283	0,023	
	<i>p</i>							0,011	0,104	0,061	0,344	0,370	0,873	0,399	0,947	
Tyr	rho									0,627*	0,622*	0,253	0,000	0,232	0,521	-0,224
	<i>p</i>									0,039	0,041	0,453	1,000	0,492	0,101	0,508
ADMA	rho									0,540	0,673*	-0,041	-0,226	0,132	-0,303	
	<i>p</i>									0,087	0,023	0,904	0,503	0,699	0,365	
SDMA	rho										0,288	-0,240	-0,044	0,067	0,178	
	<i>p</i>										0,390	0,478	0,898	0,845	0,600	
8-isoprostano	rho											-0,463	-0,069	0,058	-0,201	
	<i>p</i>											0,151	0,841	0,865	0,553	
Nitrato	rho												-0,041	0,169	-0,151	
	<i>p</i>												0,905	0,619	0,658	
MDA	rho													0,728*	-0,275	
	<i>p</i>													0,011	0,414	
HNE	rho														-0,711*	
	<i>p</i>														0,014	

p* < 0,05; *p* < 0,001. Teste de Spearman.

Quadro VIII - Correlações entre os valores exalados na amostra da indústria do calçado no final da semana de trabalho (EBC e F_FNO)

Correlações entre os valores exalados na amostra da indústria do calçado no final da semana de trabalho (EBC e F _F NO)															
		Orn	Prol	4OHProI	Citr	Isoleu	Leu	Tyr	ADMA	SDMA	8 - isoprostano	Nitrato	MDA	HNE	F _F NO
n = 11															
Arg	rho	0,727*	0,809**	0,827**	0,945**	0,900**	0,855**	0,655*	0,260	0,342	-0,249	0,127	0,236	0,387	0,303
	p	0,011	0,003	0,002	0,000	0,000	0,001	0,029	0,441	0,303	0,461	0,709	0,484	0,239	0,364
Orn	rho		0,827**	0,382	0,618*	0,745**	0,845**	0,482	0,068	0,087	-0,081	0,145	-0,291	-0,041	0,326
	p		0,002	0,247	0,043	0,008	0,001	0,133	0,842	0,800	0,812	0,670	0,385	0,905	0,327
Prol	rho			0,582	0,818**	0,936**	0,936**	0,682*	0,387	0,315	-0,158	0,518	0,127	0,369	0,257
	p			0,060	0,002	0,000	0,000	0,021	0,239	0,345	0,643	0,102	0,709	0,264	0,445
4OHProI	rho				0,818**	0,682*	0,645*	0,600	0,396	0,429	-0,029	-0,045	0,482	0,610*	0,363
	p				0,002	0,021	0,032	0,051	0,228	0,188	0,933	0,894	0,133	0,046	0,272
Citr	rho					0,936**	0,864**	0,664*	0,451	0,548	-0,172	0,291	0,355	0,565	0,248
	p					0,000	0,001	0,026	0,164	0,081	0,613	0,385	0,285	0,070	0,462
Isoleu	rho						0,927**	0,700*	0,460	0,438	-0,182	0,436	0,145	0,460	0,340
	p						0,000	0,016	0,154	0,177	0,593	0,180	0,670	0,154	0,306
Leu	rho							0,709*	0,269	0,283	0,019	0,327	0,109	0,328	0,271
	p							0,015	0,424	0,399	0,956	0,326	0,750	0,325	0,420
Tyr	rho								0,077	-0,005	-0,272	0,182	0,245	0,538	0,170
	p								0,821	0,989	0,418	0,593	0,467	0,088	0,617
ADMA	rho									0,888**	0,211	0,478	0,241	0,699*	0,516
	p									0,000	0,534	0,137	0,474	0,017	0,104
SDMA	rho										0,214	0,393	0,301	0,620*	0,296
	p										0,528	0,232	0,368	0,042	0,377
8-isoprostano	rho											-0,076	-0,062	0,012	0,329
	p											0,823	0,856	0,972	0,324
Nitrato	rho												0,209	0,264	-0,184
	p												0,537	0,432	0,588
MDA	rho													0,670*	-0,267
	p													0,024	0,428
HNE	rho														0,332
	p														0,319

*p < 0,05; **p < 0,001. Teste de Spearman.

Quadro IX - Correlações entre a diferença dos valores exalados de EBC, F_ENO, espirometria e os valores dos monitores individuais na amostra do calçado

Correlações entre a diferença dos valores exalados de EBC, F _E NO, espirometria e os valores dos monitores individuais na amostra do calçado			
		monit. COV - MP (ppm)	monit. COV -pico (ppm)
Δ Arg	rho	0,357	0,419
	p	0,385	0,302
	n	8	8
Δ Orn	rho	0,452	0,457
	p	0,260	0,255
	n	8	8
Δ Prol	rho	0,524	0,533
	p	0,183	0,174
	n	8	8
Δ 4OHprol	rho	0,357	0,266
	p	0,385	0,524
	n	8	8
Δ Citr	rho	0,548	0,304
	p	0,160	0,464
	n	8	8
Δ Isoleu	rho	0,690	0,583
	p	0,058	0,129
	n	8	8
Δ Leu	rho	0,595	0,558
	p	0,120	0,151
	n	8	8
Δ Tyr	rho	0,238	0,114
	p	0,570	0,788
	n	8	8
Δ ADMA	rho	0,595	0,723*
	p	0,120	0,043
	n	8	8
Δ SDMA	rho	0,262	0,507
	p	0,531	0,199
	n	8	8
Δ MDA	rho	-0,300	-0,400
	p	0,624	0,505
	n	5	5
Δ HNE	rho	0,300	0,000
	p	0,624	1,000
	n	5	5
Δ 8-isoprostano	rho	0,840*	0,735
	p	0,036	0,096
	n	6	6
Δ Nitrato	rho	-0,667	-0,634
	p	0,071	0,091
	n	8	8
Δ F _E NO	rho	0,000	-0,032
	p	1,000	0,940
	n	8	8
Δ CO	rho	-0,143	-0,317
	p	0,736	0,444
	n	8	8
Δ CVF	rho	-0,381	-0,609
	p	0,352	0,109
	n	8	8
Δ DEMI	rho	0,333	0,165
	p	0,420	0,696
	n	8	8
Δ FEV ₁ /CVF	rho	0,419	0,491
	p	0,301	0,216
	n	8	8
Δ F ₅₀	rho	0,096	0,313
	p	0,821	0,451
	n	8	8
Δ F ₂₅	rho	0,333	0,457
	p	0,420	0,255
	n	8	8
Δ DEM	rho	0,048	-0,101
	p	0,911	0,811
	n	8	8

*p < 0,05; **p < 0,001. Teste de Spearman.

MP-média ponderada

Quadro X - Correlações entre a diferença dos valores exalados de EBC e F_eNO na amostra do calçado e as variações espirométricas

Correlações entre a diferença dos valores exalados de EBC e F _e NO na amostra do calçado e as variações espirométricas								
		Δ FEV1	Δ CVF	Δ DEMI	Δ FEV ₁ /CVF	Δ F ₅₀	Δ F ₂₅	Δ DEM
Δ Arg	rho	-0,299	0,082	-0,424	-0,305	-0,396	-0,273	-0,369
	p	0,372	0,811	0,194	0,361	0,228	0,416	0,264
	n	11	11	11	11	11	11	11
Δ Orn	rho	-0,143	0,023	-0,082	0,077	-0,005	0,091	-0,068
	p	0,676	0,947	0,811	0,821	0,989	0,790	0,842
	n	11	11	11	11	11	11	11
Δ Prol	rho	-0,230	-0,059	-0,118	0,027	-0,105	0,050	-0,105
	p	0,496	0,863	0,729	0,936	0,759	0,884	0,759
	n	11	11	11	11	11	11	11
Δ 40Hprol	rho	-0,409	-0,802**	0,342	0,460	0,314	0,469	0,460
	p	0,211	0,003	0,304	0,154	0,346	0,145	0,154
	n	11	11	11	11	11	11	11
Δ Citr	rho	-0,625*	-0,296	-0,260	-0,182	-0,378	-0,114	-0,251
	p	0,040	0,377	0,441	0,592	0,252	0,739	0,457
	n	11	11	11	11	11	11	11
Δ Isoleu	rho	-0,382	-0,146	-0,036	0,005	-0,228	0,027	-0,191
	p	0,247	0,669	0,915	0,989	0,501	0,936	0,573
	n	11	11	11	11	11	11	11
Δ Leu	rho	-0,280	-0,118	-0,050	0,082	-0,036	0,137	-0,064
	p	0,403	0,729	0,884	0,811	0,915	0,689	0,852
	n	11	11	11	11	11	11	11
Δ Tyr	rho	0,166	0,260	-0,109	0,073	0,105	0,109	-0,059
	p	0,627	0,441	0,749	0,831	0,759	0,749	0,863
	n	11	11	11	11	11	11	11
Δ ADMA	rho	-0,138	-0,223	0,082	0,077	0,251	0,196	0,096
	p	0,686	0,509	0,811	0,821	0,457	0,564	0,780
	n	11	11	11	11	11	11	11
Δ SDMA	rho	0,152	-0,087	-0,059	0,182	0,433	0,437	0,351
	p	0,656	0,800	0,863	0,592	0,184	0,179	0,290
	n	11	11	11	11	11	11	11
Δ MDA	rho	0,110	0,180	-0,238	-0,095	-0,036	0,084	-0,060
	p	0,795	0,670	0,570	0,823	0,933	0,844	0,888
	n	8	8	8	8	8	8	8
Δ HNE	rho	0,135	0,275	-0,167	-0,143	-0,228	-0,108	-0,323
	p	0,750	0,509	0,693	0,736	0,588	0,799	0,435
	n	8	8	8	8	8	8	8
Δ 8-isoprostano	rho	-0,589	-0,749*	0,000	0,271	0,034	0,247	0,170
	p	0,095	0,020	1,000	0,480	0,931	0,522	0,661
	n	9	9	9	9	9	9	9
Δ Nitrato	rho	0,028	0,068	0,141	-0,301	-0,314	-0,369	-0,278
	p	0,936	0,842	0,679	0,369	0,346	0,264	0,408
	n	11	11	11	11	11	11	11
Δ F _e NO	rho	-0,333	0,000	-0,238	-0,256	-0,379	-0,217	-0,259
	p	0,316	1,000	0,481	0,447	0,251	0,521	0,442
	n	11	11	11	11	11	11	11

*p < 0,05; **p < 0,001. Teste de Spearman.

Quadro XI - Correlações entre os valores exalados na amostra da indústria de plásticos no início da semana de trabalho (EBC e F_ENO)

Correlações entre os valores exalados na amostra da indústria de plásticos no início da semana de trabalho (EBC e F _E NO)															
		Orn	Prol	4OHPro I	Citr	Isoleu	Leu	Tyr	ADMA	SDMA	8- isoprostano	Nitrato	MDA	HNE	F _E NO
<i>n</i> = 8															
Arg	rho	0,833*	0,381	0,571	0,810*	0,690	0,833*	0,571	-0,037	0,311	0,144	-0,143	0,381	0,494	-0,524
	<i>p</i>	0,010	0,352	0,139	0,015	0,058	0,010	0,139	0,931	0,453	0,734	0,736	0,352	0,213	0,183
Orn	rho		0,786*	0,167	0,833*	0,952**	0,929**	0,905**	-0,147	0,467	0,431	0,024	-0,048	0,241	-0,524
	<i>p</i>		0,021	0,693	0,010	0,000	0,001	0,002	0,728	0,243	0,286	0,955	0,911	0,565	0,183
Prol	rho			-0,071	0,548	0,905**	0,786*	0,952**	-0,331	0,635	0,683	0,167	-0,214	0,133	-0,095
	<i>p</i>			0,867	0,160	0,002	0,021	0,000	0,423	0,091	0,062	0,693	0,610	0,754	0,823
4OHProI	rho				0,238	0,071	0,357	-0,048	-0,307	0,311	-0,084	0,024	0,952**	0,759*	0,071
	<i>p</i>				0,570	0,867	0,385	0,911	0,460	0,453	0,844	0,955	0,000	0,029	0,867
Citr	rho					0,833*	0,762*	0,738*	-0,221	0,395	-0,012	-0,286	0,024	0,120	-0,476
	<i>p</i>					0,010	0,028	0,037	0,599	0,333	0,978	0,493	0,955	0,776	0,233
Isoleu	rho						0,905**	0,976**	-0,233	0,599	0,467	-0,024	-0,119	0,181	-0,381
	<i>p</i>						0,002	0,000	0,578	0,117	0,243	0,955	0,779	0,668	0,352
Leu	rho							0,881**	-0,160	0,467	0,575	0,024	0,167	0,506	-0,262
	<i>p</i>							0,004	0,706	0,243	0,136	0,955	0,693	0,201	0,531
Tyr	rho								-0,233	0,515	0,599	0,024	-0,238	0,120	-0,238
	<i>p</i>								0,578	0,192	0,117	0,955	0,570	0,776	0,570
ADMA	rho									-0,315	0,099	-0,503	-0,160	0,006	-0,258
	<i>p</i>									0,447	0,816	0,204	0,706	0,988	0,538
SDMA	rho										0,199	0,012	0,323	0,339	-0,216
	<i>p</i>										0,637	0,978	0,435	0,411	0,608
8-isoprostano	rho											0,192	-0,132	0,303	0,252
	<i>p</i>											0,649	0,756	0,466	0,548
Nitrato	rho												0,000	0,193	0,000
	<i>p</i>													0,647	1,000
MDA	rho													0,795*	0,119
	<i>p</i>													0,018	0,779
HNE	rho														0,024
	<i>p</i>														0,955

p* < 0,05; *p* < 0,001. Teste de Spearman.

Quadro XII - Correlações entre os valores exalados na amostra da indústria de plásticos no final da semana de trabalho (EBC e F_ENO)

Correlações entre os valores exalados na amostra da indústria de plásticos no final da semana de trabalho (EBC e F _E NO)															
		Orn	Prol	4OHProI	Citr	Isoleu	Leu	Tyr	ADMA	SDMA	8-isoprostano	Nitrato	MDA	HNE	F _E NO
n = 8															
Arg	rho	0,762*	0,857**	0,096	0,905**	0,786*	0,857**	0,667	0,711*	0,072	0,310	0,122	0,120	-0,119	-0,347
	p	0,028	0,007	0,820	0,002	0,021	0,007	0,071	0,048	0,865	0,456	0,774	0,776	0,779	0,399
Orn	rho		0,952**	-0,145	0,667	0,857**	0,952**	0,976**	0,337	-0,157	0,048	0,293	-0,470	-0,643	-0,036
	p		0,000	0,733	0,071	0,007	0,000	0,000	0,414	0,711	0,911	0,482	0,240	0,086	0,933
Prol	rho			-0,024	,810*	0,905**	1,000**	0,905**	0,374	-0,181	0,071	0,171	-0,253	-0,452	-0,048
	p			0,955	0,015	0,002	0,002	0,002	0,362	0,668	0,867	0,686	0,545	0,260	0,910
4OHProI	rho				0,434	-0,145	-0,024	-0,060	-0,171	-0,372	0,120	0,123	0,274	0,084	-0,006
	p				0,283	0,733	0,955	0,887	0,686	0,364	0,776	0,771	0,511	0,843	0,989
Citr	rho					0,690	0,810*	0,619	0,422	-0,241	0,262	0,073	0,169	-0,167	-0,132
	p					0,058	0,015	0,102	0,298	0,565	0,531	0,863	0,690	0,693	0,756
Isoleu	rho						0,905**	0,786*	0,470	-0,133	0,238	0,366	-0,349	-0,381	-0,084
	p						0,002	0,021	0,240	0,754	0,570	0,373	0,396	0,352	0,844
Leu	rho							0,905**	0,374	-0,181	0,071	0,171	-0,253	-0,452	-0,048
	p							0,002	0,362	0,668	0,867	0,686	0,545	0,260	0,910
Tyr	rho								0,229	-0,181	-0,095	0,390	-0,578	-0,762*	0,108
	p								0,586	0,668	0,823	0,339	0,133	0,028	0,799
ADMA	rho									0,665	0,313	0,309	0,183	0,205	-0,570
	p									0,072	0,450	0,457	0,665	0,627	0,140
SDMA	rho										-0,277	0,185	0,159	0,325	-0,267
	p										0,506	0,661	0,708	0,432	0,523
8-isoprostano	rho											-0,024	0,241	0,286	-0,719*
	p											0,954	0,565	0,493	0,045
Nitrato	rho												-0,691	-0,512	0,086
	p												0,058	0,194	0,840
MDA	rho													0,855**	-0,382
	p													0,007	0,351
HNE	rho														-0,503
	p														0,204

*p < 0,05; **p < 0,001. Teste de Spearman.

Quadro XIII - Correlações entre a diferença dos valores exalados de EBC, F_ENO, espirometria e os valores dos monitores individuais na indústria de plásticos

Correlações entre a diferença dos valores exalados de EBC, F _E NO, espirometria e os valores dos monitores individuais na indústria de plásticos			
		monit. COV - MP (ppm)	monit. COV - pico (ppm)
<i>n</i> = 8			
Δ Arg	rho	0,452	0,667
	<i>p</i>	0,260	0,071
Δ Orn	rho	-0,667	-0,524
	<i>p</i>	0,071	0,183
Δ Prol	rho	-0,76*	-0,71*
	<i>p</i>	0,028	0,047
Δ 4OHprol	rho	0,095	0,595
	<i>p</i>	0,823	0,120
Δ Citr	rho	-0,476	-0,357
	<i>p</i>	0,233	0,385
Δ Isoleu	rho	-0,595	-0,690
	<i>p</i>	0,120	0,058
Δ Leu	rho	-0,500	-0,524
	<i>p</i>	0,207	0,183
Δ Tyr	rho	-0,333	-0,310
	<i>p</i>	0,420	0,456
Δ ADMA	rho	-0,048	-0,143
	<i>p</i>	0,911	0,736
Δ SDMA	rho	0,452	0,548
	<i>p</i>	0,260	0,160
Δ MDA	rho	0,048	0,500
	<i>p</i>	0,911	0,207
ΔHNE	rho	0,548	0,500
	<i>p</i>	0,160	0,207
Δ 8-isoprostano	rho	0,071	-0,167
	<i>p</i>	0,867	0,693
Δ Nitrato	rho	-0,048	-0,143
	<i>p</i>	0,911	0,736
Δ F _E NO	rho	0,228	0,000
	<i>p</i>	0,588	1,000
Δ FEV ₁	rho	-0,331	0,196
	<i>p</i>	0,423	0,641
Δ CVF	rho	0,108	-0,181
	<i>p</i>	0,798	0,668
Δ DEMI	rho	0,143	0,310
	<i>p</i>	0,736	0,456
Δ FEV ₁ /CVF	rho	-0,331	0,196
	<i>p</i>	0,423	0,641
Δ F ₅₀	rho	0,524	0,738*
	<i>p</i>	0,183	0,037
Δ F ₂₅	rho	-0,357	0,071
	<i>p</i>	0,385	0,867
Δ DEM	rho	-0,167	0,381
	<i>p</i>	0,693	0,352

p* < 0,05; *p* < 0,001. Teste de Spearman.

MP-média ponderada

Quadro XIV - Correlações entre a diferença dos valores exalados de EBC e F_ENO na amostra de plásticos e as variações espirométricas

Correlações entre a diferença dos valores exalados de EBC e F _E NO na amostra de plásticos e as variações espirométricas								
		Δ FEV1	Δ CVF	Δ DEMI	Δ FEV ₁ /CVF	Δ F ₅₀	Δ F ₂₅	Δ DEM
n = 8								
Δ Arg	rho	-0,171	-0,422	-0,405	0,466	0,500	0,476	0,524
	p	0,686	0,298	0,320	0,244	0,207	0,233	0,183
Δ Orn	rho	-0,073	-0,325	-0,167	0,074	-0,643	0,095	-0,071
	p	0,863	0,432	0,693	0,862	0,086	0,823	0,867
Δ Prol	rho	0,122	0,072	-0,119	-0,135	-0,881**	0,071	-0,238
	p	0,774	0,865	0,779	0,750	0,004	0,867	0,570
Δ 4OHprol	rho	0,171	-0,337	0,357	0,712*	0,595	0,500	0,833*
	p	0,686	0,414	0,385	0,048	0,120	0,207	0,010
Δ Citr	rho	0,024	-0,157	-0,357	0,037	-0,690	0,238	-0,048
	p	0,954	0,711	0,385	0,931	0,058	0,570	0,911
Δ Isoleu	rho	-0,122	0,096	-0,143	-0,405	-0,952**	-0,190	-0,476
	p	0,774	0,820	0,736	0,319	0,000	0,651	0,233
Δ Leu	rho	-0,195	-0,181	-0,571	-0,110	-0,810*	0,095	-0,214
	p	0,643	0,668	0,139	0,795	0,015	0,823	0,610
Δ Tyr	rho	0,293	0,084	-0,190	-0,025	-0,524	0,143	-0,119
	p	0,482	0,843	0,651	0,954	0,183	0,736	0,779
Δ ADMA	rho	-0,537	-0,422	-0,357	0,049	0,167	-0,071	-0,048
	p	0,170	0,298	0,385	0,908	0,693	0,867	0,911
Δ SDMA	rho	0,390	0,277	0,714*	0,098	0,619	-0,095	0,238
	p	0,339	0,506	0,047	0,817	0,102	0,823	0,570
Δ MDA	rho	0,195	-0,277	0,571	0,663	0,714*	0,357	0,762*
	p	0,643	0,506	0,139	0,073	0,047	0,385	0,028
Δ HNE	rho	0,098	0,145	0,262	0,098	0,690	-0,095	0,214
	p	0,818	0,733	0,531	0,817	0,058	0,823	0,610
Δ 8-isoprostano	rho	0,049	0,361	-0,238	-0,135	0,048	-0,048	-0,095
	p	0,909	0,379	0,570	0,750	0,911	0,911	0,823
Δ Nitrato	rho	-0,073	-0,265	-0,667	0,319	0,238	0,262	0,167
	p	0,863	0,526	0,071	0,441	0,570	0,531	0,693
Δ F _E NO	rho	0,417	0,739*	-0,455	-0,296	-0,335	0,240	-0,204
	p	0,304	0,036	0,257	0,476	0,417	0,568	0,629

*p < 0,05; **p < 0,001. Teste de Spearman.

Imagens da Capa: imagem da esquerda – foto obtida durante os Ensaios de Campo da Gestosa em Maio de 2009 e usada sob autorização do autor, Dr. Pedro Gonçalo Ferreira (Centro de Pneumologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra); imagem da direita – modelo profissional – foto de Levent Konuk. Direitos de uso e copyright adquiridos a Shutterstock, Inc. em 2014.

O aspeto gráfico desta tese respeita as premissas de identidade visual definidas pela Universidade de Coimbra: <http://www.uc.pt/identidadevisual>.
