

RIBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas

SUMÁRIO

Importância da higiene dos alimentos na epidemiologia das helmintoses - ocorrência de ovos de helmintos em hortaliças	3
<i>Armando Castello Branco Jr.; Cláudia Maria Waib & Orlando C. de Oliveira Filho</i>	
<i>The importance of food hygiene in the helminth epidemiology - occurrence of helminth eggs on vegetables</i>	
Efeitos das associações de morina-ácido nicotínico e quercetina-ácido nicotínico no controle de lipídeos	5
<i>Santos, K. F. R.; Oliveira, T. T.; Nagem, T. J.; Pinto, A. S.; Oliveira, M. G. A. & Soares, J. F.</i>	
<i>Effects of the associations of morin-nicotinic acid and quercetin-nicotinic acid in the lipidic control</i>	
Incidência do Vírus Influenza A e B na população de Maceió-AL, Brasil	9
<i>Cruz, M. E. M.; Zaidan, A. M. E.; Rodrigues, M. M. L.; Sá, J. P. O.; Silva, N. M. & Oliveira, J. F.</i>	
<i>Incidence of Influenza A and B Viruses among the population of Maceió-AL, Brazil</i>	
Nova alternativa para a dosagem de HDL-colesterol	13
<i>Anelise Leuckert, Débora Verônica Lucena, Luciana Casagrande, Vanessa S. Mattevi & Joíza Lins Camargo</i>	
<i>A new alternative to measure HDL-cholesterol</i>	
Valores de referência das colinesterases em plasma e eritrócitos	17
<i>Siqueira, M. E. P. B.; Freitas, M. L. & Esteves, M. T. C.</i>	
<i>Reference values of plasma and erythrocyte cholinesterases</i>	
Avaliação do preventivo do câncer de colo de útero em laboratório com atendimento pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e laboratório com atendimento de convênios, na cidade de Florianópolis	21
<i>Haas, P.; Gonçalves, F.T.; Schlatter, H.E. & Ratchitzki, L.</i>	
<i>Evaluation of gynecological cancer in covenant and private assistance</i>	
Estudo da tricomoníase e a sua abordagem no diagnóstico colpocitológico	25
<i>Marcia Edilaine Lopes Consolaro, Linda Emiko Suzuki & Erusa Belo de Abreu Marques</i>	
<i>Trichomoniasis study and its relation with colpocitology diagnosis</i>	
Avaliação do kit Totaltest comparado com as técnicas de sedimentação espontânea, Rugai e Kato-Katz, no exame parasitológico de fezes	29
<i>Ana Célia Steffen Mangini, Celma Maria da Silva Quadros, Izilda Penha Rodrigues Zuba, Sandra da Cássia Ferreira, Luciane Dionísio Floriano, Lígia Maria Bozzoli & Domingas M.A.G. Vieira Torres</i>	
<i>Coprotest kit valuation in comparison with spontaneous sedimentation's technic, Rugai and Kato-Katz methods, in feces parasitological examination</i>	
Estudo do leucograma em pacientes com infecção do trato urinário	33
<i>Andréia Lazzarotto, Cláudia Regina dos Santos, Fabiana S. Knabben & Maria Cláudia S. da Silva</i>	
<i>Study of the leucocytes in patients with tract urinary infection</i>	
Diagnósticos citológicos cérvico-vaginais em laboratório de médio porte de Belo Horizonte - MG	37
<i>Berenice Maria Resende Lara, Paula Ávila Fernandes & Dairton Miranda</i>	
<i>Cervicovaginal cytologic diagnoses by medium-sized pathology laboratory in Belo Horizonte-MG</i>	
Parasitoses intestinais em uma amostra de escolares do povoado Santana dos Frades, Pacatuba-SE	41
<i>Adriana Leila Vieira Mello & Anna Klara Bohland</i>	
<i>Schoolchildren Intestinal parasitosis samples from village of Santana dos Frades, in Paracatuba-SE</i>	

1

“AVALIAÇÃO DO KIT TOTALTEST COMPARADO COM AS TÉCNICAS DE SEDIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA, RUGAI E KATO, NO EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES”

Ana Célia Steffen Mangini, Celma Maria da Silva Quadros, Izilda Penha Rodrigues Zuba, Sandra da Cássia Ferreira, Luciane Dionísio Floriano, Ligia Maria Bozzoli & Domingas M.A.G. Vieira Torres.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ – SEÇÃO DE ENTEROPARASIToses

RESUMO

Na tentativa de se buscar novos métodos diagnósticos aplicáveis em Laboratório de Saúde Pública que sejam práticos e eficientes, são lançados no mercado, vários kits para exames parasitológicos de fezes, voltados à melhoria da qualidade nos resultados. A Seção de Enteroparasitoses avaliou o kit TOTALTEST em 114 amostras de fezes, comparativamente aos métodos de sedimentação espontânea, Rugai e Kato-Katz, realizados rotineiramente em nosso laboratório. O laudo emitido sobre o referido kit evidenciou que ovos de *Trichuris trichiura*, por exemplo, não eram visualizados com a mesma frequência que na utilização dos métodos acima citados. Com o objetivo de se alcançar melhores resultados, foram efetuadas pequenas modificações na técnica preconizada pelo fabricante do TOTALTEST, e 128 amostras de fezes foram submetidas ao mesmo estudo comparativo. Os resultados obtidos após estas modificações, revelaram equivalência quanto à positividade de helmintos e protozoários entre os métodos rotineiramente utilizados em nosso laboratório e o kit testado. O TOTALTEST mostrou ser um kit prático e rápido, com economia de espaço físico, com redução de material reutilizado (lavagem de vidraria), garantindo também a conservação das amostras de fezes em formalina a facilitar sobremaneira a pesquisa de parasitas oportunistas. Os autores discutem as modificações realizadas no roteiro recomendado pelo fabricante do kit, que permitiram uma reprodutibilidade maior dos resultados em relação à rotina da Seção de Enteroparasitoses do Instituto Adolfo Lutz.

Unitermos: exame parasitológico de fezes, enteroparasitas.

SUMMARY

“COPROTEST KIT VALUATION IN COMPARISON WITH SPONTANEOUS SEDIMENTATION’S TECHNIC, RUGAI AND KATO METHODS IN PARASITOLOGICAL EXAMINATION OF FECES”

Trying to find new efficient and practical diagnostic methods in Public Health Laboratories, many kits for feces parasitological examination are introduced in the market in order to improve the quality of results. The Enteroparasitosis Department (Enteric Parasitic Diseases) evaluated the Coprotest Kit in 114 samples of feces comparing to the daily routine of spontaneous sedimentation practices, Rugai and Kato-Katz. The Coprotest kit report made clear but the *Trichuris trichiura* eggs, for example, were not assiduously visualized as in routine practices. To get better results, small changes were done in the Coprotest practices and 128 stool samples were exposed to the same comparison valuation. The results after the modification presented equivalence between Coprotest and the routine techniques in reference to helminthes and protozoa positively. The Coprotest showed to be a practical and rapid kit, taking less room, reducing the repeated use of material (glassworks washing) and standing the conservation of stool samples in formalin, making easy the research of opportunist parasites. The authors are considering the changes made in the manufacturer instructions, those allowed a better reproducibility of results reporting to the routine of Enteroparasitosis Department of Instituto Adolfo Lutz.

Keywords: feces parasitological examination, intestinal parasites.

INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, o método de sedimentação espontânea² tem sido eleito como o preferido em laboratórios de análises clínicas, na realização do exame parasitológico de fezes, por apresentar baixo custo e ampla abrangência no diagnóstico das parasitoses intestinais, ou seja, permite identificar tanto cistos de protozoários como ovos e larvas de helmintos. No entanto, a técnica da sedimentação espontânea apresenta falhas por se tratar de exame qualitativo, baseado na visualização microscópica dos parasitas e esta, depende do estado de concentração do sedimento examinado, da alíquota de fezes utilizada e da quantidade de detritos na lâmina, fatores estes que podem interferir na leitura.

A Seção de Enteroparasitoses, além do referido método, também emprega em sua rotina diária outras técnicas de identificação para enteroparasitas tais como Rugai⁶, Kato-Katz^{3,4}, exame direto e colorações especiais para parasitas oportunistas^{1,5}, para que o diagnóstico se torne seguro e mais completo.

Na tentativa de se buscar novos métodos diagnósticos aplicáveis em Laboratório de Saúde Pública que sejam práticos e eficientes, são lançados, no mercado, vários kits para exame parasitológico de fezes, voltados à melhoria da qualidade nos resultados.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o kit Totaltest comparativamente aos métodos utilizados rotineiramente em nosso laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Na primeira fase do estudo comparativo, 114 amostras de fezes foram submetidas aos métodos de sedimentação espontânea², Rugai⁶, Kato-Katz^{3,4} e processadas também através do kit Totaltest.

Para as técnicas rotineiras da Seção, foram utilizadas cerca de 2 a 4 g de fezes enquanto que para o Totaltest utilizou-se cerca de 1 g de fezes, seguindo orientação fornecida pelo manual do fabricante.

A preparação das técnicas e a leitura microscópica dos respectivos exames foram executadas sempre pelo mesmo laboratorista, com a finalidade de diminuir a margem de erros no estudo comparativo.

A segunda fase contou com 128 amostras de fezes que foram submetidas ao mesmo estudo comparativo, após pequenas modificações abaixo relacionadas, efetuadas na técnica preconizada pelo fabricante do Totaltest, com a finalidade de se alcançar melhores resultados no diagnóstico de enteroparasitas pelo kit em questão. As modificações foram necessárias pois observou-se que a leitura microscópica ficava prejudicada devido ao sedimento se encontrar muito espesso pela grande quantidade de resíduos, impossibilitando a visualização de ovos, larvas e cistos de parasitas.

1. A agitação dos tubos com acetato de etila foi feita manual e individualmente, ao contrário do manual que preconiza agitação em estante.
2. A centrifugação foi realizada a 1500 rpm, por 2 minutos, e não a 2000 rpm por 2 minutos.
3. A segunda centrifugação foi substituída por sedimentação espontânea, durante 1 hora ou mais.
4. Não houve necessidade de maiores diluições do sedimento com a sedimentação espontânea; em alguns casos, quando o sedimento se encontrava muito concentrado, acrescentou-se solução fisiológica.
5. A coleta do sedimento a ser colocado em lâmina foi através de pipeta e não por decantação do sobrenadante.
6. Procedeu-se à leitura de 3 lâminas por amostras de fezes, ao invés de leitura em lâmina única.

TABELA 1

COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS UTILIZADOS NA ROTINA DA SEÇÃO DE ENTEROPARASITÓSES DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ E TOTALTEST EM 114 AMOSTRAS DE FEZES

PARASITA	ROTINA GERAL Sedimentação espontânea, Kato, Rugai e direto		TOTALTEST	
<i>A. lumbricoides</i>	31	27,19	31	27,19
<i>T. trichiura</i>	49	42,98	28	24,56
<i>Ancylostomidae</i>	15	13,16	10	8,77
<i>S. mansoni</i>	7	6,14	6	5,26
<i>S. stercoralis</i>	18	15,79	15	13,16
<i>H. nana</i>	6	5,26	3	2,63
<i>E. vermicularis</i>	1	0,88	1	0,88
<i>G. lamblia</i>	14	12,28	15	13,16
<i>E. histolytica</i>	39	34,21	43	37,72
<i>E. coli</i>	33	28,95	34	29,82
<i>E. nana</i>	43	37,72	29	25,44
<i>B. mesnili</i>	2	1,75	1	0,88
<i>I. bütschilii</i>	5	4,39	4	3,51

Coincidentes: 41 amostras (35,96%)

TABELA 2

COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS UTILIZADOS NA ROTINA DA SEÇÃO DE ENTEROPARASITÓSES DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ E TOTALTEST (COM MODIFICAÇÕES) EM 128 AMOSTRAS DE FEZES

PARASITA	ROTINA IAL		TOTALTEST	
	Sedimentação, Kato, Rugai e direto		MODIFICADO	
POSITIVOS	120	93,75	108	84,37
<i>A. lumbricoides</i>	22	17,19	23	17,97
<i>T. trichiura</i>	29	22,65	23	17,97
<i>S. stercoralis</i>	8	6,25	5	3,91
<i>Ancylostomidae</i>	18	14,06	17	13,28
<i>S. mansoni</i>	2	1,56	3	2,34
<i>E. vermicularis</i>	3	2,34	2	1,56
<i>H. nana</i>	1	0,78	1	0,78
<i>Taenia sp.</i>	1	0,78	1	0,78
<i>G. lamblia</i>	20	15,62	23	17,97
<i>E. coli</i>	40	31,25	39	30,47
<i>E. histolytica</i>	35	27,34	41	32,03
<i>E. nana</i>	51	39,84	49	38,28
<i>I. bütschilii</i>	5	3,91	4	3,12
<i>B. hominis</i>	1	0,78	3	2,34

TABELA 2A

PARASITA	SEDIMENTAÇÃO		RUGAI		KATO		TOTALTEST MODIFICADO	
<i>A. lumbricoides</i>	12	9,37			21	16,41	23	17,97
<i>T. trichiura</i>	17	13,28			25	19,53	23	17,97
<i>S. stercoralis</i>	5	3,91	8	6,25			5	3,91
<i>Ancylostomidae</i>	8	6,25	1	0,78	18	14,06	17	13,28
<i>S. mansoni</i>	2	1,56			2	1,56	3	2,34
<i>E. vermicularis</i>					3	2,34	2	1,56
<i>H. nana</i>					1	0,78	1	0,78
<i>Taenia sp.</i>	1	0,78			1	0,78	1	0,78
<i>G. lamblia</i>	20	15,62					23	17,97
<i>E. coli</i>	40	31,25					39	30,47
<i>E. histolytica</i>	35	27,34					41	32,03
<i>E. nana</i>	51	39,84					49	38,28
<i>I. bütschilii</i>	5	3,91					4	3,13
<i>B. hominis</i>	1	0,78					3	2,34
Positivos	103	80,47	9	7,03	49	38,28	108	84,37

TABELA 3

COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS UTILIZADOS ROTINEIRAMENTE NO EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES NA SEÇÃO DE ENTEROPARASIToses DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ E TOTALTEST SEGUNDO PORCENTAGEM DE FALSONEGATIVIDADE OBTIDA PARA CADA PARASITA.

PARASITAS	ROTINA		TOTALTEST	
	1ª fase	2ª fase	1ª fase	2ª fase
<i>A. lumbricoides</i>	0,877	3,125	0,000	0,781
<i>T. trichiura</i>	0,000	5,469	20,175	3,125
<i>S. stercoralis</i>	2,632	0,000	5,263	2,344
<i>Ancylostomidae</i>	0,877	6,250	5,263	2,344
<i>S. mansoni</i>	1,754	0,781	2,632	0,000
<i>G. lamblia</i>	1,754	5,469	0,877	3,125
<i>E. histolytica</i>	9,649	14,063	7,895	9,375
<i>E. coli</i>	7,895	10,938	4,386	9,375
<i>E. nana</i>	0,877	13,281	13,158	13,281
	26,315	59,376	59,649	43,750

RESULTADOS E COMENTÁRIOS

A tabela 1 mostra os resultados da primeira fase deste estudo comparativo, onde se pode observar que a visualização de ovos de *Trichuris trichiura* foi significativamente menor quando da utilização do kit. Houve ligeiro aumento na quantidade de amostras diagnosticadas contendo protozoários através do Totaltest.

A tabela 2 e 2A sintetizam a comparação dos resultados após as modificações efetuadas, nas quais não foram observadas significativas diferenças entre os resultados fornecidos pela rotina da Seção (3 métodos), e pelo Totaltest. Após as modificações efetuadas na preparação do exame parasitológico de fezes pelo kit, pode-se observar uma sensível melhora nos resultados da leitura microscópica.

Os resultados não coincidentes entre as duas metodologias foram analisados e compilados em número de falso negativos para cada uma delas.

A análise estatística, onde se observa a porcentagem de falsa negatividade para cada parasita, em cada etapa comparada, pode ser visualizada na tabela 3. A modificação do Totaltest foi positiva como pode ser verificada pelo aumento de falsos negativos na rotina da 1ª para a 2ª fase e pela diminuição de falsos negativos da 1ª para a 2ª fase, quando se utilizou o Totaltest.

As modificações sugeridas na utilização de kit Totaltest são necessárias para a melhoria da qualidade dos exames realizados.

A utilização de métodos específicos simultâneos para a pesquisa de trofozoítas e larvas, devem estar associados ao Totaltest para maior cobertura nos resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DIAS, R. M. D. S.; MANGINI, A. C. S.; TORRES, D. M. A. G. V.; CORRÊA, M.O.A.; LUPETTI, N.; CORRÊA, F. M. A. & CHIEFFI, P.P. – Cryptosporidiosis among patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) in the county of São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, **30**: 310-312, 1988.
2. HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A. & JANER, J. L. – The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. **Puerto Rico J. publ. Hlth**, **9**: 281-298, 1934.
3. KATO, K. & MIURA, M. – Comparative examinations. **Jap. J. Parasit.**, **3**: 33, 1954.
4. KATZ, N.; COELHO, P. M. Z. & PELLEGRINO, J. – Evaluation of Kato's quantitative method through the recovery of *Schistosoma mansoni* eggs added to human feces. **J. Parasit.**, **56**: 1032-1033, 1970.
5. MANGINI, A. C. S.; DIAS, R. M. D. S.; GRISI, S. J. F. E.; ESCOBAR, A. M. U.; TORRES, D. M. A. G. V.; ZUBA, I. P. R.; QUADROS, C. M. S. & CHIEFFI, P. P. – Parasitismo por *Cryptosporidium sp.* em crianças com diarreia aguda. **Rev. Inst. Med. trop. São Paulo**, **34**: 341-345, 1992.
6. RUGAI, E.; MATTOS, T. & BRISOLA, A. P. – Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes – modificação do método de Baermann. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, **14**: 5-8, 1954.

AGRADECIMENTO

Agradecemos a colaboração para a análise estatística realizada pelo pesquisador científico Dr. José Leopoldo Ferreira Antunes, da Divisão de Serviços Básicos do Instituto Adolfo Lutz.

Avaliação do Preventivo do Câncer de Colo de Útero em Laboratório com atendimento pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e laboratório com atendimento de convênios, na cidade de Florianópolis.

*** Haas, P; ** Gonçalves,F.T; **Schlatter, H.E; ** Ratchitzki, L.**

Summary: making use requisitions employed in the gathering of data covering preventive examinations, next to Laboratory A (Private Affiliation Group Medicine) and Laboratory B (Government Consolidated Health System - SUS) covering the period from August 97 to December 31, 1997, the interest for this kind of examination was assessed. To that end, a relation was established as to age levels, use of hormones, date of last preventive examination, and classification. It was found the majority of patients from Lab A had ages between 21 and 34 years, and from Lab B between 21 and 27 years. Regarding the use of hormones, the percentage of patients seen at Lab A was 30,70%, and at Lab B 17,80%. Referring to previous examinations, the indexes found were 45,62% and 15,40% for Labs A and B, respectively. For the majority of previously conducted examinations, a prevalence of Class II Papanicolaou was seen to exist for the year of 1996 at both Laboratories.

Resumo: através das requisições utilizadas na coleta de dados referente aos exames preventivos, do laboratório com atendimento conveniado (laboratório A) e do laboratório com atendimento pelo SUS (laboratório B), no período de agosto de 1997 a trinta e um de dezembro de 1997, avaliou-se a procura por este tipo de exame relacionando com a faixa etária, uso hormonal, data do último preventivo e classificação. Constatamos que o maior número de pacientes do laboratório A encontrava-se na faixa etária de 21 a 34 anos, e o número de pacientes do laboratório B na faixa etária de 21 a 27 anos. Em relação ao uso hormonal a porcentagem de pacientes atendidos pelo laboratório A foi de 30,70% e das atendidas pelo laboratório B foi de 17,80%. Na realização do exame prévio, os índices encontrados foram de 45,62% e 15,40% no laboratório A e B respectivamente. Na maior parte dos exames realizados anteriormente, observou-se a prevalência da Classe II de Papanicolaou no ano de 1996 em ambos os laboratórios.

*** Professora de Citologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas -
Universidade Federal de Santa Catarina.**

**** Alunos do curso de Farmácia - Habilitação Análises Clínicas -
Universidade Federal de Santa Catarina.**

Introdução

Até 1940, o carcinoma da cérvix uterina, foi a causa principal de óbitos por neoplasias malignas nas mulheres norte-americanas, desde então ocorreu uma redução notável na mortalidade por câncer da cérvix, de tal modo que o carcinoma cervical ocupa agora o sexto lugar na mortalidade por câncer. Essa redução está associada com a acessibilidade do colo uterino à visualização direta e ao estudo celular e tecidual, levando ao reconhecimento de condições cervicais pré- malignas. Consequentemente estão sendo diagnosticadas a cada ano, muito mais lesões cervicais pré-invasivas que invasivas, (Copeland,1996).

O câncer de colo de útero representa uma das neoplasias malignas mais frequente na mulher brasileira. As evidências tem mostrado que a displasia e o carcinoma *in situ*, representam lesões precursoras do carcinoma invasivo cervical. Através do exame citológico da secreção cérvico-vaginal tem-se detectado alterações nucleares anormais precedendo o desenvolvimento do câncer cervical em pacientes assintomáticas. O exame citológico quando corretamente feito e rigorosamente interpretado, constitui uma grande arma que dispomos para a prevenção do câncer cervical uterino. Esse exame, pela sua simplicidade, relativo custo baixo, eficiência, validade e aceitação, tem merecido um grande apoio, não apenas por parte do profissional médico, como também, pela própria população.

O exame preventivo em massa, do câncer do colo do útero, tem sido realizado como método de rotina em muitos países. A diminuição da incidência, da mortalidade por câncer do colo do útero, traduzem a grande eficiência desse método planejado, (Chaves, 1986). A experiência internacional, tem demonstrado eficácia na detecção precoce através da citopatologia vaginal no controle desta neoplasia, (Aquino, 1985).

Estudos epidemiológicos detalhados, mostraram que fatores associados ao alto risco dessa malignidade incluem o casamento, a rotura do casamento, casamentos múltiplos, atividade sexual extramarital, atividade sexual pré-conjugal, idade precoce do primeiro casamento, idade precoce da primeira relação sexual, marido e mulher com múltiplos parceiros, antecedentes de prostituição, antecedentes de doenças venéreas, condições sócio-econômicas precárias, raça negra e residência urbana, (Copeland, 1996).

Através deste levantamento de dados,objetivamos demonstrar a incidência de casos de displasia cérvico vaginal na cidade de Florianópolis no período de primeiro de agosto à trinta e um de dezembro de 1997; avaliar se a rede pública é mais procurada para a realização deste exame, comparando com a rede conveniada de atendimento; uso hormonal das pacientes bem como se já haviam feito este exame anteriormente e qual a classificação que predominante em exames prévios.

Material e métodos

Este trabalho, refere-se a um estudo de diagnóstico do exame de prevenção de câncer de colo de útero, com base na avaliação de citologia cérvico vaginal, realizado pelos dois laboratórios de Anatomia Patológica por nós requisitados.

O estudo foi desenvolvido com base em requisições médicas obtidas dos dois laboratórios, sendo que um destes forneceu dados de pacientes atendidas por convênios, num total de 1837 casos, o qual denominamos de laboratório A, e outro de pacientes atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS), totalizando 663 casos, denominado de laboratório B.

O período referente à coleta destes dados, compreende o período de primeiro de agosto de 1997 a trinta e um de dezembro de 1997.

A revisão bibliográfica sobre carcinomas de colo uterino referente ao período de 1980 à 1997, foi realizada na Biblioteca do Hospital da Universidade Federal de Santa Catarina; Biblioteca do Centro de Pesquisas Oncológicas (CEPON); MEDLINE (96-97) e LILACS (80-97).

Resultados

Na distribuição dos casos por faixa etária das pacientes, obtivemos a informação de que no laboratório conveniado, a faixa predominante está entre 21 e 34 anos de idade, enquanto que no laboratório que atende o SUS está entre 21 e 27 anos de idade.

A porcentagem de pacientes atendidas pelo SUS que fazem uso hormonal é de 17,80% e do laboratório conveniado 30,70%.

Mulheres que realizarão exame prévio no laboratório A, apresentaram-se em 45,62% e no laboratório B 15,40%.

Observamos que a classe II de Papanicolaou chegou a 85,96% em pacientes com exames através de convênio e 85,56% das atendidas pelo SUS.

Para a distribuição dos exames prévios por ano das pacientes conveniadas o maior índice atingido foi no ano de 1996 com 52,46%, o mesmo ocorrendo com as pacientes do SUS, em 1996 com 48,35%.

Discussão

Na verificação do número de pacientes por faixa etária que fizeram o preventivo no período de agosto a trinta e um de dezembro de 1997, obtivemos uma variação de idade para os dois laboratórios avaliados. Pacientes que fizeram o preventivo por convênio, apresentaram o maior índice de faixa etária entre 21 e 34 anos (45,34%); e as que realizaram pelo SUS de 21 a 27 anos (21,57%). A faixa etária é mais extensa nas atendidas pelo convênio, onde provavelmente encontram-se pacientes que realizam este exame rotineiramente, devido ao acesso mais facilitado à informações da importância em realizar o preventivo anualmente; é importante ainda observar que em ambos os atendimentos a procura acontece cedo, por volta de 21 anos de idade, o que demonstra uma preocupação maior da mulher em relação à sua saúde, bem como pelo início cada vez mais cedo das atividades sexuais.

Para a análise do uso hormonal, os resultados encontrados foram de 17,80% das pacientes atendidas pelo SUS e 30,70% das atendidas pelo laboratório conveniado. Estes resultados surpreenderam, já que a expectativa era de um maior índice de uso hormonal, pois a maioria das pacientes não utilizavam nenhum método anticoncepcional ou apenas não mencionaram. Atribuímos estes dados ao fato de que atualmente, devido à grande disseminação de doenças sexualmente transmissíveis, as mulheres estejam optando pelo uso de preventivos, como a camisinha, já que este método é o mais divulgado pelas campanhas de saúde.

A importância de se realizar o preventivo anualmente, parece aos poucos, começar a fazer parte dos hábitos das mulheres. Observamos que 45,62% das pacientes do laboratório A, já haviam feito este exame antes, e que 15,40% das atendidas pelo laboratório B, fizeram pelo menos um preventivo anteriormente. A população mais carente, que provavelmente procura os serviços do SUS que insere na sua rotina cada vez mais o exame, tem comparecido com mais assiduidade a cada ano, o que nos leva a acreditar que teremos a cada ano números maiores desta população fazendo este exame.

O resultado do exame segundo a classificação de Papanicolaou, assemelhou-se, pois nos dois laboratórios, predominou a classe II, mas é necessário salientar, que no laboratório do SUS, a faixa etária das pacientes é de 21 a 27 anos (mulheres jovens) e que no laboratório que presta serviço conveniado, 45,62% das pacientes já haviam feito o exame anteriormente, ou seja, são mulheres que tem um acompanhamento médico anterior.

O ano de 1996, apresentou-se como o que mais exames preventivos de câncer uterino foram feitos, isto nos dois laboratórios. É possível que isto tenha ocorrido pelo conhecimento da população através da mídia, do alto número de óbitos anuais por este tipo de câncer, e como ele pode ser evitado ou tratado se diagnosticado precocemente.

Consideramos um número importante de displasia no período de cinco meses estudados, sendo que por mulheres atendidas por convênios habituadas a fazer este

exame com mais frequência, três casos de displasia leve, foram encontrados e um caso de displasia moderada, o que de certa forma aumenta as possibilidades de tratamento. Para as pacientes atendidas pelo laboratório que atende pelo SUS, quatro apresentaram displasia intensa; duas displasia moderada e duas pacientes com displasia leve. Este fator é concordante com o item anterior que revela um índice de 15,40% das pacientes atendidas pelo SUS, que fizeram exames anteriores, no qual poderia ser diagnosticadas estas displasias, em estágios iniciais.

Consideramos importante analisar um período mais longo nos laboratórios, bem como estender este levantamento a um número maior de laboratórios que prestam este serviço, para obtermos valores mais aproximados estatisticamente do valor real, na cidade de Florianópolis para apresentarmos estudos conclusivos. O laboratório que presta serviço para o SUS, também presta o mesmo serviço conveniado, no entanto entraram em nosso estudo, apenas os casos atendidos pelo SUS, o que representa em torno de 10% da rotina do mesmo laboratório.

Agradecimentos: Dr. José Caldeira Ferreira Bastos e ao Dr. Felipe M.M. Xavier.

Bibliografia

AQUINO, Estela Maria; **Situação atual da precoce do câncer cérvico-uterino no Brasil**; jan-fev, 1986, 2 (1):53-65.

BENSON, Ralfh C; **Diagnóstico e Tratamento em Obstetrícia e Ginecologia**; 2.ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1980.

BEREC, Jonathan S; **Oncologia Ginecológica**; Revinter LTDA, 1995.

CHAVES, Ely; **Prevenção do câncer do colo do útero: uma avaliação perspectiva**; Rev. Bras. Análises Clínicas, 1986,18 (2):56-62.

COPELAND, Larry J; **Tratado de ginecologia**; Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,1996.

HASSAN E; **Cervical cytology in adolescence**; Clin-exp-obstet-gynecol; jun.,1997; 24(1):28-30.

LUCA, Laurival A de; **Ginecologia: Semiologia Clínica e Laboratorial**; São Paulo: Sarvier, 1981.

MACKAY, Eric V; **Tratado de ginecologia Ilustrado**; Rio de Janeiro; Interamericano, 1985.

MURAD, André Márcio; KATZ, Artur; **Oncologia Bases Clínicas do Tratamento**; Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

ROCHA, Antônio F.G; MARSILLAC, Jaime B; **Cancerologia: Conceitos Atuais**; Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,1995.

STEDMAN; **Medical Dictionary**; editora Guanabara.

**DIAGNÓSTICOS CITOLÓGICOS CÉRVICO-VAGINAIS EM LABORATÓRIO
DE MÉDIO PORTE DE BELO HORIZONTE – MG ***

**CERVICOVAGINAL CYTOLOGIC DIAGNOSES FROM A MEDIUM-
SIZED PATHOLOGY LABORATORY IN BELO HORIZONTE-MG**

BERENICE MARIA RESENDE LARA ¹

PAULA ÁVILA FERNANDES ²

DAIRTON MIRANDA ³

* Trabalho realizado no Laboratório de Anatomia Patológica Dairton Miranda – Belo Horizonte – MG e na Disciplina de Citologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG.

- 1 Farmacêutica-Bioquímica, especialista em Citopatologia - Faculdade de Farmácia da UFMG e Laboratório Dairton Miranda.
- 2 Professora da Disciplina de Citologia Clínica - Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - Faculdade de Farmácia -UFMG.
- 3 Professor do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal - Faculdade de Medicina – UFMG e Diretor Clínico do Laboratório de Anatomia Patológica Dairton Miranda.

Endereço para correspondência: Profa. Paula A. Fernandes – Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Faculdade de Farmácia da UFMG.
Av. Olegário Maciel, 2360, Bairro Lourdes, Belo Horizonte, MG.
E-mail: paula@farmacia.ufmg.br

RESUMO: Foram avaliados os diagnósticos citológicos cérvico-vaginais de 5.000 exames consecutivos realizados no ano de 1993, em laboratório de médio porte de Belo Horizonte. A idade média das pacientes foi de 34 ± 12 anos e 75,20% dos esfregaços continham alterações celulares compatíveis com inflamação. As frequências dos agentes específicos, dos tipos de flora bacteriana vaginal, dos processos inflamatórios e das células displásicas nos esfregaços cérvico-vaginais foram estabelecidos. Verificou-se a correlação entre a presença de displasia e a representatividade da amostra segundo o critério proposto pela classificação de Bethesda, bem como a frequência das displasias em relação a diferentes faixas etárias. Foram identificados agentes específicos em 22,54% dos exames, sendo o diagnóstico de infecção por *Gardnerella vaginalis* e outros anaeróbios o mais frequente. O tipo de flora bacteriana mais frequentemente detectado foi a flora de padrão lactobacilar. A frequência das displasias e da infecção pelo HPV foi, respectivamente, 0,78% e 0,80%. Não foram identificados casos de carcinoma de células escamosas “in situ” e invasor. As lesões displásicas foram mais frequentes em pacientes com 21-40 anos, sendo diagnosticadas predominantemente (84,62%) em esfregaços que apresentavam células da junção escamo-colunar.

UNITERMOS: neoplasia intraepitelial cervical, diagnóstico, citologia cervical.

SUMMARY: The diagnoses of 5.000 consecutive smears from a medium-sized pathology laboratory were evaluated in Belo Horizonte, Brazil, during the year of 1993. The mean age of the patients was 34 ± 12 years and 75,20% of the smears showed inflammatory changes. The frequency of specific inflammatory agents, types of vaginal flora, inflammatory processes and different types of dysplasia were determined. The correlation between the presence of dysplasia and the satisfactory smears according the Bethesda System was analyzed. Specific agents were found in 22,54% of the cases. *Gardnerella vaginalis* and other anaerobic agents were most frequently encountered in this groups. The lactobacillary flora was the predominant microorganism detected in this work. The frequency of dysplasia and HPV infection was respectively 0,78 and 0,80%. No “in situ” or invasive carcinomas were detected. The cases of dysplasia were mainly diagnosed in the group between 21 and 40 years of age, specially (84,62%) when the smears contained cells from the ecto-endocervical junction.

UNITERMS: cervical intraepithelial neoplasia, diagnoses, cervical cytology.

INTRODUÇÃO

O exame periódico de Papanicolaou é reconhecido como um importante método na prevenção e diagnóstico precoce do câncer de colo uterino, bem como no diagnóstico das inflamações cérvico-vaginais, sendo de fácil execução e baixo custo.

No Brasil, as neoplasias malignas são responsáveis por 8,9% das mortes, sendo que no sexo feminino o câncer do colo do útero ocupa o 3º lugar entre as neoplasias. As neoplasias uterinas apresentaram sua maior taxa de óbito em Belém e menor em Belo Horizonte (CÂNCER..., 1991). Em 1994, VECANTO et al. descreveram esta afecção como responsável por 15% de todas as mortes por câncer em mulheres brasileiras acima de 15 anos. Destacaram também que nos últimos 40 anos tem sido observada diminuição da taxa de incidência e de mortalidade em até 70% nos países que intensificaram os programas de prevenção.

Na classificação de Bethesda, é destacada a importância da avaliação da representatividade da amostra em um esfregaço, de acordo com a presença ou ausência de células da junção escamo-colunar (JEC). A presença destas células em esfregaços cervicais corados pelo método de Papanicolaou tem sido considerada como fator essencial à confiabilidade do método, uma vez que a maioria das anormalidades epiteliais aparece nesta área. Portanto, são consideradas amostras limitadas ou insatisfatórias aquelas que não apresentam células da JEC (KOSS, 1990; SOLOMON, 1992).

São também de grande importância na citologia os processos inflamatórios do trato genital feminino, com ou sem infecção. O diagnóstico desses processos inflamatórios permite tratamento adequado dos mesmos. Alguns autores mostraram alta frequência de processos inflamatórios em exames citológicos, em grande parte com detecção de agentes específicos. MARQUES et al. (1988) demonstraram que 84% dos exames citológicos apresentavam processos inflamatórios, com definição do agente específico em 36% dos exames.

O objetivo deste trabalho consiste em avaliar a frequência dos diagnósticos citológicos cérvico-vaginais em 5.000 exames consecutivos, realizados em laboratório de médio porte da cidade de Belo Horizonte, referentes ao ano de 1993, além de correlacionar a presença de lesões displásicas/neoplasias intraepiteliais cervicais com a representatividade da amostra do esfregaço, segundo os critérios da classificação Bethesda.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram revistos 5.000 laudos citológicos cérvico-vaginais consecutivos, referentes ao período de janeiro a novembro de 1993. Os esfregaços dos referidos laudos foram fixados em álcool etílico 90% e corados pelo método de Papanicolaou, sendo observados pelo mesmo citologista. Os resultados dos laudos revistos foram lançados em protocolo (descrito abaixo), cuja elaboração foi feita de acordo com o padrão de laudo citológico rotineiramente utilizado pelo laboratório.

PROTOCOLO

1 n°

2 Idade da paciente:

3 Células da JEC: a- () ausente b- () presente

4 Alterações inflamatórias: a- () ausente b- () presente

5 Flora bacteriana: a- () mista - cocos e lactobacilos b- () lactobacilar

c- () cocos d- () bacilos curtos e- () não classificável f- () outras*

g- () anaeróbia, representada por *Gardnerella vaginalis* e outros morfotipos.

*Foram classificadas como “outras”, floras compostas por associação de microorganismos diferentes de cocos e lactobacilos.

6 Agentes específicos: a- () *Trichomonas vaginalis* b- () *Candida* sp

c- () *Chlamydia* sp d- () HPV e- () Herpes f- () *Leptothrix* sp

g- () *Gardnerella vaginalis* e outros h- () *Actinomyces* sp.

7 Displasias: a- () leve b- () moderada c- () acentuada d- () leve/HPV

e- () moderada/HPV f- () acentuada/HPV

8 Carcinoma de células escamosas: a- () “in situ” b- () invasor

9 Atipias de significado indeterminado em células glandulares:

() presente () ausente

10 Adenocarcinoma: () endocervical () endometrial

Para verificar a frequência de lesões displásicas em relação a diferentes grupos etários, foram criados quatro subgrupos divididos da seguinte forma: grupo A: pacientes com 13-20 anos; grupo B: pacientes com 21-40 anos; grupo C: pacientes com 41-60 anos e grupo D: pacientes com 61-90 anos. Os dados foram analisados através do programa EPI INFO, versão 6.02.

RESULTADOS

1 - Frequência dos diagnósticos citológicos cérvico-vaginais

Dos 5.000 laudos citológicos cérvico-vaginais revistos, verificou-se que a idade média das mulheres que realizaram o exame foi de 34 ± 12 anos. A idade mínima foi de 6 anos e a máxima de 90 anos. Considerando os diferentes subgrupos de idade das pacientes, verificou-se que 5,6% dos exames citológicos foram realizados em pacientes do grupo A, 65,2 % do grupo B, 24,4 % do grupo C e 4,8 % do grupo D.

A presença de agentes específicos foi constatada em 22,54% dos exames. Em alguns exames, mais de um agente específico foi identificado. A TAB. 1 mostra a frequência dos agentes específicos detectados nos exames citopatológicos. As seguintes associações foram observadas: *Candida* sp/*Gardnerella vaginalis* em 0,34% dos exames, HVP/*Gardnerella vaginalis* em 0,22%, *Trichomonas vaginalis*/*Gardnerella vaginalis* em 0,14%, *Trichomonas vaginalis*/*Leptothrix* sp em 0,04%, *Leptothrix* sp/*Gardnerella vaginalis* em 0,02% e *Chlamydia* sp/*Gardnerella vaginalis* em 0,02% dos exames.

Dos exames revistos, 75,20% continham alterações celulares compatíveis com inflamação, sendo que o restante (24,80%) apresentava padrão normal.

O tipo de flora bacteriana vaginal mais frequentemente detectado foi a de padrão lactobacilar (49,44%). A TAB. 2 registra a frequência dos diferentes tipos de flora bacteriana.

O diagnóstico de displasia, independente do grau, e se estava ou não associada à infecção pelo HPV, foi encontrado em 0,78% dos exames. Estas lesões estiveram associadas com HPV em 71,80% dos casos. A frequência das displasias nos esfregaços em relação as diferentes faixas etárias foi de 10,81% no grupo A, 81,08% no grupo B e 8,11% no grupo C. Nenhum caso de displasia foi diagnosticado no grupo D. A TAB. 3 mostra o número de casos de displasias encontrado em 5.000 exames citológicos.

Foram identificados 3 casos (0,06%) de alterações glandulares de significado indeterminado e um caso (0,02%) de adenocarcinoma endocervical.

Não foram identificados casos com alterações de carcinoma de células escamosas “in situ” e invasor.

2 - Lesões displásicas e representatividade da amostra do esfregaço

As células da junção escamo-colunar foram identificadas em 53,0% dos esfregaços (GRAF. 1). Dos 39 casos com displasias identificados nos 5.000 exames, 33 (84,62%) foram diagnosticados em esfregaços contendo células da junção escamo-colunar. Apenas 6 casos de displasias foram diagnosticados em esfregaços com amostra limitada quanto aos elementos da JEC (GRAF. 2). De forma semelhante, dos 40 casos de HPV identificados nos exames, 32 (80%) foram diagnosticados em esfregaços contendo células da JEC.

DISCUSSÃO

No presente trabalho foram revistos 5.000 laudos citopatológicos cujos exames foram realizados em laboratório localizado em Belo Horizonte, MG. A população em estudo foi atendida no laboratório em caráter particular ou através de convênio, sendo que no ano analisado (1993) havia predomínio de exames particulares, indicando uma clientela com melhor poder sócio-econômico. O número anual de exames realizados neste laboratório era variável, em torno de 9.000 exames/ano.

A idade média das pacientes foi de 34 ± 12 anos. Grande parte dos exames (65,2%) eram de pacientes do grupo B, com faixa etária entre 21-40 anos, representando provavelmente mulheres sexualmente ativas, com maior preocupação com o exame ginecológico preventivo.

A frequência de agentes específicos encontrada foi de 22,54%, um pouco inferior ao índice de 36,0% encontrado por MARQUES et al. (1988). A *Gardnerella vaginalis* e outros anaeróbios foram os agentes específicos mais freqüentemente encontrados, detectados em 14,14% dos casos, semelhante aos 13,6% relatado por AUDÍSIO & MORENO (1986) e 17,2% por ROCHA & CUNHA (1998).

Foi pequeno o número de casos com infecção pelo HPV (0,80%). No entanto, o índice foi semelhante ao descrito por MEILSELS et al. (1977). Segundo SCHNEIDER et al. (1987) a detecção citológica da infecção pelo HPV é baixa (20,0% dos casos). No presente trabalho, o tipo de população atendida no laboratório poderia, em parte, também explicar a baixa detecção citológica desta infecção. Sabe-se que o HPV desempenha papel importante no desenvolvimento do câncer de células escamosas do colo uterino e suas lesões precursoras. Neste estudo, o HPV esteve associado com displasia (independente do grau) em 71,80% dos casos, confirmando sua relação com o desenvolvimento das NIC. Além

disso, dentre os casos positivos para HPV, 80,0% dos esfregaços continham células da JEC, reforçando a importância destas células no diagnóstico deste vírus.

A *Chlamydia* sp é uma bactéria que não é frequentemente diagnosticada nos exames citológicos cervico-vaginais (BIBBO & WIED, 1992). Neste trabalho, o diagnóstico de *Chlamydia* sp foi feito em 0,44% dos casos. Este índice é semelhante ao encontrado por BIBBO & WIED (1992), BARBIERI & VELUDO (1983), MAEDA et al. (1987) e ROCHA & CUNHA (1998), que registraram a presença de *Chlamydia* sp em respectivamente 0,4%, 0,3%, 0,3% e 0,2% dos casos. O baixo índice de detecção se deve, provavelmente, à dificuldade do seu diagnóstico, já que algumas alterações celulares provocadas pela bactéria são semelhantes às alterações degenerativas, isto é, algumas células podem apresentar vacúolos degenerativos semelhantes àqueles contendo inclusão de *Chlamydia* sp. Outro fator importante é a ausência de células da JEC em alguns esfregaços, que são as células geralmente infectadas pelas *Chlamydia*.

O tipo de flora bacteriana mais frequente foi o de padrão lactobacilar (49,44%), estando este valor próximo ao encontrado por PETTINELLI et al. (1984), GUPTA (1991) e SCHNADIG et al. (1989), 50,53%, 50,0% e 46,00 %, respectivamente. A flora mista (cocos e lactobacilos) foi encontrada em 20,92% dos casos. Segundo diferentes autores, a frequência variou de 2,6% (AUDISIO & MORENO, 1986) a 37,0% (ROCHA & CUNHA, 1998). A flora bacteriana representada por cocos apresenta valores divergentes na literatura, variando de 1,13% (PETTINELLI et al., 1984) a 51,67% (CASSIA, 1981). O valor encontrado neste trabalho foi de 6,92%. É interessante destacar que a classificação da flora bacteriana vaginal pelo método de Papanicolaou não é tão confiável como pelo método de gram e cultura bacteriológica. Outro aspecto é a forma diferente de classificar a flora por diversos autores. A flora bacteriana vaginal normal, que é representada pelos lactobacilos, é classificada de maneira semelhante por todos autores, como lactobacilar ou bacilos de Doederlein. Observando os resultados deste trabalho e os da literatura pesquisada notou-se que seus valores são semelhantes, pois trata-se de uma flora que não gera dúvidas na classificação. Quando a flora é representada por bactérias diferentes dos lactobacilos, observa-se uma divergência na classificação entre os autores, levando também a uma discordância entre os resultados das frequências encontradas. Alguns autores classificam separadamente cocos, bacilos curtos e *Gardnerella vaginalis* (BIBBO & WIED, 1992; PETTINELLI et al., 1984; BACCHI et al., 1995), ao passo que outros classificam todas estas bactérias como anaeróbias (GIACOMINI, et al., 1989; SCHNADIG et al., 1989).

Talvez seja esta a explicação pelas divergências das freqüência entre diferentes autores e também neste trabalho.

A freqüência dos processos inflamatórios nos esfregaços cérvico-vaginais analisados foi alta (75,20%), como observado por MARQUES et al. (1988) e ROCHA & CUNHA (1998), que encontraram, respectivamente, 84,0% e 88,78% dos exames com padrão inflamatório.

A freqüência de lesões displásicas foi de 0,78%, semelhante ao descrito por outros autores (MEISELS et al., 1977; CHADID, 1985; ROCHA & CUNHA, 1998). Esta baixa freqüência poderia ser explicada no presente trabalho devido ao tipo de população atendida no laboratório em estudo, sendo esta lesão mais freqüente em pacientes carentes (VECANTO et al., 1994).

Ao analisar a associação da adequação da amostra nos esfregaços (segundo a classificação de Bethesda) com a presença de células displásicas, observa-se que 84,62% das lesões foram identificadas em esfregaços que apresentavam células da JEC. Estes dados indicam maior confiabilidade do diagnóstico de lesões pré-malignas em esfregaços com amostras adequadas. Segundo SOUSA et al. (1997), a freqüência de lesões displásicas e malignas em esfregaços com células da JEC foi maior que nos esfregaços que não continham tais células. Estes dados reforçam a importância da avaliação da representatividade da amostra em um esfregaço e seu registro no laudo citopatológico.

TABELA 1

Agentes específicos detectados em 5.000 exames citológicos cérvico-vaginais

AGENTES ESPECÍFICOS	FREQÜÊNCIA (%)
<i>Actinomyces</i> sp.	2 (0,04)
<i>Candida</i> sp.	345 (6,90)
<i>Chlamydia</i> sp.	22 (0,44)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	707 (14,14)
HPV	40 (0,80)
<i>Leptothrix</i> sp.	4 (0,08)
<i>Trichomonas vaginalis</i>	53 (1,06)
ausentes	3868 (77,36)

TABELA 2

Tipos de flora bacteriana vaginal em 5.000 exames citológicos cérvico-vaginais

FLORA BACTERIANA	FREQÜÊNCIA (%)
bacilos curtos	147 (2,94)
cocos	346 (6,92)
não classificável	212 (4,24)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	707 (14,14)
lactobacilar	2472 (49,44)
mista	1046 (20,92)
outras	70 (1,40)

TABELA 3

Lesões displásicas em 5.000 exames citológicos cérvico-vaginais

DISPLASIA	FREQÜÊNCIA (%)
displasia leve	27 (0,54)
displasia moderada	10 (0,20)
displasia acentuada	2 (0,04)
ausentes	4961 (99,22)

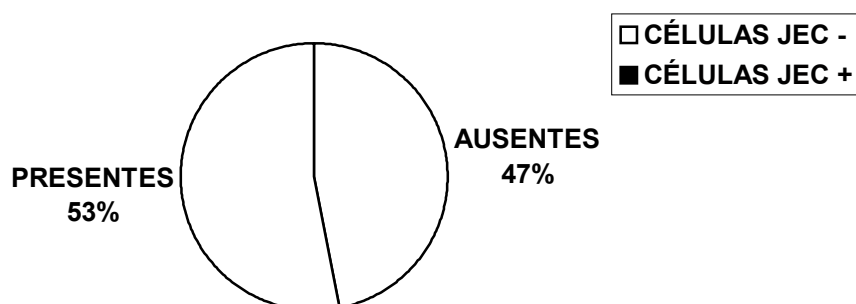
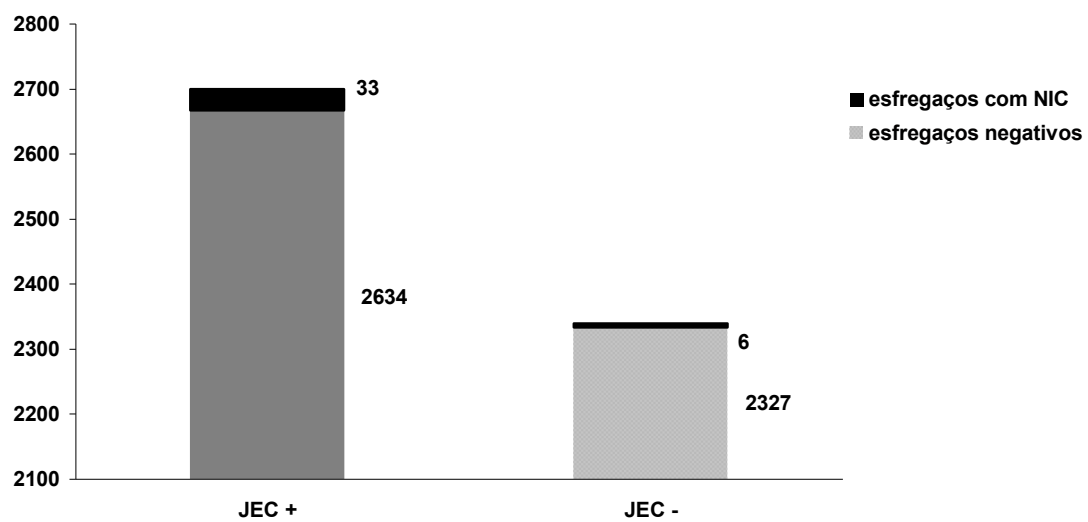
GRÁFICO 1**PROPORÇÃO DE ESFREGAÇOS COM CÉLULAS DA JEC**

GRÁFICO 2**NÚMERO DE CASOS COM DIAGNÓSTICO DE DISPLASIA SEGUNDO A ADEQUAÇÃO DA AMOSTRA**

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 AUDISIO, T., MORENO, J.M. Resultados citologicos en pacientes com extendidos inflamatorios. **Obstet. Ginecol. Latinoam.**, v.44, n.9/10, p.344-347, 1986.
- 2 BACCHI, C.E., ALMEIDA, P.C.C., FRANCO, M. **Manual de padronização de laudos histopatológicos**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia, 1995. p.307.
- 3 BARBIERI, C.M.T.A., VELLUDO, M.A.S.L. Investigação citológica de *Chlamydia trachomatis* em 1000 casos cérvicovaginais revistos. **Rev. Medicina (Rib. Preto)**, v.16, n.3/4, p.47-52, 1983.
- 4 BIBBO, M., WIED, G.L. Inflammatory reactions and microbiology of the female reproductive tract. In: WIED, G.L., KEEBLER, C.M., KOSS, L.G., PATTEN, S.F., ROSENTHAL, D.L. **Compendium on diagnostic cytology**. 2.ed. Chicago : Tutorials of Cytology, 1992. p.63-69.
- 5 CANCER, Mortalidade no Brasil. **Dados**, n. 15, p.1-20, jun. 1991.
- 6 CASSIA, L.R. Citologia inflamatória e os agentes patogênicos do aparelho genital feminino. **Hiléia Médica**, v.3, n.2, p.127-139, 1981.
- 7 CHADID, R.A. Interrogantes en la prospección de Papanicolaou. **Rev. Colomb. Obstet. Ginecol.**, v.36, n.1, p.34-38, 1985.
- 8 GIACOMINI, G., PAAVONEM, J., RILKE, F. Microbiologic classification of cervical flora in Papanicolaou smears. **Acta Cytol.**, v.33, n.2, p.276-278, 1989.

- 9 GUPTA, P.K. Microbiology, inflammation and viral infections. In: BIBBO M. **Comprehensive cytopathology**. Philadelphia : W. B. Saunders Company, 1991. Cap. 8, p.115-152.

- 10 KOSS, L.G. The new Bethesda System for reporting results of smears of the uterine cervix. **Acta Cytol.**, v.34, n.5, p.616-619, 1990.

- 11 MAEDA, M.Y.S., CAVALIERE, M.J., SHIH, L.W.S., YAMAMOTO, L.S.U. *Chlamydia trachomatis* em esfregaços cervicais: importância do método de Papanicolaou no rastreamento em grandes populações. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.47, n.1/2, p.45-50, 1987.

- 12 MARQUES, E.A., MACHADO, E.C., SILVA, C., OLIVEIRA, E.F.R. Avaliação da participação de microorganismos isolados de secreções genitais femininas nos processos inflamatórios. **Rev. Bras. Pat. Clín.**, v.24, n.3, p.83-88, 1988.

- 13 MEISELS, A., FORTIN, R., ROY, M. Condylomatous lesions of the cervix. Cytologic, colposcopic and histopathologic study. **Acta Cytol.**, v.21, n.3, p.379-390, 1977.

- 14 PETTINELLI, E., GRECO, M., ORTEGA, X., MORA, M., SAEZ, E. Analisis, classificacion microbiologica y valoracion de reacciones inflamatorias de 25.000 extendidos citologicos de cuello uterino. **Rev. Chil. Obstet. Ginecol.**, v.49, n.1, p.26-32, 1984.

- 15 ROCHA, F. J. S., CUNHA, G. M. A. Estudo retrospectivo da incidência de vulvovaginites, cervicites e neoplasias intra-epiteliais cervicais em mulheres atendidas pelo serviço de prevenção ao câncer ginecológico e de mama no Município de Aracati-CE. **Rev. Bras. Anal. Clin.** v.30, n.2, p.45-48, 1998.

- 16 SCHNADIG, V.J., DAVIE, K.D., SHAFER, S.K., YANDELL, R.B., ISLAM, M.Z., HANNIGAN, E.V. The cytologist and bacterioses of the vaginal-ectocervical area. **Acta Cytol.**, v.33, n.3, p.287-296, 1989.

- 17 SCHNEIDER, A., MEINHARDT, G., VILLIERS, E.M., GISSMANN, L. Sensitivity of cytologic diagnosis of cervical condyloma in comparison with HPV-DNA hybridization studies. **Diagn Cytopathol.**, v.3, n.3, p.250-255, 1987.
- 18 SOLOMON, D. Nomenclature for cervicovaginal cytology. In: WIED, G.L., KEEBLER, C.M., KOSS, L.G., PATTEN, S.F., ROSENTHAL, D.L. **Compendium on diagnostic cytology**. 2.ed. Chicago: Tutorials of Cytology, 1992. p.40-43.
- 19 SOUZA, F. S., MERÇON DE VARGAS, P. R., ANDRADE, V. P. Análise do valor diagnóstico do teste de Papanicolaou segundo a adequação do espécime (TSB 1988). **J. Bras. Patol.**, v.33, p.61, 1997.
- 20 VECANTO, E.J., AZAMBUJA, E., MARÇAL, J.M.B., MANENTE, M., SOARES, P.R.B. Prevenção do câncer de colo uterino. **Acta Med.**, v.15, p.361-369, 1994.

**EFEITOS DAS ASSOCIAÇÕES DE MORINA-ÁCIDO NICOTÍNICO E
QUERCETINA-ÁCIDO NICOTÍNICO NO CONTROLE DE LIPÍDEOS.**

**EFFECTS OF THE ASSOCIATIONS OF MORIN - NICOTINIC ACID AND
QUERCETIN - NICOTINIC ACID IN THE LIPIDIC CONTROL**

SANTOS, K. F. R.¹, OLIVEIRA, T. T.¹(*), NAGEM, T. J.², PINTO, A. S.³,
OLIVEIRA, M. G. A.¹, SOARES, J. F.⁴.

¹-Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. ²-Departamento de Química da Universidade Federal de Ouro Preto, 35400-000, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil. ³-Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. ⁴-Departamento de Matemática e Estatística da Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-000, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

RESUMO- A aterosclerose pode ser considerada uma doença na circulação coronariana. O presente trabalho estuda a ação da quercetina, morina, ácido nicotínico de maneira isolada e em associação envolvendo quercetina + ácido nicotínico e morina + ácido nicotínico no metabolismo lipídico. Foram dosados colesterol, colesterol-HDL e triacilglicerol após administração de duas doses dos compostos morina, quercetina, morina+ ácido nicotínico e quercetina+ ácido nicotínico sendo a primeira imediatamente após a administração do triton e a segunda dose, vinte horas depois. Decorridos quarenta e três horas após a administração do triton o sangue foi analisado. Os resultados mostraram que morina + ácido nicotínico e quercetina + ácido nicotínico apresentaram os melhores resultados para colesterol (-83,77% e 74,42%). Para colesterol-HDL os melhores resultados foram com morina e com a associação quercetina + ácido nicotínico ((+ 17,99% e + 21,96%). Morina + ácido nicotínico mostraram os melhores níveis para triacilgliceróis (-83,77%).

PALAVRAS CHAVE- Morina, quercetina, ácido nicotínico, ação hipolipidêmica, ratos

SUMMARY Atherosclerosis can be defined as being a disease of coronary circulation. The present work evaluates the action of the quercetin, morin, nicotinic acid, isolated and in association, involving quercetin + nicotinic acid and morin + nicotinic acid on the metabolism of lipids. Cholesterol, cholesterol HDL, and triacylglycerols have been dosed after retreat of blood, following the administration of the compounds dissolved in propylene glycol by intraperitoneal route in two doses of 5mg/kg to body weight, being the first immediately after triton's administration and the second twenty hours after. Elapsed forty three hours after triton's administration the blood were analyzed. Results evidence that morin + nicotinic acid and quercetin + nicotinic acid present the largest percentual reduction of cholesterol (-83,77% and 74,42%). On the other hand, the best results for cholesterol-HDL have been obtained with morin and with quercetin + nicotinic acid (+ 17,99% and + 21,96%), while morin + nicotinic acid has shown the best triacylglycerols levels(-83,77%).

KEY WORDS- Morin, quercetin, Nicotinic acid, Hypolipidemic action, Rats.

INTRODUÇÃO

Dados obtidos pelo Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia revelam que mais de 30% da população têm colesterol acima do nível considerado normal de até 200 mg/dL. O perigo representado pelos níveis de 200-239 mg/dL (riscos médios de doenças vasculares), e acima de 240 mg/dL (alto risco) é devido à aterosclerose, doença intimamente ligada à trombose que é um fenômeno relacionado com a injúria aos vasos sangüíneos (Ross, 1986).

As células do endotélio, ao liberarem fatores de crescimento, levam à proliferação de células do músculo liso que aumentam a aderência de monócitos, migração sub-endotelial, acúmulo de células do músculo liso provocando a formação da lesão aterosclerótica que causam infarto, aneurisma, gangrena, derrame cerebral.

Sabe-se que parte do colesterol circulante é produzido no fígado e que o restante vem da alimentação. Os lipídeos provenientes desta fonte são transformados em quilomicrons. Estes chegam ao fígado e se transformam em VLDL, LDL e HDL. O HDL percorre a circulação levando o colesterol em excesso de volta ao fígado. O LDL, por sua vez, transporta o colesterol para os tecidos. A lipoproteína(a) que se assemelha a plasminogênio está envolvida no processo de fibrinólise. Em níveis elevados o colesterol infiltra-se na parede das artérias e o LDL oxidado participa da formação do ateroma.

Os flavonóides podem inibir vários estágios destes processos que envolvem a iniciação da aterosclerose, como a ativação de leucócitos, adesão, agregação e secreção de plaquetas (Hladovec, 1986b), além de possuir atividades hipolipidêmicas(Lin et al, 1986).

Possuindo também efeitos protetores da oxidação colesterol-LDL, foi demonstrado “in vivo” que os flavonóides, agindo como antioxidantes impedem que o LDL oxidado danifique o endotélio.(Frankel et al, 1993.; Bellizi et al, 1994, Saija et al, 1994). Por outro lado trabalhos realizados “in vitro” com flavonóides sem açúcares em suas estruturas mostraram resultados como inibidores da oxidação de LDL.(De Whalley, 1990) .

Já o Ácido Nicotínico é um dos medicamentos utilizados no controle dos níveis de lipídeos no organismo. A sua atividade hipolipidêmica decorre da inibição, da mobilização dos ácidos graxos do tecido adiposo, inibição da lipólise do tecido adiposo, redução da

esterificação dos triacilgliceróis no fígado e aumento da atividade da lipase lipoproteica (Goodman & Gilman's, 1996)

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizados ratos machos da raça Wistar, provenientes do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Viçosa, com peso médio 200 ± 20 g, que receberam ração comercial Labina e água à vontade. Para o desenvolvimento adequado do ensaio, foram constituídos sete grupos experimentais, contendo, cada um oito animais, distribuídos ao acaso, que receberam os seguintes tratamentos:

Grupo 1 (Ração), Grupo 2 (Ração + Triton) Grupo 3 (Ração + Triton + Morina) Grupo 4 (Ração + Triton + Quercetina) Grupo 5 (Ração + Triton + Acido Nicotínico) Grupo 6 (Ração + Triton + Morina + Acido Nicotínico) Grupo 7 (Ração + Triton + Quercetina + Acido Nicotínico).

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com sete tratamentos em oito repetições.

Antes de iniciar os tratamentos, os animais foram submetidos a um período de adaptação de cinco dias, em gaiolas adequadas com controle de claro e escuro de doze horas.

Para induzir a hiperlipidemia, foi administrado Triton, por via intraperitoneal, na dose de 300 mg / Kg de peso corporal, dissolvido em solução fisiológica de NaCl à 0,9%. Imediatamente após a administração do Triton, quercetina, morina e ácido nicotínico foram administrados isoladamente e em associação envolvendo quercetina + ácido nicotínico e morina + ácido nicotínico, na dose de 5 mg/Kg de peso corporal, por via intraperitoneal dissolvidos em propilenoglicol. Decorridos 20 horas, repetiu-se estes tratamentos. Após 43 horas da aplicação de Triton, os ratos foram anestesiados com éter etílico por via inalatória e, por punção cardíaca, foram retiradas amostras de sangue. Estas foram centrifugadas à 7161,6 G por minutos, obtendo-se o soro para a dosagem de colesterol, colesterol-HDL, triacilgliceróis, utilizando-se métodos de Lima et al, 1985 e para as quantificações utilizou-se espectrofotômetro da marca Hitachi.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

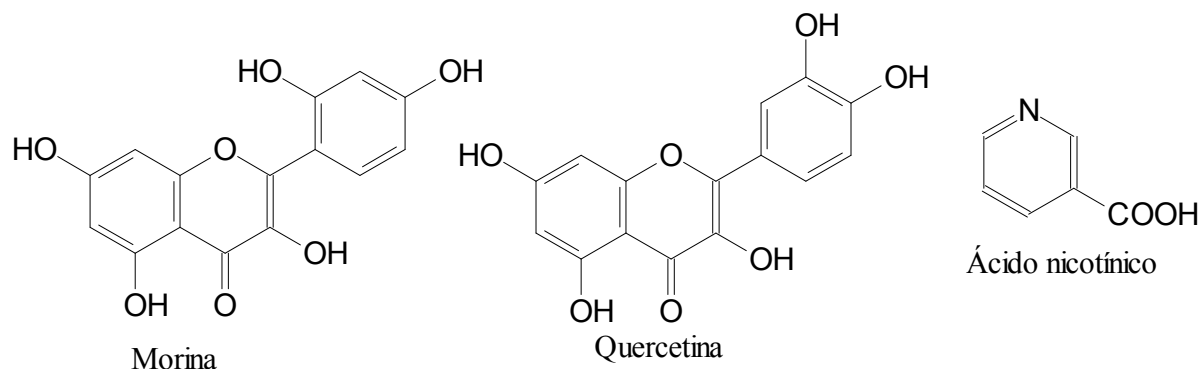


Figura 1- Fórmulas estruturais das substâncias utilizadas.

Os resultados obtidos para lipídeos em soro de ratos encontram-se nos Quadros 1, 2 e 3 expressos em mg/dL, com suas respectivas percentagens de variações.

Quadro 1 – Valores médios de colesterol ($\pm$ erro-padrão) de soro de ratos Wistar e suas respectivas percentagens de variação.

Grupos	Colesterol (mg/dL)	% de variação
Ração	26,60 $\pm$ 0,67	-
Ração + Triton	262,10 $\pm$ 0,58	-
Ração + Triton + Morina	71,52 $\pm$ 2,35 c	-72,71 *
Ração + Triton + Quercetina	83,18 $\pm$ 2,07 b	-68,26 *
Ração + Triton + Ácido Nicotínico	104,62 $\pm$ 2,28 a	-60,08 *
Ração + Triton + Morina + Ácido Nicotínico	60,58 $\pm$ 2,12 d	-76,89 *
Ração + Triton + Quercetina + Ácido Nicotínico	66,48 $\pm$ 1,68 cd	-74,64 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnet ($P < 0,05$).

Quadro 2 – Valores médios de Colesterol-HDL ($\pm$ erro-padrão) de soro de ratos Wistar e suas respectivas percentagens de variação.

Grupos	HDL (mg/dL)	% de variação
Ração	22,44 $\pm$ 0,72	-
Ração + Triton	64,49 $\pm$ 0,32	-
Ração + Triton + Morina	76,09 $\pm$ 2,50 ab	+17,99 *
Ração + Triton + Quercetina	61,47 $\pm$ 1,69 c	-4,68
Ração + Triton + Ácido Nicotínico	69,55 $\pm$ 1,80 b	+7,85
Ração + Triton + Morina + Ácido Nicotínico	71,66 $\pm$ 1,82 b	+11,12 *
Ração + Triton + Quercetina + Ácido Nicotínico	78,65 $\pm$ 1,82 a	+21,96 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnet ($P<0,05$).

Quadro 3 – Valores médios de triacilgliceróis ($\pm$ erro-padrão) em soro de ratos Wistar e suas respectivas percentagens de variação.

Grupos	Triacilgliceróis (mg/dL)	% de variação
Ração	162,30 $\pm$ 2,05	-
Ração + Triton	311,36 $\pm$ 3,03	-
Ração + Triton + Morina	93,15 $\pm$ 2,29 b	-70,08 *
Ração + Triton + Quercetina	97,52 $\pm$ 1,57 ab	-68,68 *
Ração + Triton + Ácido Nicotínico	104,56 $\pm$ 1,69 a	-66,42 *
Ração + Triton + Morina + Ácido Nicotínico	50,52 $\pm$ 1,69 d	-83,77 *
Ração + Triton + Quercetina + Ácido Nicotínico	79,65 $\pm$ 1,69 c	-74,42 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnet ($P<0,05$).

De acordo com os resultados do Quadro 1 pode-se observar que os tratamentos com Morina (Grupo 3), Morina + Ácido Nicotínico (Grupo 6), e Quercetina + Ácido Nicotínico (Grupo 7) foram os que mais reduziram os níveis de colesterol evidenciados pelo Teste de Tukey.

Análise estatística envolvendo o teste de Dunnet mostrou, no entanto, que Morina + Ácido Nicotínico (Grupo 6) foi o tratamento que provocou maior percentagem de redução do colesterol quando comparado ao Grupo 2.

Para os níveis de colesterol-HDL, (Quadro 2), os tratamentos com Morina (Grupo 3) e Quercetina + Ácido Nicotínico (Grupo 7) foram os que apresentaram os melhores níveis de colesterol-HDL pelo teste de Tukey.

Pelo teste de Dunnet pode-se observar que o tratamento com Quercetina + Ácido Nicotínico foi o que apresentou maior porcentagem de variação elevando o nível do colesterol-HDL. Isto é uma vantagem pois esta lipoproteína é responsável pelo transporte de colesterol dos tecidos periféricos para o fígado.

Para os níveis de triacilgliceróis (Quadro 3), observou-se que o melhor tratamento foi com Morina + Ácido Nicotínico (Grupo 6) evidenciado pelo Teste de Tukey pelo Teste e pelo de Dunnet, uma vez que este apresentou a maior percentagem de redução nos níveis de triacilgliceróis.

Gomes, (1998) mostrou que compostos flavonoídicos podem aumentar a atividade da lipase, enzima responsável pela hidrólise dos triacilgliceróis, sendo este um mecanismo de ação para explicar estas reduções. É também conhecido que ácido nicotínico pode, por sua vez, aumentar a atividade da lipase lipoprotéica, reduzindo também estes valores (Goodman's, 1996). A associação entre o flavonóide e o ácido nicotínico, potencializou, portanto, o efeito hipolipidêmico de cada uma das substâncias testadas isoladamente.

Diversos mecanismos de ação têm sido atribuídos aos flavonóides para explicar seus efeitos no metabolismo lipídico. Um destes envolve suas ações no aumento da excreção de sais biliares nas fezes, e o outro a capacidade de aumentar a atividade do sistema microsomal hepático consequentemente aumentando o metabolismo lipídico. (MacDonald, 1983).

Kirk et al, 1998, sugerem que o aumento da atividade dos receptores de LDL, provocada pelos flavonóides, seja um dos responsáveis pela redução dos níveis de colesterol.

Outro mecanismo de ação envolve a inibição da 5'-deiodinase que catalisa a bioativação de hormônio da tireóide T_4 em T_3 . (Figura-1).

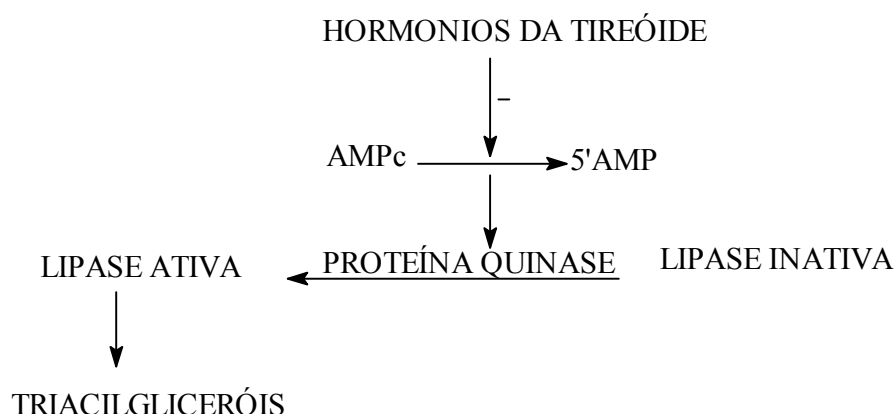


Figura 1- Efeito do hormônio da tireóide sobre o AMPc e sobre os triacilgliceróis.

Esta ação é extremamente importante pois a síntese aumentada do hormônio da tireóide poderia acarretar problemas. O AMP cíclico pode formar o 5'AMP em maiores quantidades. O hormônio da tireóide age impedindo a formação do 5'AMP. O AMP

cíclico atua, por sua vez, como modulador positivo sobre a proteína quinase. Esta enzima ativa a lipase e esta por sua vez hidrolisa os triacilgliceróis. (Korhle, 1985).

Uma das maiores ações de flavonóides estão relacionadas também à formação de ácidos graxos pela ação de Fosfolipase A₂, responsável pela hidrólise de fosfolipídeos presentes nas membranas celulares, com a liberação do ácido araquidônico. (Figura 2) . Lee et al, 1982, demonstraram que quercetina inibe esta enzima. Outros autores(Hope, 1983, Meyers, 1984) demonstraram também que alguns flavonóides podem inibir a ciclooxygenase e lipoxigenase, impedindo a formação das prostaglandinas e leucotrienos diminuindo com isto a formação de processos inflamatórios.

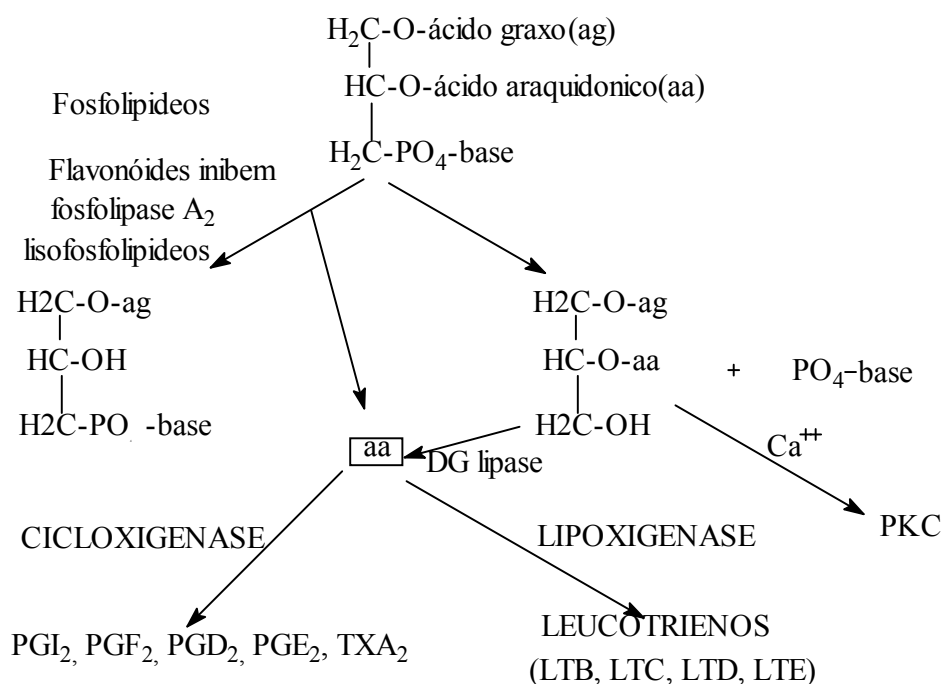


Figura-2: Modelo do metabolismo de fosfolipídeos e ácido araquidônico

Abreviações: PKC= proteína quinase; TXA₂= Tromboxano; PG= prostaglandinas; PGI= Prostaciclina

O ácido nicotínico, por sua vez, pode inibir a lipólise do tecido adiposo reduzindo a esterificação dos triacilgliceróis no fígado e aumentando a atividade da lipase lipoproteica. (Goodmans, 1996).

Pode-se concluir finalmente que para abaixar o nível de colesterol e colesterol-HDL simultâneamente o melhor tratamento deveria envolver Quercetina associada ao Ácido Nicotínico. Já para os triacilgliceróis, Morina associada com Acido Nicotínico deveria ser a mais útil, embora a associação Quercetina com Ácido Nicotínico também tenha apresentado uma excelente percentagem de redução(74,42%) .

Desta maneira o tratamento ministrado ao (Grupo 7) poderia ser escolhido uma vez que atende a todo os três parâmetros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

Bellizi, M. C.; Frankin, M. F.; Duthie, G. G.; & James, W. P. T. Vitamin E and coronary heart disease: the European paradox. *Eur. J. Clin. Nutr.* 48:, 822-831,1994.

De Whaley, C. V.; Rankin, S. M.; Hoult J. R. S.; Jessup, W. & Leake, D. S. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochem. Pharmacol.* 39, 1743-1750, 1990.

Frankel, E. N.; Kanner, J.; German, J. B.; Parks, E. & Kinsella, J. E. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substance in red Wine. *Lancet.*, 341: 454-457,1993.

Gomes, S. M. Thesis Magister Science, Universidade Federal de Viçosa, 1998.

Goodmans, J.G.; Gilman, A.G.; Limbird, L.E.; The pharmacological basis of therapeutics 9ª Ed. The McGraw-Hill Company, pp 1843, 1996.

Hladovec, J. The effect of antithrombotics in a new model of arterial thrombosis. *Thromb Res*, 41: 665-670, 1986b.

Hope, W.C.; Welton, A. F.;Fiedler-Nagy, C.; Batula, B.C. & Coffey, J.W.; In vitro: inhibition of the biosynthesis of slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) and lipoxigenase by quercetin. *Biochem. Pharm.* 32: 367, 1983.

Khorle, E.J.; Auf'mkolk, M.; Spanka, M.; Sonyi, G. & Hesch, R.D. Flavonoids inhibit enzymic thyroid hormone deiodination. In Farkas L. Gabor, M.; Kallay, F.; (Eds) *Flavonoids and bioflavonoids*, Budapest: Hungarian, *Acad. Sci.*; pp 411-421, 1985.

Kirk, E.A; Sutherland, P.; Wang, S. A. Chait, A. & Leboeuf, R.C. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL-receptor-deficient Mice.. *J. Nutr.* 128: 954-954, 1998.

Lee, T.P.; Matteliano, M.L. & Middleton, E. Jr. Effect of quercetin on human polymorphonuclear leukocyte lysosomal enzyme release and phospholip metabolism. *Life Sci.* 31: 2765-2774, 1982.

Lima, A. O. ; Soares, J.B.; Greco, J.B.; Gallizi, J.; Cançado, J.R. Métodos de Laboratório aplicados à Técnicas e Interpretação. 6^a Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1985.

Lin, B. B.; Chen, H. L. & Huang, P. C. Effects of instant Pu-erh Tea, Catechin, and Caffeine on serum cholesterol and serum low-density lipoprotein in mice. *Nutr. Rep. Int.* 34: 821-829, 1986.

Macdonald, I.A; Mader, J. A. & Bussard. The role of rutin and quercetin in stimulating flavonol glycosidase activity by cultured cell-free microbial preparation of human feces and saliva. *Mutation Research*, 122: 95-102, 1983.

Meyers, K.; Coffey, J.W.; Differential effects of cyclooxygenase and lipoxigenase on carrageenan pleurisy in the rat. *Fed. Proc.* 43: 388, 1984.

Ross, R. The pathogenesis of atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.* 314: 488-500, 1986.

Saija, A.; Scalese, M.; Lanza, M.; Marzullo, D.; Bonina, F. & Castelli, F.; Flavonoids as antioxidant agents. Importance of their interaction with biomembranes. *Free Radical Biology and Medicine*, 19, 481-486, 1995.

Viçosa, 05 de março de 1999

À
Editoria da Revista Brasileira de Análises Clínicas
Rua Vicente Licínio, 95
20270-340- Rio de Janeiro

Senhor Editor,

Temos a satisfação de enviar-lhe as informações solicitadas por V. Sa. sobre o artigo : “
Efeitos das associações de morina-ácido nicotínico e quercetina-ácido nicotínico no
controle de lipídeos” que está em fase de publicação nesta conceituada Revista,

Sem mais para o momento apresentamos- lhe, nossas,

Cordiais saudações,

Prof^a Tânia Toledo de Oliveira
Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da
Universidade Federal de Viçosa
Av. P.H. Rholps, s/n
36571-000- Viçosa- Minas Gerais
email para contacto tjnagem@bhnet.com.br

ESTUDO DA TRICOMONÍASE E A SUA ABORDAGEM NO DIAGNÓSTICO COLPOCITOLÓGICO

*Marcia Edilaine Lopes Consolaro

*Linda Emiko Suzuki

**Erusa Belo de Abreu Marques

Resumo: Apesar da doença não ser notificada mesmo nos Estados Unidos da América, a prevalência de infestação por Tricomonas é estimada em 5% da população feminina, o que representa em torno de 6 milhões de mulheres e seus parceiros infectados anualmente naquele país. No Brasil, pela falta de controle sanitário e de notificações, não se tem a dimensão de sua amplitude, por isso, a importância do seu estudo bem como da divulgação dessa patologia. Ressalta-se que no diagnóstico colpocitológico algumas das anomalias celulares causadas por esse parasita podem mimetizar processos pré-cancerosos, sendo portanto necessária análise criteriosa. O presente trabalho é um estudo de revisão bibliográfica bem como das características colpocitológicas da tricomoníase.

Palavras chave: Tricomoníase, Colpocitologia, Tricomonas

*Professoras da Disciplina de Citologia Clínica da Universidade Estadual de Maringá

*Professora Colaboradora de Citologia Clínica da Universidade Estadual de Maringá

Abstracts: Instead of the disease haven't been notified same in the United States of America, the prevail of infection by *Trichomonas* is estimated in 5% of female population, which represent about 6 millions of women and her partners infected yearly in that country. In Brazil, due to lack of sanitary control and few reports, we don't have data about its amount, that's why the importance of its study and divulgation of this pathology. Just out in colpocitologic diagnostic some of cell anomalies made by parasite can mimic pre-cancerous process, being therefore necessary criterious analysis. The present work is a study of bibliographic revision and colpocitologic skills of trichomoniasis.

Key words: Trichomoniasis, Colpocitology, *Trichomonas*

DESENVOLVIMENTO

_ O gênero *Trichomonas*

O gênero *Trichomonas* contém mais de 100 espécies. Porém, as espécies que tem interesse na patologia humana se restringem a duas, *T. tenax* e o *T. vaginalis*. Ambas as espécies são sítio específicas. O *T. tenax* é encontrado na cavidade oral de pacientes com inflamação peridontal, porém não acredita-se que seja o causador desta doença. *T. vaginalis* é um microrganismo sexualmente transmitido encontrado no trato geniturinário baixo de homens e mulheres, causando doença sintomática ou assintomática. Embora *T. vaginalis* tenha sido relatado em 1836, por aproximadamente 80 anos sua patogenicidade não foi apreciada. Somente recentemente é que seu requerimento metabólico e mecanismos de resistência a drogas tem sido estudado. O *Trichomonas hominis*, que é isolado do trato

gastrointestinal do homem, era considerado como pertencente ao gênero *Trichomonas*. Porém, é considerado atualmente como pertencente ao gênero *Pentatrichomonas*^{16,28,31}.

O microrganismo

T. vaginalis é um microrganismo unicelular, flagelado e anaeróbio. É geralmente maior do que as células brancas do sangue porém menor do que uma célula epitelial (tamanho médio de 10 x 7 Mm). Trata-se de um parasita extracelular com 4 flagelos anteriores que ajudam na locomoção do mesmo. O 5º flagelo está embebido no corpo e forma o fio externo da membrana ondulante. Uma característica do *T. vaginalis* é a presença de um aparelho parabasal, constituído de um corpo parabasal e possui uma fibrila parabasal com formato alongado. Possui o axóstilo, organela esquelética com microtúbulos extensos, que corre o comprimento inteiro do microrganismo, e também grânulos cromáticos ou hidrogenossomos localizados ao longo do axóstilo, costa e fibrila parabasal, que parecem estar envolvidos em seus processos metabólicos³¹.

O parasita é capaz de fagocitose e pode ingerir bactérias e eritrócitos; entretanto, materiais solúveis podem ser transportados através da sua membrana celular³⁰.

T. vaginalis tem um grande núcleo alongado com 5 cromossomos e cromatina constituída de grânulos pequenos ou finos uniformemente distribuídos no seu interior. Ele divide-se por fissão binária longitudinal. Seu citoplasma é rico em grânulos de glicogênio, existindo ribossomos aderidos a sua membrana, e contém frequentemente grandes vacúolos^{28,31}.

Habitat

O parasita existe somente na forma de trofozoíta e cresce em pH de 5,5-5,8 , sendo sua motilidade diminuída em pH menor que 4,9. É comumente encontrado ao nível de órgãos genitais inferiores das mulheres e ao nível de próstata e uretra nos homens ^{14,20,28,31}. Em 45% dos casos da infestação vaginal, o protozoário coloniza também a uretra, em 40% as glândulas de Skene's e em 20% nas glândulas de Bartholin ²⁸.

O pH vaginal em condições normais está em torno de 3,8 a 4,5 , sendo portanto não propício ao desenvolvimento deste parasita.

Bioquímica do parasita

T. vaginalis é considerado um protozoário anaeróbico; ele não contém citocromo nem mitocôndrias, e uma alta tensão de oxigênio lhe é prejudicial. Este flagelado é capaz de utilizar vários polissacarídeos, sendo porém essenciais os que contém o anel alfa-glicídico; a glicose é por ele utilizada para a produção de energia necessária ao metabolismo e multiplicação. O principal resultado da glicólise anaeróbia, o ácido láctico, é produzido em altas concentrações, pois comporta 40% dos ácidos totais. O *T. vaginalis* possui alto teor de glicogênio, que perfaz 17% do seu peso seco. Não possui clorofilas capazes de fixar CO₂, que fixa-se ao ácido láctico e não no citoplasma celular ²⁸.

Existem evidências de que o parasita sintetiza numerosas e distintas proteínas cisteínicas, sendo evidenciado “in vivo” proteinases solúveis nas secreções e antiproteinases no soro de pacientes com tricomoníase. Tais proteinases provavelmente tenham função na hospedagem do parasitismo e evasão imune 1. Sintetiza também uma proteinase de 30 Kda que possui alta especificidade para a

espectrina, sendo por isto tal proteinase apontada como principal efetor responsável pela ruptura do citoesqueleto das células por ele atacadas ¹².

Patogenicidade

Por muitos anos e até recentemente, muitos protozoologistas não admitiam papel patogênico ao *T vaginalis*. Embora os mecanismos pelo qual ele causa doença são pobremente conhecidos, após desenvolvimento de modernos métodos de cultura pura do parasita, bem como sua inoculação em mulheres sãs. Têm sido demonstrado que algumas pacientes não desenvolvem doença frente ao parasita, porém outras desenvolvem uma forma peculiar de vaginite, caracterizada por leucorréia intensa, edema, irritação e prurido vulvar ²⁸.

A infestação feminina por *T. vaginalis* parece estar associada a uma diminuição da acidez vaginal e dos lactobacilos produtores de ácido. Até a puberdade, o epitélio vaginal (pluriestratificado escamoso não queratinizado) é fino, constituído apenas de células parabasais, pois não existe níveis de estrógeno e progesterona para a proliferação e maturação deste epitélio. Tais células não contém quantidades apreciáveis de glicogênio, e a secreção vaginal é escassa e quase neutra, com flora bacteriana variada. A partir da puberdade elevam-se os níveis de estrógeno e progesterona, que passarão a causar proliferação e maturação celular respectivamente. O epitélio escamoso passa a ser constituído de células superficiais e intermediárias em casos normais, sendo que as intermediárias contém grande quantidade de glicogênio e a flora bacteriana passa a ser constituída de lactobacilos (Bacilos de Döderlein), que se nutrem do glicogênio das células escamosas intermediárias, produzindo quantidades elevadas de ácido láctico. Por esta razão o pH vaginal passa a ser de 3,8 a 4,5. Este pH ácido torna a vagina, após a puberdade, menos susceptível a infecções. O aumento do

pH vaginal e cervical logo antes e durante o período menstrual favorece o aparecimento do parasita. A flora bacteriana predominante em casos de tricomoníase é mista, normalmente com ausência de lactobacilos, e a acidez vaginal é diminuída ^{6,28}.

WIELD & KEAN (1956) sugeriram com seus experimentos que tecidos lesados podem funcionar como um importante fator de sobrevivência para o *T. vaginalis*.

Estudos histológicos da cérvice uterina durante a cervicite por *T. vaginalis* demonstram que ele pode atacar diretamente o epitélio escamoso e que este responde com exagerada vascularidade, seguida de papilite, edema, erosão de camadas superficiais e necrose. A denominada “cérvice em morango” corresponde a observação clínica da marcada distinção dos vasos sangüíneos superficiais e focos hemorrágicos cervicais como é visto no material histológico. Parece portanto haver um padrão vascular específico no epitélio escamoso da cérvice durante a infecção por Tricomonas ^{18,20}.

Estudos recentes têm demonstrado que:

- A vagina parece possuir ambiente redutor adequado para a ativação das proteinases cisteínicas do Tricomonas, fato este que auxilia na compreensão da resistência ou susceptibilidade para a infestação comumente relacionadas a mulheres jovens, e entre homens e mulheres sintomáticos ou não ¹.
- O processo patogênico do *T. vaginalis* envolve a degradação do esqueleto da membrana celular alvo. A espectrina, proteína mais representativa do esqueleto celular tem sido identificada como molécula alvo para tal degradação ¹².

A resposta imunológica do hospedeiro para o *T. vaginalis* é tanto humoral quanto celular, e ambos os leucócitos polimorfonucleares e macrófagos fagocitam o microrganismo ^{27,29}. Células brancas do sangue são atraídas para o epitélio lesado pelo

parasita através de ambos os fatores, quimiotaxia (movimento direcional) e quimiocinética (movimento não direcional)²⁵.

A reinfestação por *T. vaginalis* pode ocorrer, pois não há desenvolvimento de imunidade duradoura após a infestação aguda³¹.

Incidência

TRUSSEL(1947) estimou que 20 a 25% das mulheres adultas abrigam o parasita. WESTON & NICOL (1963) relatam que o período de incubação da infecção é de 4 a 28 dias. A razão é alta ao ponto de que se forem examinados homens 48 horas após o contato com o infectado, 70% deles abrigam o parasita. Em mulheres em idade reprodutiva, a infestação por *T. vaginalis* é a segunda causa de vaginite, sendo a primeira, vaginose bacteriana³¹.

Apesar de não ser uma doença notificada, é estimado que na população feminina dos Estados Unidos a prevalência da infestação é de 5% e no mínimo 6 milhões de mulheres e seus parceiros podem ser infectados anualmente por este patógeno³¹.

CHARLES (1988) descreve que a incidência da tricomoníase varia de 2% no setor privado para 56% no setor público. O pico de incidência está entre 16 e 35 anos, não ocorrendo variações sazonais, porém a doença é incomum nas mulheres pré-púberes e nas pós-menopausadas, devido a resistência do epitélio escamoso não queratinizado para o *T. vaginalis* nessas fases³¹.

Transmissão

É genericamente aceito que o homem carrega o parasita e que a infestação é transmitida por contato sexual^{15,20}. KEAN & WOLINSKA (1956) demonstraram que

o *Tricomonas* invade freqüentemente a uretra a qual passa a ser uma fonte de reinfeção e GARDNER et al. (1986) documentaram a presença do mesmo na próstata através de antisoros específicos. Desta forma, a promiscuidade deve exercer papel importante na transmissão do flagelado ²⁸.

A transmissão não sexual pode ser constatada cientificamente uma vez que o *T. vaginalis* é resistente no meio externo e conserva sua vitalidade e infecciosidade muito tempo após sua expulsão do organismo ²⁸. *T. vaginalis* tem sido encontrado após várias horas em água de vasos sanitários contaminada com urina e sêmen, e é documentada a sua sobrevivência em umidade de banheiros usados por mulheres infectadas ^{7,16}. Porém, segundo THOMASON et al. (1986), acredita-se que a transmissão não sexual do patógeno seja um evento raro.

Manifestações clínicas

A presença de *T. vaginalis* no trato genital de mulheres não é sinônimo de inflamação. Cerca de 10% das mulheres infectadas parecem não sofrer os efeitos da presença do parasita; entretanto, um processo inflamatório pode ocorrer em tais pacientes com relativa facilidade. A maioria das mulheres com alterações inflamatórias ao *Tricomonas* apresenta cura espontânea e livra-se dos sintomas em repetidas ocasiões ^{15,20}. A inflamação vaginal está associada a um corrimento ácido, profuso, espumoso, de cor esbranquiçada, amarelo creme ou amarelo esverdeado e aquoso com grumos. Esta leucorréia pode persistir durante meses e até anos. Menos do que 10% das pacientes tem eritema de vulva. Pode ocorrer também prurido vulvar, cistite, disúria, dispaurenia ou a combinação dos sintomas ^{28,31,36}.

Cerca de metade das mulheres infectadas apresentam o corrimento vaginal, sendo este o sintoma mais comum. Algumas pacientes podem apresentar desconforto

no baixo abdômen, mas o *T. vaginalis* não tem sido encontrado como causador de doença inflamatória pélvica ¹¹. Ambas as glândulas parauretrais e de Skene's são frequentemente infectadas quando o parasita é encontrado na vagina; linfadenopatia inguinal, entretanto, é incomum ³³.

T. vaginalis tem sido encontrado entre 5 a 10% dos homens com uretrite não gonocócica ²¹. A maioria dos homens com tricomoniase são assintomáticos, mas, descarga uretral, disúria, prurido ou ardência podem ocorrer principalmente logo após o contágio. Casos de prostatite, epididimite, uretrite ou balanopostite acontecem raramente. Porém, a próstata de homens com *Tricomonas* é infectada em até 40% dos casos ^{14,21}. Parece que o zinco encontrado em altas concentrações no líquido prostático normal funciona como antimicrobiano in vitro, sugerindo que este atue como inibidor do *T. vaginalis* no trato genital masculino ²².

A tricomoniase é bastante comum no decurso da gravidez, porém não foi estabelecido uma relação entre *T vaginalis* e parto prematuro ou retardo no crescimento intrauterino ¹³. Não foi também confirmado o aparecimento de infecções puerperais associados a presença de *T vaginalis* durante as últimas semanas de gravidez ²⁴.

Aproximadamente 5% dos neonatos podem adquirir *T. vaginalis* verticalmente de suas mães durante o parto. Na ocasião do parto, o epitélio escamoso da vagina das recém-natas sofre ação de hormônios da mãe e pode permitir a colonização do parasita; entretanto, este efeito hormonal desaparece entre 3 a 6 semanas após o parto, tornando o trato genital baixo relativamente resistente à invasão do parasita ^{2,3}. Segundo COTRAN et al.(1997), bebês infectados com *T. vaginalis* através do parto eliminam espontaneamente o parasita em algumas semanas.

Diagnóstico colpocitológico

Ao exame citológico, os Tricomonas em estado bem preservado aparecem como estruturas ovais, redondas, piriformes ou irregulares, medindo 10 a 25 μ de diâmetro. O tamanho do microrganismo não está ligado com a patogenicidade. O citoplasma toma uma matiz cianófila ou cinza-azul pálido com a coloração de Papanicolaou, apresentando grânulos citoplasmáticos vermelhos. Seu núcleo é excêntrico, de pequeno tamanho, pouco definido e se caracteriza por um aspecto finamente vesiculoso e pálido, de aparência degenerada, designado de núcleos “em olho de mongol” (Figura 1). Os flagelos são raramente conservados nos esfregaços citológicos, pouco observados e a sua detecção é possível apenas em objetiva de imersão. A identificação da estrutura nuclear é importante para a diagnose segura da infestação desde que muco, células metaplásicas degeneradas, neutrófilos, fragmentos citoplasmáticos e citólise podem mimetizar a aparência deste microrganismo^{6,15,20}.

O epitélio pluriestratificado escamoso não queratinizado responde à injúria causada pela presença do protozoário através de atipias citológicas que são particularmente notáveis neste caso. Algumas alterações no tamanho do núcleo, binucleação, aumento nuclear usualmente de 1,5 a 2,0 vezes o normal e principalmente picnose e cariorrexe nucleares podem ser observados em células escamosas intermediárias e parabasais^{6,15,20}.

Outros fenômenos associados a infestação por Tricomonas são: excessiva eosinofilia citoplasmática de células escamosas originalmente cianofílicas do tipo intermediário e parabasal, pequenos halos perinucleares bem definidos (Figura 1), excessiva citólise e marcado incremento na quantidade de células parabasais, especialmente em mulheres jovens, sugerindo uma falsa atrofia. Já na pós-menopausa,

a falsa eosinofilia e o incremento na quantidade de células parabasais podem sugerir erroneamente estimulação estrogênica ¹⁹. As alterações inflamatórias acentuadas em esfregaço atrófico podem mimetizar lesões pré-cancerosas ⁴. Todas as anormalidades referidas sugerem diagnose de infestação por *Tricomonas* por um observador experiente. Porém, a identificação do parasita é crucial para a emissão de um diagnóstico seguro ²⁰.

Comumente são encontrados em associação com a infestação por *T. vaginalis* microrganismos anaeróbios, filamentosos, não ramificados, muito longos, Gram negativos do tipo *Leptothrix vaginalis*. Estes lembram lactobacilos bastante longos, sendo classificados como Trichobactérias e tratando-se de um saprófita da vagina, ou seja, não leva a alterações citológicas ^{5,9,15,20,26}.

Considerações Finais

A despeito do grande interesse inicial da possibilidade dos pacientes com fenômeno inflamatório devido a tricomoníase serem mais aptas ao desenvolvimento do câncer cérvico-uterino em relação as demais mulheres, não existem evidências de que tal infestação esteja relacionada com a etiologia da neoplasia cervical ^{6,19,20}. Entretanto, deve ser enfatizado que pacientes em algumas das fases de câncer cérvico-uterino, incluindo o carcinoma “in situ”, tem uma maior incidência de infestação por *Tricomonas* do que a população normal, que pode ser justificada pelo fato de que a injúria das lesões pré-neoplásicas ou neoplásicas favorece o crescimento do parasita, tornando possível que a tricomoníase e lesões pré-cancerosas possam evidentemente coexistir. O processo de carcinogênese do colo uterino não depende da presença ou

ausência de *Trichomonas*, fato esse demonstrado em estudos detalhados já realizados^{6,15,19,20}.

Nos casos em que as alterações nucleares associadas a infestação por *Trichomonas* são mais severas, a distinção com lesões intraepiteliais pode ser mais difícil e pode ser apropriado classificá-las como células escamosas de significado indeterminado. Nestes casos, deve ser indicado um exame citológico após o tratamento da infestação, isto porque as alterações inflamatórias associadas as tricomoníase reverterem ao normal com a resolução do processo inflamatório^{6,23}.

Referências Bibliográficas

1. **Alderete,J.F.; Provenzano,D.** The vagina has reducing environment sufficient for activation of *Trichomonas vaginalis* cysteine proteinases. *Genitur Med* 73(4): 291-6,1997.
2. **Al Salihi, F.L.; Curran,J.P. & Wang,J.S.** Neonatal *Trichomonas vaginalis*: report of three cases and review of the literature. *Pediatrics* 53:169-200,1974.
3. **Bramley,M.** Study of female babies of women entering confinement with vaginal trichomoniasis. *Brit. J. Vener Dis* 52:58-62,1976.
4. **Bechtold,E. & Reicher,N.B.** Relationship of *Trichomonas* infestations to false diagnoses of squamous carcinoma of cervix. *Cancer* 5:442-457,1952.
5. **Bibbo, M. & Wied,G.L.** *Microbiology and inflammation of the female genital tract*. In: Compendium on diagnostic cytology. 6ªed. Chicago, Tutorials of Cytology,1988; p.54-62.
6. **Bonfiglio,T.A. & Erozan,Y.S.** *Gynecologic cytopathology*. Philadelphia, Lippincott-Raven,1997; p.24-26, 36.

7. **Burch,T.A.; Ries,C.W. & Reardon,L.V.** Epidemiological studies on human trichomoniasis. *Am Trop Med Hyg* 8: 312-18, 1959.
8. **Charles,D.** *Sexually transmitted diseases*. In: Infeccions in obstetric and gynecology. Philadelphia, WB Saunders, 1980.
9. **Consolaro,M.E.L. & Suzuki, L.E.** Bactérias do trato genital feminino detectadas pela colpocitologia. *Arq Ciên Saúde UNIPAR*,1998. In press.
- 10.**Cotran,R.S.; Kumar,V.; Robbins,S.L. & Schoen,F.J.** *Robbins- Patologia estrutural e funcional*. 5ªed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1997; p.310-311.
- 11.**Eschenbach,D.A.** Polymicrobial etiology of acute pelvic inflammatory disease. *N Engl J Med* 293:166-71,1975.
- 12.**Fiori,P.L.; Rappelli,P.; Addis,M.F.; Mannu,F. & Cappuccinelli,P.** Contact-dependent disruption of the host cell membrane skeleton induced by *Trichomonas vaginalis*. *Infect immun* 65(12):5142-8,1997.
- 13.**Frost,J.K.** *Trichomonas vaginalis* and cervical epithelial changes. *Ann NY Acd Sci* 97:792-99,1962.
- 14.**Gardner,W.A.; Culberson,D.E. & Bennett,B.D.** *Trichomonas vaginalis* in the prostate gland. *Arch Pathol Lab Med* 110:430-32,1986.
- 15.**Gompel,C. & Koss,L.G.** *Citologia ginecológica e suas bases anatomoclínicas*. São Paulo, Manole, 1997; p. 71-72.
- 16.**Jirovic,O. & Petru,M.** *Trichomonas vaginalis* e trichomoniasis. *Av Parasitol* 6:117-88,1968.
- 17.**Kean,B.H. & Wolinska,W.H.** Urethral trichomoniasis: cytologic study. *Am J Pathol* 26: 1142-1144,1956.
- 18.**Kolstad,P.** The colposcopic picture of *Trichomonas* vaginitis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 43: 388-398,1964.

19. **Koss, L.G. & Wolinska W.H.** *Trichomonas vaginalis* cervicitis and its relationships. *Cancer* 12: 1171, 1959.
20. **Koss, L.G.** *Diagnostic cytology and its histopathologic bases*. 4^aed. Philadelphia, Lippincott-^aed. Philadelphia, Lippincott-aven, V.1, 1992; p.345-347.
21. **Krieger, J.N.** Urologic aspects of trichomoniasis. *Invet Urol* 18:411-417, 1981.
22. **Krieger, J.N. & Rein, M.R.** Zinc sensibility of *T. vaginalis*: in vitro studies and clinical implications. *J Infect Dis* 146: 341-345, 1982.
23. **Kurman, R.J. & Solomon, D.** *O Sistema Bethesda para o relato de diagnóstico citológico cérvico-vaginal*. Rio de Janeiro, Revinter, 1997.
24. **Masson, P.R. & Brown, I.M.** Trichomonas in pregnancy. *Lancet*: 1025-1026, 1980.
25. **Masson, P. R. & Forman, L.** Polymorphonuclear cell chemotaxis to secretions of pathogenic and nonpathogenic *T. vaginalis*. *J Parasitol* 68: 457- 462, 1982.
26. **Mc kee, G.T.** *Citopatologia*. São Paulo, Artes Médicas, 1997; p.434.
27. **Montovani, A.** Cytotoxicity of human peripheral blood monocytes against *T. vaginalis*. *Clin Exp Immunol* 46: 391-396, 1981.
28. **Pessôa, S.B. & Martins, A .V.** *Pessôa Parasitologia Médica*. 11^a.ed Rio de Janeiro, Guanabara koogan, 1982; p.48-53.
29. **Rein, M.F.; Sullivan, J. A .& Mandell, G.L.** Trichomonocidal activity of human polymorphonuclear neutrophils: killing by disruption na fragmentation. *J Infect Dis* 142:575-585, 1980.
30. **Street, D.A .** Interaction between *T. vaginalis* and other pathogenic micro-organisms of the human genital tract. *Br J Vener. Dis.* 60: 31-38, 1984.
31. **Thomason, J.L.; Wilcoski, L.M. & McLaughlin, C.A .** *Trichomoniasis*. *Clin Microb Newsletter* 8(2): 9-16, 1986.

32. **Trussel, R.E.** *Trichomonas vaginalis* and trichomoniasis. Springfield, Charles C. Thomas, 1947.
33. **Wallin, J.E.** Urethritis in women attending on STD clinic. *BR J Vener Dis* 57:50-54, 1981.
34. **Wield, J.T. & Kean, B.H.** Experimental ocular trichomoniasis: pathologic observations. *Am J Pathol*, 32: 1135-1145, 1956.
35. **Weston, T.E.T. & Nicol, C.S.** Natural history of trichomonal infection in males. *Brit J Vener Dis*, 251-257, 1963.
36. **Wisdon, A .R. & Dunlop, E.M.C.** Trichomoniasis: study of the disease its treatment in women and men. *Br J Vener Dis* 41:90-96, 1965.

Endereço para correspondência

Universidade Estadual de Maringá

Departamento de Análises Clínicas- Setor de Citologia Clínica

Av. Colombo 5179, CEP , Maringá-Pr.

Figura 1. Alterações patognomônicas da tricomoníase e *Trichomonas* em esfregaços cérvico-vaginais corados por Papanicolaou. a) Halos perinucleares, leucocitose e *Trichomonas* (seta). b) *Trichomonas*, halos perinucleares, leucocitose e fundo de esfregaço sujo. c e d) *Trichomonas*, leucocitose e fundo de esfregaço sujo.

ESTUDO DO LEUCOGRAMA EM PACIENTES COM INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO

STUDY OF THE LEUCOCYTES IN PATIENTS WITH INFECCION TRATO URINARY

Andréia Lazzarotto, Claudia Regina dos Santos*, Fabiana S. Knabben* &
Maria Claudia S. da Silva***

RESUMO

Foram estudados os leucogramas de 78 pacientes atendidos no Laboratório Médico Ciência no Hospital Infantil Joana de Gusmão, de Florianópolis, no período de 01/01/1997 até 01/09/1997 com diagnóstico de Infecção do Trato Urinário (ITU), apresentando o estudo, uma correlação entre a alteração no leucograma com infecção urinária.

Todos os pacientes foram submetidos à exames de parcial de urina, urocultura e leucograma considerando apenas os que apresentaram cultura positiva.

Observou-se que a maioria dos pacientes acometidos por ITU apresentavam leucocitose, neutrofilia e desvio à esquerda, já as granulações tóxicas não foram normalmente encontradas.

Os resultados ainda demonstraram que há relação entre o aumento da leucocitúria e o aumento na leucometria, porém isso não ocorre de maneira proporcional.

Também não houve relação proporcional entre o aumento do número de UFC e da leucocitose. Os agentes mais frequentemente encontrados foram a *E. coli* e o *Proteus sp* porém não pode-se afirmar quais os que causam maiores alterações na leucometria.

Palavras chaves: Infecção do trato urinário (ITU), leucócitos

* Acadêmicas do curso de Farmácia - Análises Clínicas da Universidade Federal de Santa Catarina

** Professora do Departamento de Análises Clínicas da Universidade Federal de Santa Catarina

Summary

From January to September 1997, the morphologic and counting leucocytes of 78 patients who had urinary tract infection (ITU) diagnostic, attended to at "Laboratório Médico Ciência" Joana de Gusmão children hospital, Florianópolis - SC - Brazil; were analyzed. This study showed the relationship between disorders leucocytes counting and tract urinary infection.

All the sample patients were submitted to na examination of urinary sediment, urine culture and leucocytes examination. This study considered only patients that (have) had a positive urine culture exam.

It was observed that the majority of these patients presented leukocytosis, neutrophilia, and neutrophil precursors, but toxic granulation wasn't found. The results demonstrated that there was a relationship between the increase of leukocyturia and leukocytosis, but not in a proportional manner.

There was not a proportional relation among the increase of the colony-forming units (CUF) number and leukocytosis. The most found agents were *E. coli* and *Proteus sp.*.

Key Words: Infection Tract Urinary (ITU), leucocytes

INTRODUÇÃO

As infecções do trato urinário (ITUs), atualmente, representam a forma mais comum de infecção nos seres humanos (SCHRIER, 1993). Sua relevância sob o ponto de vista clínico pode ser atestada se considerarmos os vários estudos epidemiológicos já documentados na literatura com relação a essa infecção. (RESNICK e NOVICK, 1996; RIELLA, 1996; CRUZ *et al*, 1994; LENZ, 1994; SCHECHTER e MARANGONI, 1994; OMS 1992; KUNIN, 1991; JÚNIOR E SANTOS, 1988; PAOLUCCI, 1982).

A infecção do trato urinário é uma inflamação secundária a uma invasão tecidual das

vias urinárias, desde o meato uretral até o córtex renal, provocada por um agente infeccioso de origem bacteriana, fúngica ou viral (RESNICK e NOVICK, 1996; SCHRIER, 1993).

Dentre os agentes etiológicos responsáveis pela infecção urinária os bacilos gram negativos tem maior frequência, sendo a *E. coli* o agente mais comum e isolada em mais de 80% das vezes. No entanto há ainda diversos organismos causadores, como o *Proteus* sp., *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *S. aureus*, *S. faecalis*, *Candida* sp, etc (RESNICK e NOVICK, 1996; CRUZ *et al*, 1994; SCHECHTER e MARANGONI, 1994).

A urina é habitualmente estéril, as ITUs surgem quando se instala um desequilíbrio entre virulência do agente e os mecanismos de defesa do trato urinário à invasão microbiana (CRUZ *et al*, 1994).

Ao nível de diagnóstico o exame de urina é muito importante para a suspeita de uma ITU pois neste exame alguns parâmetros se alterados, podem ser indicativos da infecção (GORINA, 1996; RIELLA, 1996; SCHECHTER e MARANGONI, 1994; KUNIN, 1991). Outro exame importante é a bacterioscopia da urina não centrifugada que pode informar a presença de bactérias e se são cocos ou bastonetes, gram-positivos ou negativos (RIELLA, 1996). Porém o diagnóstico das ITUs, da simples cistite à pielonefrite pode ser estabelecido com absoluta precisão somente mediante comprovação, através de urocultura, de uma bacteriúria significativa, ou seja, com uma contagem igual ou superior a 10^5 Unidades Formadoras de Colônia (UFC) /ml (RESNICK e NOVICK, 1996; RIELLA, 1996). Todavia, a infecção pode existir mesmo com um número inferior de colônias, visto que há situações que diminuem o número de bactérias na urina, ou mesmo que justificam o número menor na vigência da infecção como: uso de antibacterianos no período da urocultura; contaminação da urina com detergente utilizado durante a higiene íntima; hiperidratação do doente, e colheita de amostra de urina pouco tempo depois de uma micção; presença de bactérias com menor poder de replicação (RIELLA, 1996).

Quando são analisados os relatos que avaliam os resultados dos hemogramas em pacientes com ITU as informações são escassas. Para alguns autores o hemograma nestas situações, pode revelar leucocitose, inclusive superior à 20000 leucócitos /mm³, desvio à

esquerda e predominância de neutrófilos somente nos casos de pielonefrite (RESNICK e NOVICK, 1996; PAPPER, 1980). E segundo Andriole os exames laboratoriais mostram leucocitose polimorfonuclear tanto na cistite quanto na pielonefrite (WYNGAARDEN *et al*, 1993).

Sendo assim, com este trabalho busca-se avaliar as alterações ao nível de hemograma, em pacientes com ITUs e quantificá-las de modo a estabelecer um auxílio ao clínico no prognóstico da doença e/ou permitir uma melhor avaliação da gravidade do quadro, bem como acompanhar a evolução do tratamento.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os dados para a realização deste estudo foram obtidos através da coleta dos resultados de cultura de urina positiva que possuíam os exames de parcial de urina e hemograma, no período de 01 de janeiro à 01 de setembro de 1997 no Laboratório Médico Ciência, no Hospital Infantil Joana de Gusmão, em Florianópolis - SC. Por esta razão a população em estudo se restringiu a pacientes pediátricos. A análise epidemiológica e estatística dos dados *foi realizada através do programa de dados estatísticos Epi Info; versão 6.0 (DEAN, 1996).*

RESULTADOS

Foram estudados 78 pacientes com Infecção do Trato Urinário, atendidos no Laboratório Médico Ciência no Hospital Infantil Joana de Gusmão, de Florianópolis, no período de 01/01/1997 até 01/09/1997.

A distribuição destes pacientes por sexo é apresentada na Figura 1.

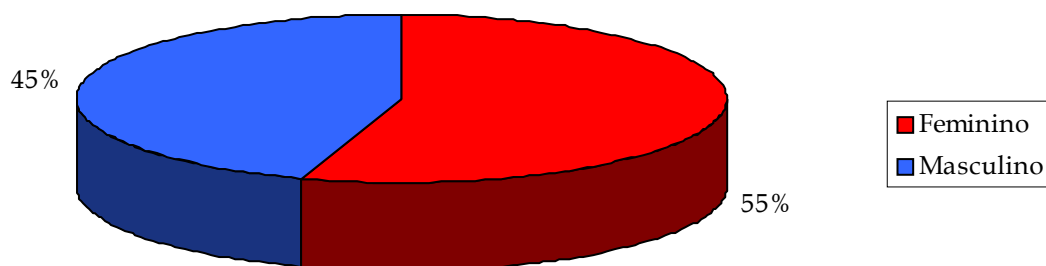


Figura 1: Distribuição dos pacientes estudados no Laboratório Médico Ciência, HIJG, em relação ao sexo, Florianópolis 01/01-01/09/1997.

A Figura 2 mostra a distribuição dos pacientes por faixa etária que variou entre 1 dia a 14 anos, avaliados separadamente por sexo.

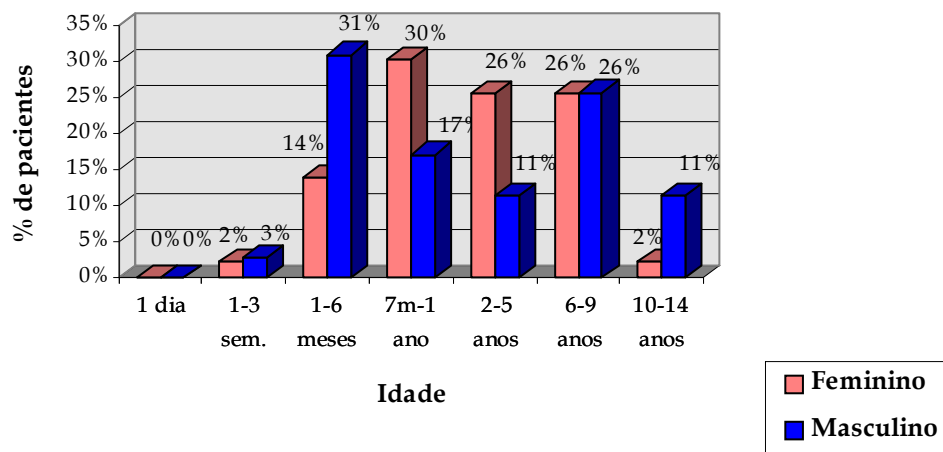


Figura 2: Distribuição dos pacientes estudados no Laboratório Médico Ciência, HIJG, em relação ao sexo e faixa etária, Florianópolis 01/01-01/09/1997.

A Figura 3 mostra a distribuição dos diferentes agentes etiológicos identificados nas uroculturas.

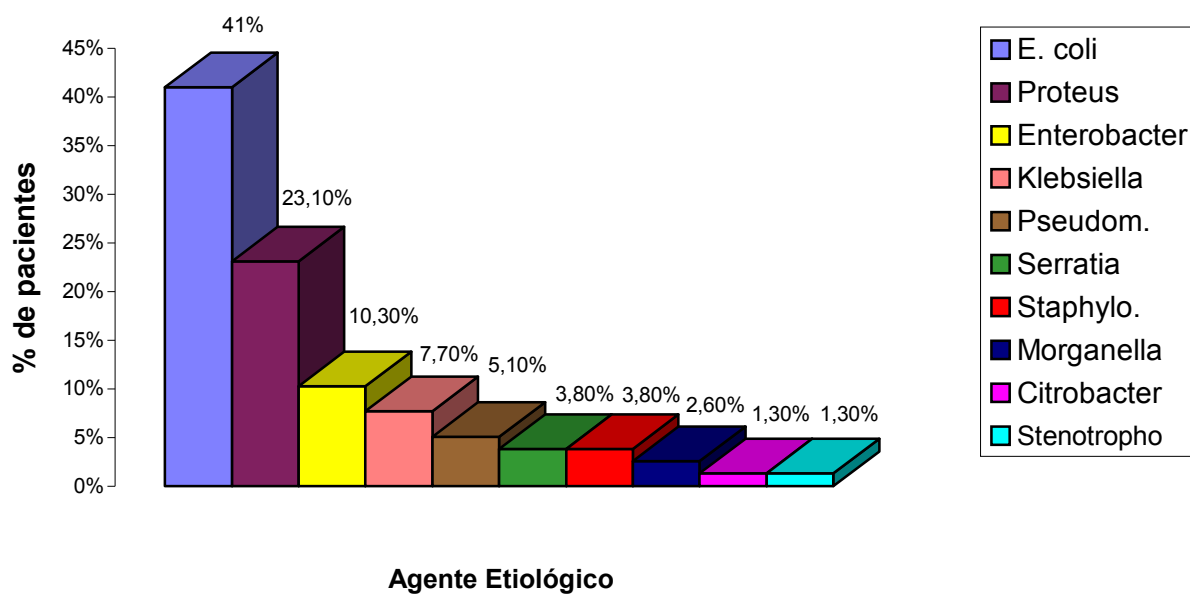


Figura 3: Distribuição dos pacientes estudados no Laboratório Médico Ciência, HIJG, segundo agente etiológico, Florianópolis, 01/01 - 01/09/1997.

Na Figura 4 observamos a distribuição dos pacientes quanto ao número de UFC.

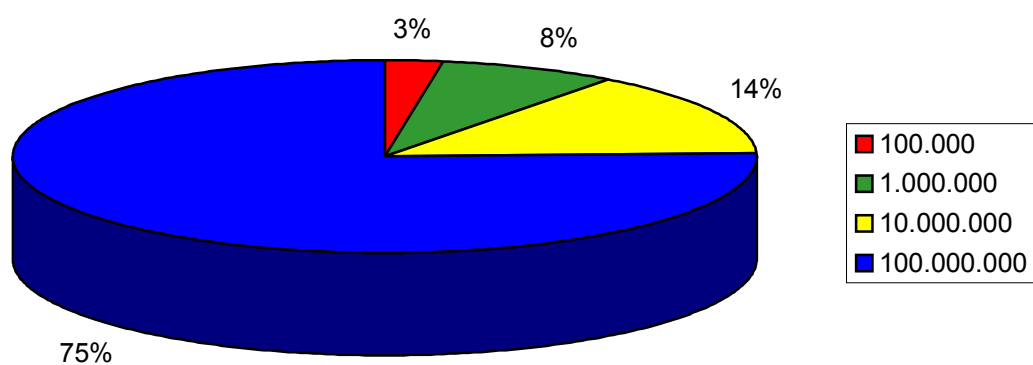


Figura 4: Distribuição dos pacientes estudados no Laboratório Médico Ciência, quanto ao número de UFC/mL, Florianópolis, 01/01 - 01/09/1997.

Na Figura 5 , observa-se a distribuição dos pacientes quanto a presença ou não de leucocitose (leucócitos acima de $11.000/\text{mm}^3$).

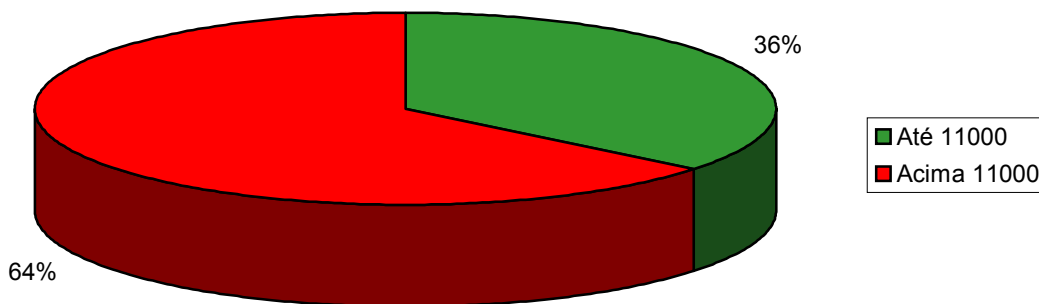


Figura 5: Distribuição dos pacientes estudados no Laboratório Médico Ciência em relação a leucometria normal e leucocitose, Florianópolis, 01/01 - 01/09/1997.

A distribuição dos pacientes quanto a contagem diferencial absoluta realizada é demonstrada na Figura 6.

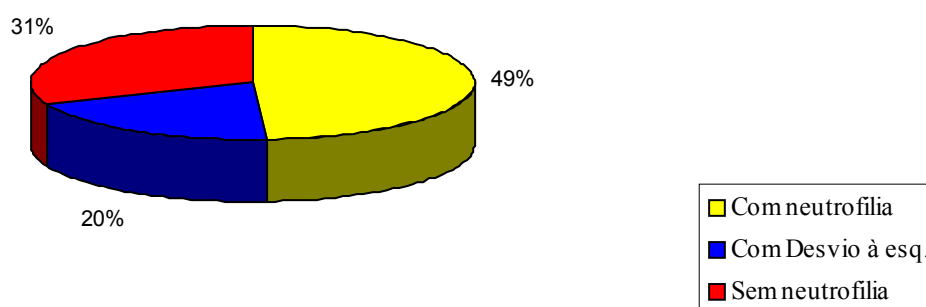


Figura 6: Distribuição dos pacientes estudados no Laboratório Médico Ciência, HIJG, segundo contagem diferencial absoluta apresentada, Florianópolis, 01/01 - 01/09 1997.

Na Figura 7 observa-se a distribuição dos pacientes em relação a leucocitúria observada.

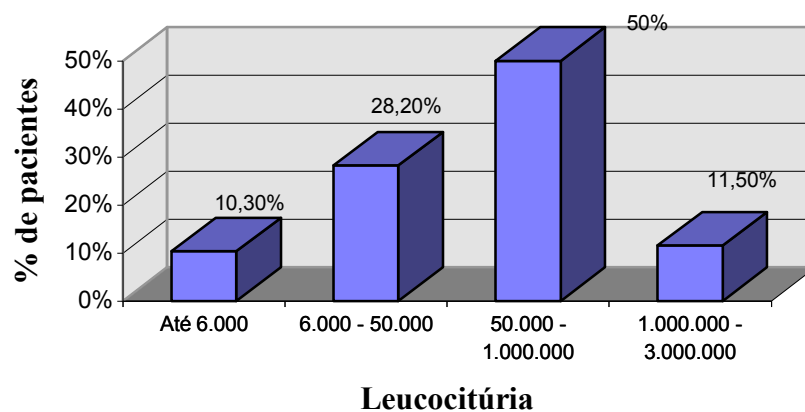


Figura 7: Distribuição dos pacientes estudados no Laboratório Médico Ciência, HIJG, em relação à leucocitúria, Florianópolis, 01/01 - 01/09/1997.

O gráfico 1 mostra que a correlação entre leucocitúria e leucometria, sendo que o valor do coeficiente de correlação foi de 0,11.

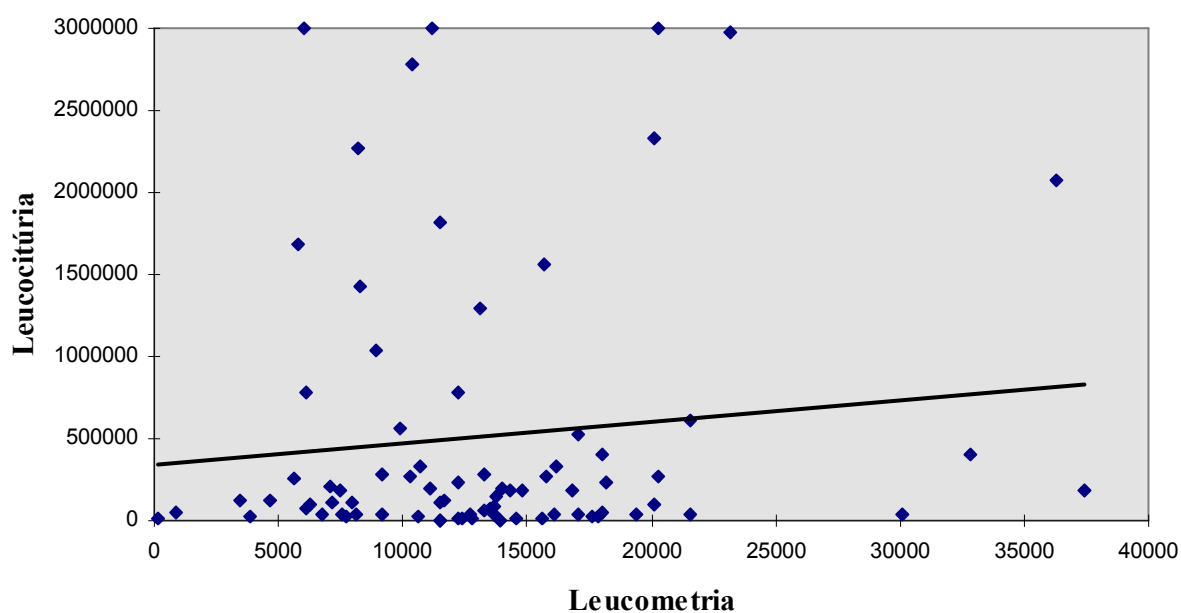


Gráfico 1: Correlação entre Leucometria x Leucocitúria, nos pacientes estudados no Laboratório Médico Ciência, HIJG, Florianópolis, 01/01 - 01/09/1997.

Discussão

Como pode-se observar na Figura 1 houve um predomínio do sexo feminino (55%) em relação ao sexo masculino (45%). Sendo que pela Figura 2 verifica-se que até os 6 meses de idade houve uma sensível prevalência de Infecção do Trato Urinário no sexo masculino (33,8%) sobre o feminino (16,2%). A partir desta idade a incidência, é maior no sexo feminino (83,8%) do que no masculino (66,2%) tendendo a se equiparar em torno dos 10 anos de idades. Estes dados vem de encontro com o descrito na literatura, que relata que durante os primeiros meses de vida, cerca de 75% das ITUs ocorrem no sexo masculino, sendo que alguns autores consideram ser devido à maior frequência de malformações congênitas nos meninos (CRUZ *et al*, 1994; JÚNIOR E SANTOS, 1988), outros acreditam numa maior suscetibilidade devido à intensa colonização de enterobactérias no prepúcio (LENZ, 1994), ou ainda os que acham provável que a maior parte dessas infecções se instale por via hematogênica (SCHECHTER e MARANGONI, 1994). Após essa idade a incidência é maior no sexo feminino devido à uretra ser relativamente curta e à tendência de colonização da vagina e períneo com organismos entéricos. Entre 0,03% e 1,2% dos meninos desenvolvem ITUs durante a idade escolar enquanto 3% a 5% das meninas apresentam infecção neste mesmo período (RESNICK e NOVICK, 1996; SCHECHTER e MARANGONI, 1994; KUNIN, 1991).

Como citado anteriormente na introdução comprovou-se neste trabalho (Figura 3) um predomínio do agente etiológico *E. coli* 41% , seguida de *Proteus* sp. em 23,1% dos pacientes acometidos por ITU. Os outros, 45,9% dos casos ficaram distribuídos, em ordem decrescente, entre *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp., *Staphylococcus* sp., *Morganella* sp., *Citrobacter* sp. e *Stenotrophomonas* sp..

Quanto ao número de UFC a Figura 4 demonstra um predomínio de pacientes com bacteriúria igual a 10^7 UFC/mL, entretanto percebe-se que 3% dos pacientes apresentaram um valor de 10^4 UFC/mL e foram contados como positivos, pois embora esta concentração seja inferior a considerada como bacteriúria significativa que comprove ITUs, ou seja igual ou superior 10^5 UFC/mL isto pode ser justificável nas situações em que há uma redução no número de bactérias na urina como: uso de antibacterianos, contaminação da urina com detergente durante higiene íntima, hiperhidratação do doente, entre outros (RIELLA, 1996).

Com relação ao número de leucócitos, percebe-se que 36% dos pacientes com ITUs tiveram uma leucometria normal (até $11.000/\text{mm}^3$) e 64% apresentaram leucocitose (Figura 5), acima de $11.000/\text{mm}^3$ (variando entre 11.000 até acima de $30.000/\text{mm}^3$) (BEUTLER, 1995). Analisando a contagem diferencial absoluta realizada (Figura 6) nota-se que 49% dos pacientes apresentaram neutrofilia, 20% apresentaram neutrofilia com desvio à esquerda. Esses dados vem de acordo com o descrito na literatura, pois frente a uma infecção a produção de leucócitos aumenta, dessa forma a maioria dos pacientes apresentam leucocitose com predomínio de neutrófilos, pois essas células possuem grande poder de fagocitose em processos infecciosos e são as primeiras a se deslocarem para o local da infecção. Em alguns casos essa produção celular é tão acentuada que células imaturas chegam a corrente sanguínea, isso é chamado de desvio à esquerda observado em parte de nossos pacientes (RESNICK e NOVICK, 1996; WYNGAARDEN *et al*, 1993; JANINI, 1995; PAPPER, 1980). Do total dos pacientes apenas um apresentou granulações tóxicas representando 1,3%, isto mostra que apesar dos processos infecciosos provocarem o aparecimento de granulações tóxicas isto não é comum para as ITUs (BAIN, 1997).

Como pode-se observar na Figura 7, apenas 10,3% apresentam leucocitúria dentro dos valores normais, enquanto que 89,7% estavam acima dos valores de referência. A maior parte dos pacientes (50%) apresentaram leucocitúria entre $50.000 - 1.000.000$ leucócitos/mL. Essa reação é normal e esperada, pois em situações de invasão tecidual, há uma mobilização de leucócitos para o foco da infecção. Embora não seja o único parâmetro para instituir um tratamento para ITU, a presença de leucocitúria é anormal e considerada como um indicativo de inflamação (RIELLA, 1996).

O gráfico 1 mostra que há correlação entre leucocitúria e leucometria, pois o valor do coeficiente de correlação foi de 0,11, ou seja entre +1 e -1. Como o valor é positivo, a correlação é direta, visto que o aumento da leucocitúria acompanha o aumento da leucometria. Porém este aumento não é proporcional, pois pela Tabela de Rugg o valor do coeficiente é considerado desprezível ou seja menor que 0,15. (SOUNIS, 1976).

Agradecimentos

Agradecemos aos professores Marcos José Machado, Terezinha Neiva e Maria Luíza Bazzo, ao Bioquímico Marcellus Reis e aos profissionais do Laboratório Médico Ciência, que em muito contribuíram com o fornecimento dos resultados dos exames analisados.

BIBLIOGRAFIA

1. BAIN, B. J.. **Células sanguíneas: um guia prático**. 2ª ed. Porto Alegre, Artes Médicas, 1997.
2. BEUTLER, E. *et al.* **Williams Hematology**, 5ª ed. New York. Mc Graw Hill, 1995.
3. CARRAZZA, F. R.; *et al.* **Laboratório em Pediatria: Interpretação Clínica**. 1ª ed. São Paulo. Sarvier, 1991.
4. CRUZ, J; PRAXEDES, J.N. ; CRUZ, H.M.M. **Nefrologia**. São Paulo: Sarvier, 1994.
5. DEAN, A H.; DEEAN, J. A ; *et al.* **Epi Info, version 6. A word processing, database and statisticss program from public health on IBM - compatible microcomputers**. Center for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, 1996.
6. GORINA, A.B.. **A clínica e o laboratório**. 16ª ed.. Rio de Janeiro: Medsi, 1996.
7. KUNIN, C.M. **Infecção urinária: diagnóstico, tratamento, prevenção**. 4ª ed Rio de Janeiro: Revinter,. 1991.
8. JANINI, P. e FILHO, P. J..**Interpretação clínica do hemograma**. 10ª ed. São Paulo, Sarvier, 1995.
9. JÚNIOR, A N.; SANTOS, O R.. **Doenças dos rins: estudo clínico e tratamento**. São Paulo, Byk, 1988.
10. LENZ, L.L. **Infecção urinária**. São Paulo: Byk, 1994.
11. LIMA, A O; SOARES, J. B.; *et al.* **Métodos de laboratório aplicados a clínica: técnica e interpretação**. 7ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 1992.
12. OMS, **World Health Organization 1987**. Genebra, 1992.

13. PAOLLUCI, A.A. **Nefrologia**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1992.
14. PAPPER, S.M.D. **Nefrologia Clínica**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1980.
15. RESNICK, M.J.; NOVICK, A.C., **Segredos em urologia: respostas necessárias ao dia a dia**. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1996.
16. RIELLA, M.C. **Princípios de Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrolíticos**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.
17. SCHECHTER, M.; MARANGONI, D.V. **Doenças Infecciosas: Conduta Diagnóstica e Terapêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.
18. SCHRIER, R.W., **Manual de Nefrologia Diagnóstico e Tratamento**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1993.
19. SOUNIS, E. **Bioestatística: princípios fundamentais, metodologia, estatística, aplicação as ciências biológicas**. 2ª ed. São Paulo. Mc Graw - Hill do Brasil, 1976.
20. VALLADA, E.T. **Manual de Exames de Urina**. 2ª ed. São Paulo: Editora Ateneu, 1995.
21. VERONESI, R. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.
22. WYNGAARDEN, J.B., SMITH, L.H. Jr; BENNETT, J.C. Cecil **Tratado de Medicina Interna**. 19ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.

Endereço para correspondência

Maria Claudia Santos da Silva
Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Análises Clínicas - CCS
Campus Universitário
CEP: 88049 - 000 Florianópolis - SC
FAX: (048) 231-9542
email: maclau@ccs.ufsc.br

IMPORTÂNCIA DA HIGIENE DOS ALIMENTOS NA EPIDEMIOLOGIA DE
HELMINTOSES - OCORRÊNCIA DE OVOS DE HELMINTOS EM HORTALIÇAS

IMPORTANCE OF FOOD HYGIENE IN THE EPIDEMIOLOGY OF WORM INFECTIONS -
OCCURRENCE OF HELMINTH EGGS ON VEGETABLES

Armando Castello Branco Jr.¹ ; Cláudia Maria Waib¹ & Orlando C. de Oliveira Filho²

¹ Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Nutricionais e do Esporte (FCFNE) -
Universidade de Marília (UNIMAR)

² Faculdade de Ciências da Saúde (FCS) - Universidade de Marília (UNIMAR)

A correspondência deve ser enviada para: Prof. Dr. Armando Castello Branco Jr. -
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Nutricionais e do Esporte (FCFNE), Universidade
de Marília, Bloco IX, Av. Higino Muzzi Filho, 1001, Marília, São Paulo, Brasil, 17525-902.
E-mail: abranco@mii.nutecnet.com.br

RESUMO - Durante o período de outubro de 1996 a abril de 1997 foram amostradas periodicamente hortaliças comercializadas no município de Marília/ SP, com o objetivo de se avaliar a ocorrência de ovos de helmintos nestes vegetais. A alface crespa e lisa, o almeirão e a couve foram as espécies selecionadas. Detectou-se a presença de ovos de *Fasciola hepatica* (2,0%), *Taenia* sp. (2,0%), *Hymenolepis nana* (14,5%), *Ascaris lumbricoides* (13,5%), ancilostomídeos (13,5%), *Trichuris trichiura* (0,5%), *Enterobius vermicularis* (0,5%) e *Toxocara* sp. (0,5%). O almeirão apresentou as maiores prevalências de helmintos. Percebe-se a importância do esclarecimento e intensificação das orientações quanto aos cuidados básicos de higiene na preparação de alimentos para a profilaxia de verminoses.

UNITERMOS: helmintos, hortaliças, epidemiologia

ABSTRACT - The aim of the present work is to evaluate the occurrence of helminth eggs on vegetables market in Marília County, at São Paulo State western. Some units of lettuce, wild chicory and cabbage were sampled periodically during October of 1996 to April of 1997. *Fasciola hepatica* (2,0%), *Taenia* sp. (2,0%), *Hymenolepis nana* (14,5%), *Ascaris lumbricoides* (13,5%), hookworms (13,5%), *Trichuris trichiura* (0,5%), *Enterobius vermicularis* (0,5%) and *Toxocara* sp. (0,5%) were detected. Wild chicory showed the highest prevalence of helminthes. The importance of people knowledge about food hygiene is clear as a prophylactic factor against worm infections.

KEY WORDS: Helminthes, epidemiology, vegetables

INTRODUÇÃO

É habito comum na população humana a ingestão de diversas hortaliças, muitas delas sendo consumidas inclusive cruas. O fato de que muitas vezes estas hortaliças são mal lavadas expõe o homem à infecção tanto por helmintos como por protozoários. As possibilidades de infecção via hortaliças contaminadas vêm sendo avaliadas por diversos autores^{2,3,4,5,7,8}.

A Epidemiologia das enteroparasitoses humanas aborda os mais diversos fatores relacionados direta e indiretamente com a transmissão dos parasitas intestinais, tais como mãos contaminadas, verduras, alimentos em geral, solo, moscas e outros insetos sinantrópicos, o próprio ar e especialmente a veiculação hídrica. Considerando-se que frequentemente as hortaliças são irrigadas com água contaminada por material fecal e adubadas com dejetos humanos e animais^{1,3,4}, temos que é de extrema importância para a saúde pública a detecção de parasitas intestinais neste tipo de alimento. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho é avaliar a ocorrência dos níveis de positividade e ocorrência de ovos de helmintos em hortaliças comercializadas no município de Marília, no oeste no Estado de São Paulo, Brasil.

MATERIAL & MÉTODOS

Foram feitas amostragens semanais de hortaliças comercializadas pelo CEASA/ CEAGESP no município de Marília, no oeste do Estado de São Paulo. As hortaliças selecionadas foram: almeirão (*Hieracium commersonii*), alface lisa e crespa (*Lactuca sativa*) e couve (*Brassica oleracea*). No total foram amostrados 50 maços de hortaliça escolhida, totalizando 200 amostras de cada espécie e variedade, no período compreendido entre meados de outubro de 1996 a abril de 1997.

Para a análise das amostras seguiu-se o procedimento descrito a seguir. Foram utilizadas amostras com peso variando entre 200 e 250g. As amostras eram lavadas com o auxílio de um pincel em recipiente contendo 300mL de solução de detergente neutro (10 mL EXTRAN MA 02^R diluídos em 2 litros de solução fisiológica). O líquido obtido era filtrado em gaze em cálice de sedimentação. O recipiente era lavado duas vezes com 10 mL de solução detergente, recolhendo-se todo o líquido e resíduos no mesmo cálice e, deixando-se sedimentar por 24 horas. Após esse período, o líquido sobrenadante era desprezado e recolhido o sedimento para um tubo de centrifuga de 15 mL. O cálice era lavado duas vezes com 5 mL de solução fisiológica, recolhendo-se o líquido no mesmo tubo. Em seguida, centrifugava-se o tubo a 3.000 rpm durante 1 min. O sobrenadante era desprezado e o sedimento ressuspensionado com solução de sulfato de zinco (densidade igual a 1.200). Centrifugava-se novamente a 2.000 rpm durante 2 min. Após isto, completava-se com água destilada até a borda do tubo e com auxílio de uma pipeta transferia-se uma gota para lâmina de microscopia. O material era corado com solução de Lugol e examinado ao microscópio óptico.

RESULTADOS

Dentre as hortaliças avaliadas, o almeirão apresentou a maior frequência de positividade (72,0%), sendo seguido pela alface crespa, alface lisa e couve, com positividade de 18,0%, 15,0% e 5,0%, respectivamente.

A Tabela 1 apresenta os resultados quanto à presença de helmintos nas diversas hortaliças avaliadas.

O helminto de maior frequência geral foi *Hymenolepis nana* com 14,5%. Ancilostomídeos e *Ascaris lumbricoides* apresentaram frequência igual a 13,5%. Os demais helmintos detectados apresentaram frequências baixas oscilando entre 0,5 e 2,0%.

DISCUSSÃO

A arquitetura das hortaliças pode ser o fator chave das frequências obtidas. Alguns autores² sugerem que vegetais de folhas múltiplas e com grande área de contato apresentariam melhores condições para a fixação de ovos de helmintos do que vegetais de folhas fortemente imbricadas e largas como a alface, por exemplo. Os resultados obtidos no presente trabalho, parecem corroborar tal hipótese.

A época em que o presente estudo foi realizado correspondeu à época das chuvas, situação onde as culturas de hortaliças tendem a ser menos irrigadas artificialmente e, dessa forma, os resultados obtidos quanto à frequência dos helmintos e positividade das hortaliças podem estar subestimados.

Ainda observando-se a Tabela 1, percebe-se que *Hymenolepis nana* estava presente em 46,0% das amostras de almeirão, sendo esta a maior ocorrência de todos os helmintos em todas as hortaliças amostradas.

A presença de ovos de certos helmintos nas hortaliças, como os de *Taenia* sp. por exemplo, indica uma prática constante que é a de adubar as hortas com fezes humanas não tratadas, uma vez que os ovos deste parasita só são eliminados pelo homem. Caso esses ovos sejam de *T. solium*, existe a possibilidade da transmissão da cisticercose humana, mesmo que sua ocorrência tenha sido baixa nas hortaliças amostradas.

A baixa frequência de ovos de *Enterobius vermicularis* pode ser explicada pelo fato de serem pouco resistentes⁴.

A frequência relativamente elevada de ancilostomídeos (13,5%) deve ser ponderada devido ao fato de que diversas espécies de helmintos parasitas de plantas e de animais domésticos apresentam morfologia semelhante dos ovos⁶.

A presença de ovos de *Fasciola hepatica* indica a utilização de fezes de animais ruminantes como adubo nas hortas, enquanto os ovos de *Toxocara* sp. indicam o uso de fezes de animais domésticos como cães e gatos.

As frequências de ocorrência de helmintos, detectada no presente trabalho, não são consonantes com os resultados obtidos por outros autores^{3,4}. As diferenças verificadas podem dever-se às hortaliças selecionadas para os estudos em questão, à época do ano ou mesmo refletir cuidados diferenciados no cultivo de hortaliças de região para região dentro do Estado de São Paulo.

De qualquer forma a presença de helmintos intestinais detectados nas hortaliças revela que as condições sanitárias e educacionais ainda são precárias sendo um constante problema em saúde pública. O uso de água potencialmente contaminada ou mesmo a adubação com dejetos humanos parece ainda ser uma prática comum em nosso meio. Percebe-se a importância do esclarecimento da população quanto aos cuidados básicos na higiene alimentar.

Tabela 1 - Prevalência de helmintos nas hortaliças amostradas.

HELMINTO	AM		AC		AL		CO	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Fasciola hepatica</i>	2	4,0	1	2,0	1	2,0	0	0
<i>Taenia</i> sp.	3	6,0	1	2,0	0	0	0	0
<i>Hymenolepis nana</i>	23	46,0	4	8,0	2	4,0	0	0
<i>Ascaris lumbricoides</i>	15	30,0	5	10,0	4	8,0	3	6,0
Ancilostomideos	7	14,0	10	20,0	8	16,0	2	4,0
<i>Trichuris trichiura</i>	1	2,0	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobius vermicularis</i>	1	2,0	0	0	0	0	0	0
<i>Toxocara</i> sp.	1	2,0	0	0	0	0	0	0

Número total por hortaliça = 50. (n) n.º de casos positivos; (AM) almeirão; (AC) alface crespa; ((AL) alface lisa; (CO) couve.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Christovão, D.A. et alli.** Condições sanitárias das águas de irrigação de hortas do município de São Paulo. I Determinação da intensidade de poluição fecal através NMP de coliformes e de *E. coli*. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 1: 3-11, 1967.
2. **Gelli, D.S. et alli..** Condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo, SP, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29: 37-48, 1979.
3. **Marzochi, M.C.A.** Estudo dos fatores envolvidos na disseminação dos Enteroparasitas. II - Estudo da contaminação de verduras e solo de hortas na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 19: 148-155, 1977.
4. **Oliveira, C.A .F. & Germano, P.M.L.** Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil. I - Pesquisa de helmintos. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 26: 283-289, 1992.
5. **Oliveira C.A .F. et alli.** Enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo. *Higiene alimentar*, 6: 34-36, 1992.
6. **Pessoa, S.B. & Martins, A .V.** *Parasitologia médica*. Ed. Guanabara Koogan, 872 pp., 1982.
7. **Vallada, E.P. et alli .** Contribuição ao estudo da transmissão das enteroparasitoses. *Rev. Bras. Farm.*, 68: 102-108, 1987.
8. **Waldman, E.A . & Chieffi, P.P.** Enteroparasitoses no Estado de São Paulo: Questão de Saúde Pública. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 49: 93-99, 1989.

Incidência do Vírus Influenza A e B na população de Maceió-AL, Brasil.

¹Cruz, M. E. M., ² Zaidan, A. M. E., ³ Rodrigues, M. M. L., ⁴Sá, J. P. O., ⁴Silva, N. M. ⁴Oliveira, J. F.

¹Departamento de Química / UFAL

²Departamento de Patologia / UFAL

³Laboratório de Imunologia e Virologia / HU / UFAL

⁴Bolsista CNPq / PIBIC / UFAL / BIO-UFAL

Resumo

Vírus respiratórios são responsáveis por uma grande percentagem das doenças na população humana. Um estudo soro-epidemiológico foi feito para determinar a prevalência de anticorpos para as cepas do subtipo A: A/Taiwan/1/86 (H₁N₁), A/Shangdong/9/93 (H₃N₂), A/Shanghai/11/87 (H₃N₂) e A/Wuhan/359/95 (H₃N₂) foi 189, 223, 230 e 103 amostras, respectivamente. E para o subtipo B: B/Panamá/45/20, B/Guangdong/8/93 e B/Beijing/184/93 foi 191, 126 e 103 amostras, respectivamente. Os soros foram obtidos no período de 1996/1997, de pacientes internos e externos do Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal de Alagoas de diferentes faixas etárias e de ambos os sexos. A técnica utilizada para pesquisar anticorpos específicos foi a de Inibição da Hemaglutinação (HI). A prevalência de anticorpos para A/Taiwan/1/86 (H₁N₁), A/Shangdong/9/93 (H₃N₂), A/Shanghai/11/87 (H₃N₂) e A/Wuhan/359/95 (H₃N₂) foi 94%, 93%, 81% e 78% respectivamente e o B/Panamá/45/20, B/Guangdong/8/93 e B/Beijing/184/93 foi 52%, 23% e 53% respectivamente. A presença de marcadores sorológicos do Vírus Influenza A e B em nossa população foi evidenciada pela primeira vez e mostrou ser em índices elevados, indicando uma ampla disseminação desses subtipos.

Palavras chaves: Influenza, vírus respiratório.

Summary: Respiratory virus are said to be responsible for a great percentage of human diseases. An epidemiologic serum study was carried out to determine the prevalence of antibody for the strain type A: A/Taiwan/1/86 (H₁N₁), A/Shangdong/9/93 (H₃N₂), A/Shanghai/11/87 (H₃N₂) and A/Wuhan/359/95 (H₃N₂) 189, 221, 230 and 103 samples, respectively. And for the strain type B: B/Panamá/45/20, B/Guangdong/8/93 and B/Beijing/184/93 191, 126 and 103 samples, respectively. The serum samples were obtained in 1996/1997, internal and daily patients from the University Hospital of Alagoas (HU/UFAL) at different ages and sex group. The method used to measure specific antibody was the Hemagglutination inhibition (HI). Antibody prevalence for A/Taiwan/1/86 (H₁N₁), A/Shangdong/9/93 (H₃N₂), A/Shanghai/11/87 (H₃N₂) and A/Wuhan/359/95 (H₃N₂) was 94%, 93%, 81% and 78% respectively and the B/Panamá/45/20, B/Guangdong/8/93 and B/Beijing/184/93 was 52%, 23% and 53% respectively. The presence of antibody for virus Influenza A e B in our population was for the first time evaluated and showed to be in high levels.

Key words: Influenza, respiratory virus.

Introdução

As doenças respiratórias estão entre as de etiologia viral mais estudadas atualmente. Existem vários tipos distintos de vírus que causam doenças no trato respiratório, e que diferem grandemente na sua estrutura e organização genética.

O vírus Influenza causa doença respiratória aguda com sintomas constitucionais que pode vir a desenvolver um processo de pneumonia, como infecção secundária. Trata-se de uma doença internacional que na sua forma epidêmica não reconhece limites de idade, sexo e territoriais. Pertence a família *Orthomyxoviridae*, são partículas esféricas com uma fita única de RNA de polaridade negativa.

Há três tipos de vírus Influenza: A, B e C. Os tipos B e C causam surtos de doenças respiratórias em percentagens leves e principalmente em crianças, o tipo A afeta crianças e idosos. Isso se deve ao fato de B e C ao longo dos anos não apresentarem variações na estrutura antigênica e de A estar constantemente sofrendo mutação na sua estrutura de superfície (antígenos de superfície) (Air *et al* 1990, Palese e Young 1982, Bounagario *et al* 1986a e 1986b, Yamashita *et al* 1988, O'Callaghan *et al* 1980).

O surgimento de um novo subtipo tradicionalmente tem sido seguido pelo rápido desaparecimento de um velho subtipo, e pode ser derivado de uma interação genética de cepas humanas com outras espécies de pássaros (Pereira *et al* 1967).

Objetivo

Estabelecer a incidência de vírus respiratórios em Maceió-AL, BR e obter dados estatísticos que possam vir a ser úteis as comunidades sociais e científicas das áreas de saúde e social.

Material e Métodos

As amostras de soro foram obtidas de pacientes externos e internos atendidos no laboratório de Imunologia/Virologia do Hospital Universitário (HU) da UFAL, nas seguintes faixas etárias: 0-4, 5-14, 15-24, 25-59 e >60 anos de ambos os sexos que apresentavam infecção aguda ou crônica das vias respiratórias inferiores e superiores.

As cepas virais estudadas foram gentilmente cedidas pelo Prof^o Willer Alencar de Melo do Instituto Evandro Chagas, Belem-PA: A/Taiwan/1/86 (H₁N₁), A/Shangdong/9/93 (H₃N₂), A/Shanghai/11/87 (H₃N₂), A/Wuhan/359/95 (H₃N₂), B/Panamá/45/20, B/Guangdong/8/93 e B/Beijing/184/93.

A técnica utilizada para pesquisar anticorpos específicos nas amostras de soro foi a de Inibição da Hemaglutinação (HI) Palmer *et al* 1975. Hemácias frescas de ganso foram utilizadas na diluição de 1:200. O número de amostras estudado para os subtipos A/Taiwan/1/86 (H₁N₁), A/Shangdong/9/93 (H₃N₂), A/Shanghai/11/87 (H₃N₂)

e A/Wuhan/359/95 (H₃N₂) foi 189, 223, 230 e 103 respectivamente, e, para os subtipos B/Panamá/45/20, B/Guangdong/8/93 e B/Beijing/184/93 foi 191, 126 e 103 respectivamente.

Resultados

Os resultados da pesquisa de anticorpos específicos nas amostras de soro, através do método de Inibição da hemaglutinação, foram considerados positivos para valores de diluição acima de 1:40 e negativo para valores abaixo e inclusive 1:40.

Tabela nº1 Incidência do subtipo A/Taiwan/1/86 (H₁N₁) em diferentes faixas etárias na cidade de Maceió-AL.

Faixa etária	N ₁	N ₂	Masc. %	Fem. %
0-4	25	13	68	85
5-14	18	25	100	100
15-24	02	35	100	100
25-59	17	32	100	100
>60	06	16	100	100

N₁ - número de amostras do sexo masculino(68).

N₂ - número de amostras do sexo feminino(121).

Tabela nº2 Incidência do subtipo A/Shangdong/9/93 (H₃N₂) em diferentes faixas etárias na cidade de Maceió-AL.

Faixa etária	N ₁	N ₂	Masc. %	Fem. %
0-4	20	09	85	40
5-14	17	31	100	95
15-24	05	41	100	90
25-59	17	43	100	69
>60	11	29	100	94

N₁ - número de amostras do sexo masculino(70).

N₂ - número de amostras do sexo feminino(153).

Tabela nº3 Incidência do subtipo A/Shanghai/11/87 (H₃N₂) em diferentes faixas etárias na cidade de Maceió-AL.

Faixa etária	N₁	N₂	Masc.%	Fem.%
0-4	23	10	83	70
5-14	18	29	100	80
15-24	05	46	100	72
25-59	20	37	80	73
>60	13	29	85	100

N₁ - número de amostras do sexo masculino(79).

N₂ - número de amostras do sexo feminino(151).

Tabela nº4 Incidência do subtipo A/Wuhan/359/95 (H₃N₂) em diferentes faixas etárias na cidade de Maceió-AL.

Faixa etária	N₁	N₂	Masc.%	Fem.%
0-4	12	10	83	60
5-14	11	08	100	75
15-24	02	19	100	79
25-59	05	15	80	86
>60	04	17	75	65

N₁ - número de amostras do sexo masculino(34).

N₂ - número de amostras do sexo feminino(69).

Tabela nº5 Incidência do subtipo B/Panamá/45/20 em diferentes faixas etárias na cidade de Maceió-AL.

Faixa etária	N₁	N₂	Masc.%	Fem.%
0-4	18	13	11	46
5-14	18	24	27	42
15-24	02	39	00	87
25-59	17	38	64	53
>60	05	17	29	41

N₁ - número de amostras do sexo masculino(60).

N₂ - número de amostras do sexo feminino(131).

Tabela nº6 Incidência do subtipo B/Guangdong/8/93 em diferentes faixas etárias na cidade de Maceió-AL.

Faixa etária	N ₁	N ₂	Masc. %	Fem. %
0-4	08	13	00	30
5-14	14	09	0,7	11
15-24	04	26	50	31
25-59	10	25	10	37
>60	06	11	33	45

N₁ - número de amostras do sexo masculino(42).

N₂ - número de amostras do sexo feminino(84).

Tabela nº7 Incidência do subtipo B/Beijing/184/93 em diferentes faixas etárias na cidade de Maceió-AL.

Faixa etária	N ₁	N ₂	Masc. %	Fem. %
0-4	11	10	36	50
5-14	12	08	66	37
15-24	02	20	50	55
25-59	05	14	40	50
>60	04	17	75	64

N₁ - número de amostras do sexo masculino(34).

N₂ - número de amostras do sexo feminino(69).

Tabela nº8 Comparação dos subtipos A/Taiwan/1/86 (H₁N₁), A/Shangdong/9/93(H₃N₂),A/Shanghai/11/87(H₃N₂), A/Wuhan/359/95(H₃N₂), B/Panamá/45/20, B/Guangdong/8/93 e B/Beijing/184/93 em diferentes faixas etárias na cidade de Maceió-AL.

Faixa etária	Taiwan	shangdong	Shanghai	Wuhan	Panamá	Guangdong	Beijing
0-4	73	79	78	72	25	19	42
5-14	100	95	87	89	35	08	55
15-24	100	93	74	89	82	33	54
25-59	100	81	75	85	56	26	47

>60	100	92	95	66	54	41	66
-----	-----	----	----	----	----	----	----

Valores expressos em %.

Tabela nº9 Comparação dos subtipos A/Taiwan/1/86 (H₁N₁), A/Shangdong/9/93 (H₃N₂), A/Shanghai/11/87 (H₃N₂), A/Wuhan/359/95 (H₃N₂), B/Panamá/45/20, B/Guangdong/8/93 e B/Beijing/184/93 entre os sexos na cidade de Maceió-AL.

Faixa etária	Taiwan	shangdong	Shanghai	Wuhan	Panamá	Guangdong	Beijing
Masc.	88	95	87	88	38	14	52
Fem.	98	92	78	73	58	28	94

Valores expressos em %.

Tabela nº10 Prevalência dos subtipos A/Taiwan/1/86(H₁N₁), A/Shangdong/9/93 (H₃N₂), A/Shanghai/11/87 (H₃N₂), A/Wuhan/359/95 (H₃N₂), B/Panamá/45/20, B/Guangdong/8/93 e B/Beijing/184/93 na cidade de Maceió-AL.

Subtipo	Taiwan	shangdong	Shanghai	Wuhan	Panamá	Guangdong	Beijing
%	94	93	81	78	52	23	53

Discussão e conclusão:

O estudo do subtipo A/Taiwan/1/86 (H₁N₁), A/Shangdong/9/93 (H₃N₂), A/Shanghai/11/87 (H₃N₂) e A/Wuhan/359/95 (H₃N₂) relacionando o número de amostras por faixa etária e sexo está evidenciado nas tabelas 1, 2, 3 e 4 respectivamente e apresentam índices elevado de positividade.

A incidência do subtipo B/Panamá/45/20, B/Guangdong/8/93 e B/Beijing/184/93 relacionando o número de amostras por faixa etária e sexo é visto nas tabelas 5, 6 e 7 respectivamente, e, mostram um menor índice de positividade.

Portanto, o subtipo A/Taiwan/1/86 (H₁N₁), A/Shangdong/9/93 (H₃N₂), A/Shanghai/11/87 (H₃N₂) e A/Wuhan/359/95 (H₃N₂) se mostraram presentes em maior proporção no grupo em estudo, quando comparados com o subtipo B/Panamá/45/20, B/Guangdong/8/93 e B/Beijing/184/93 conforme tabela 10.

A incidência do vírus Influenza observado na tabela 8 não foi significativa quando comparada para uma mesma faixa etária dentro de um mesmo subtipo, como

visto na faixa etária de 0-4 anos para o subtipo A. Entretanto, discrepâncias foram observadas em algumas faixas etárias estudadas, principalmente para o subtipo B.

Com relação ao sexo não houve diferença significativa entre homens e mulheres para o vírus Influenza subtipo A, enquanto o subtipo B apresentou diferença entre os sexos, conforme tabela 9.

Diante dos resultados podemos concluir que o vírus Influenza através das diferentes cepas do subtipo A aqui estudado apresentou índices elevados indicando uma ampla disseminação e que o sexo e a idade não apresentaram influência significativa. E que o subtipo B apresentou um menor índice de positividade e a faixa etária e o sexo mostraram ter um papel relevante na incidência do vírus na população.

Agradecimentos: Ao Profº **Willer Alencar de Melo** do Instituto Evandro Chagas, Belém-PA, pelo o incentivo durante a realização deste trabalho.

Fontes financiadoras: **PIBIC / UFAL**
FUSAL / PROJETO NORDESTE.

Bibliografia

- Air, G. M. *et al* (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**:3884-3888.
Buonagurio, D. A. *et al* (1986a) *Virology*. **153**:12-21.
Buonagurio, D. A. *et al* (1986b) *Science*. **232**:980-982.
O'Callaghan, R. J. *et al* (1980) *Infect. Immun.* **30**:500-505.
Palese, P. je Young, J. F. (1982) *Science*. **215**:1468-1474.
Palmer, D. F., Coleman, I. T., Dowdle, W. R. and Schild, G. C. (1975) *Advance Laboratory Techniques for Influenza Diagnosis*. Public Health Service, US Departament of Health, Education and Welfare. Center for Disease Control, Atlanta, GA.
Pereira, H. G. *et al* (1967) *Nature*. **215**:982-983.
Yamashita, M. *et al* (1988) *Virology*. **163**:112-122.

NOVA ALTERNATIVA PARA A DOSAGEM DE HDL-COLESTEROL^{*}

A NEW ALTERNATIVE TO MEASURE HDL-CHOLESTEROL

Anelise Leuckert ¹, Débora Verônica Lucena ¹, Luciana
Casagrande ¹, Vanessa S. Mattevi ¹, Joíza Lins Camargo ²

¹ Farmacêuticas-Bioquímicas, Faculdade de Farmácia, UFRGS

² Farmacêutica-Bioquímica, mestre em Bioquímica Clínica, Unidade de Bioquímica, Serviço de
Patologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

^{*} Trabalho realizado na Unidade de Bioquímica - Serviço de Patologia Clínica do Hospital de
Clínicas de Porto Alegre

Endereço para Correspondência:

Dra Joíza Lins Camargo
Unidade de Bioquímica
Serviço de Patologia Clínica
Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Rua Ramiro Barcelos, 2350 Largo Eduardo Zaccaro Faraco
Porto Alegre - RS - Brasil
90035-003 E-mail: albarth@plug-in.com.br. Fax: 051 3168310

Resumo: Os objetivos deste estudo foram comparar novos *kits* comerciais recentemente disponíveis no mercado para a dosagem de HDL-C pelo método direto com o método convencional por precipitação, e verificar se os mesmos atingem as metas internacionais preconizadas para 1998 pelo *National Cholesterol Education Program* (NCEP). 360 amostras de soro foram analisadas pelo método de rotina empregado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre e, em paralelo, pelos três novos métodos diretos. Todos foram precisos, apresentando coeficiente de variação menor que 6%. Houve uma boa correlação entre os métodos direto e precipitado: $r = 0,939$; $0,707$ e $0,817$ para DiaSys® [D], Boehringer-Mannheim® [BM], e Labtest® [L], respectivamente. Houve, entretanto, um desvio positivo da linha de identidade para os três *kits*. A média das diferenças entre os métodos direto e precipitado foi mais elevada para o *kit* D, representando, em média, 21,25% acima do precipitado. Em comparação com o precipitado, L classificou aproximadamente 80% dos pacientes no valor de corte do NCEP ($\text{HDL-C} \leq 35 \text{ mg/dl}$), BM classificou 50% e D, 20%. Quando o LDL-C foi calculado pela equação de Friedewald, utilizando-se os dados de HDL-C obtidos pelos três *kits*, a classificação dos pacientes segundo o valor de corte de 130 mg/dl (NCEP) não foi alterada ao ser comparada com os valores de LDL-C calculados com os dados do método precipitado. Os métodos diretos analisados foram precisos, rápidos, de fácil execução e encontraram-se dentro dos limites de erro preconizados pelo NCEP para 1998. Entretanto, existe uma tendência a fornecerem resultados elevados em relação ao método precipitado; portanto, consideramos extremamente importante alertar o clínico sobre possíveis erros de classificação em pacientes “borderline”. Estudos de comparação com o método de referência fazem-se necessários para a obtenção de conclusões definitivas.

Palavras-Chaves: comparação de métodos, aterosclerose, precisão analítica, lipoproteínas.

Summary: The aims of this study were to compare different available kits for direct measurement of HDL-C with the routine precipitation method, and to verify if the new assays reach the 1998 National Cholesterol Education Program (NCEP) goals. 360 serum samples were analyzed by the routine method used at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, and, in parallel, by three new direct assays. All of them presented coefficient of variation less than 6%. There was a good correlation between the new assays and the precipitation method: $r = 0,939, 0,707 \text{ e } 0,817$ for DiaSys[®] [D], Boehringer-Mannheim[®] [BM], and Labtest[®] [L], respectively. However, there was a positive deviation from the identity line for the three assays. The mean difference between the direct assays and the precipitation method was higher for kit D, in average, 21.25% higher than the precipitation method. L classified 80% of the patients in the NCEP cutpoint ($\text{HDL-C} \leq 35 \text{ mg/dl}$), BM classified 50% and D, 20%. When the LDL-C was calculated by Friedewald equation, using the results obtained by the different direct assays, the classification of the patients were not altered in the NCEP cutpoint of 130 mg/dl. The direct assays were precise, quick, ease-to-use and reached the 1998 NCEP goals. However, there is a tendency to give higher results than the precipitation method and it is important to alert the clinician for possible misclassification of borderline patients. Comparison with the reference method are necessary to obtain definitive conclusions.

Key Words: method comparison, atherosclerosis, performance goals, lipoprotein

INTRODUÇÃO

A doença cardiovascular (DCV) é responsável por altos índices de mortalidade e morbidade na população em geral. Vários fatores de risco, associados entre si ou isoladamente, têm sido identificados como responsáveis pelo desenvolvimento desta patologia. Hipertensão arterial, hiperlipidemia, tabagismo, diabetes mérito, obesidade, estresse, sedentarismo, e história familiar estão entre os mais importantes ^{1,9}. Níveis elevados de colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e lipoproteína (a) (Lp(a)), como também níveis diminuídos de lipoproteína de alta densidade (HDL-C) estão fortemente associados com uma elevada incidência de DCV e, portanto, têm sido considerados os fatores de risco mais relevantes para esta doença.

A dosagem de lipoproteínas pode ser usada no auxílio da prevenção, diagnóstico e tratamento das doenças cardiovasculares e o HDL-C é considerado um fator de risco independente para DCV ⁷. Essa lipoproteína de alta densidade é rica em apolipoproteínas (Apo), sendo 90% Apo A₁ e A₂. Sua composição geral é de 50% de proteínas, 30% de fosfolipídios, 10 a 20% de colesterol livre ou esterificado e 5% de triglicerídeos (TG). HDL-C é subdividido em HDL₂ e HDL₃, sendo que o primeiro é mais rico em Apo A₁ ¹⁶. Há uma forte correlação inversa entre o risco para DCV e HDL₂ e Apo A₁ que transportam colesterol das células. Ao contrário do LDL-C, que é associado com o aumento do risco de DCV quando as concentrações plasmáticas estão elevadas (valores > 130 mg/dl), o HDL-C protege o organismo contra esta patologia ⁶.

O *National Cholesterol Education Program* (NCEP) ⁷ inclui a dosagem de HDL-C no estágio inicial de triagem, junto com a dosagem de CT, para o diagnóstico e tratamento da hipercolesterolemia. Concentrações séricas de HDL-C ≤ 35 mg/dl aumentam o risco individual de DCV, enquanto que concentrações de HDL-C ≥ 60 mg/dl são consideradas como fator de risco negativo. Além de ser considerado como um

fator de risco independente, a concentração de HDL-C é usada, juntamente com CT e TG, para calcular a concentração de LDL-C através da equação de Friedewald na prática clínica ⁸. LDL-C está fortemente associado com o risco cardiovascular e é utilizado para monitorar terapias no tratamento da hipercolesterolemia.

Por estas razões, os métodos para dosagem de HDL-C devem ser precisos, exatos, rápidos e de fácil execução. Na rotina, a maioria dos laboratórios clínicos utiliza o método para dosagem de HDL-C baseado em dois passos: primeiro ocorre a precipitação química seletiva das lipoproteínas que contêm Apo B (VLDL, IDL, LDL e LP(a)) e subsequente sedimentação do precipitado por centrifugação; a seguir, ocorre a quantificação do HDL-C como colesterol remanescente no sobrenadante ¹⁷. Embora eficiente, essa técnica é trabalhosa devido a necessidade de pré-tratamento da amostra. Grandes volumes de amostra e reagentes são necessários e a técnica sofre interferência dos TG.

Estes fatos levaram à busca de novos métodos para serem empregados na rotina dos laboratórios clínicos ^{11,13,14}. O ensaio homogêneo direto do HDL-C, recentemente lançado no mercado, tem a vantagem de eliminar o pré-tratamento das amostras facilitando assim a completa automação nas dosagens. Este método baseia-se na utilização de um poliânion que forma complexos estáveis com a superfície de LDL, VLDL e quilomícrons. Os complexos formados com as partículas de HDL são instáveis e se solubilizam pela ação de um detergente, permitindo a sua reação com as enzimas e, conseqüentemente, a quantificação do colesterol. A interferência de TG e bilirrubina pode ser diminuída e o volume de amostra e tempo de reação também é significativamente menor.

Os objetivos deste estudo foram: 1) comparar o método convencional para a dosagem do HDL-C por precipitação, de uso corrente na Unidade de Bioquímica do

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), com três novos *kits* empregando o método homogêneo direto, recentemente disponíveis no mercado; 2) avaliar se os novos *kits* atingem as metas preconizadas pelo NCEP para 1998; e 3) comparar a eficácia dos novos *kits* na classificação dos pacientes pelos pontos de corte do NCEP ($\text{HDL-C} \leq 35 \text{ mg/dl}$ e $\text{LDL-C} \geq 130 \text{ mg/dl}$).

MATERIAL E MÉTODOS

Análise Bioquímica

Durante o período de agosto e novembro de 1997, 360 amostras de soro de pacientes internados e ambulatoriais do HCPA, que foram enviadas ao laboratório para dosagem de HDL-C, foram selecionadas, ao acaso, para participarem deste estudo. As amostras foram coletadas em tubos a vácuo sem aditivos e foram dosadas entre um a dois dias após a coleta.

HDL-C foi dosado através de três diferentes *kits* comerciais pelo método direto (120 amostras para cada *kit*) em um autoanalisador Selectra 2 (Merck®), programado conforme instruções dos respectivos fornecedores (Labtest® [L, Labest Diagnostica, Brasil], DiaSys® [D, Diagnostica System International, Alemanha] e Boehringer-Mannheim® [BM, Alemanha]). Em paralelo, HDL-C foi dosado pelo método de precipitação (360 amostras) usado na rotina do laboratório. Detalhes dos métodos utilizados neste estudo estão descritos na Tabela 1.

CT e TG séricos foram dosados no autoanalisador Mega (Merck®) pelos métodos CHOD-PAP e GPO-PAP (Merck®), respectivamente.

LDL-C foi calculado pela equação de Friedewald nas amostras em que a concentração de TG < 400 mg/dl⁸.

Os soros comerciais Qualitrol HSN e HSP (Merck®) e um *pool in house* de soro equino foram usados como controles internos para todos os métodos acima citados.

O laboratório é filiado ao Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ) da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC), com ótimo aproveitamento.

Pacientes foram classificados conforme recomendações do NCEP¹ usando os valores de HDL-C pelo método por precipitação; a seguir, os mesmos foram

reclassificados usando os valores de HDL-C encontrados com os diferentes *kits*. A eficiência na classificação dos pacientes foi comparada, considerando a classificação pelo método de precipitação convencional como critério padrão.

Comparação dos Métodos

A maneira ideal de proceder a avaliação de um novo método é a sua comparação com o método de referência, neste caso, a ultracentrifugação (UC) ¹⁷. Por ser um método que necessita aparelhos sofisticados, este não está disponível para a grande maioria dos laboratórios. Este estudo usa como critério padrão as dosagens de HDL-C pelo método por precipitação e não UC, portanto a comparação entre os métodos permitirá decidir sobre a possibilidade de substituição do método convencional pelo método direto dentro da rotina laboratorial da Unidade de Bioquímica do HCPA.

Análise Estatística

O coeficiente de Pearson foi empregado para avaliar a existência de correlação quando necessário. O nível de significância adotado foi de 5% ¹².

A comparação entre os métodos diretos e o método de precipitação foi feita através da medida da concordância ². Devido à correlação ser uma ferramenta estatística para avaliar a associação entre métodos e não a concordância entre eles, o uso das diferentes formas do gráfico de Bland e Altman ^{4,10} torna-se útil pois permite a identificação de tendências e a avaliação de possíveis erros entre os métodos de forma simplificada e prática. Dois métodos são considerados em concordância quando as diferenças não são clinicamente importantes e os resultados obtidos pelos dois métodos não são significativamente diferentes e eles podem ser usados inter-cambiadamente.

As diferenças, médias, desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) foram calculados através do programa *Microsoft Excel*®, versão 6.0. Os testes de correlação e de regressão linear foram realizados através do programa *Graphpad Instat*®, versão

2.04. O CV intraensaio foi determinado analisando um *pool* de soro dosado 20 vezes em uma mesma corrida da análise e o CV interensaio foi determinado analisando o *pool* de soro eqüino, usado como controle interno, 10 a 20 vezes, em dias diferentes, para cada um dos métodos utilizados neste estudo. O erro total (ET) para cada método foi calculado como ³.

$$ET = | \text{Valor encontrado} - \text{Valor verdadeiro} | + 1.96 \text{ dp}$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo estão sumarizados nas tabelas que seguem. A média do CT das amostras analisadas foi de 229,2 mg/dl ($\pm$ 39,5 mg/dl, DP). A mediana dos valores de TG foi 132 mg/dl.

Os três kits apresentaram uma alta correlação com o método precipitado convencional. Ao estimar os parâmetros de regressão linear, observou-se que os valores da intercepção do y apresentaram-se relativamente elevados, havendo um desvio significativo da linha de identidade para todos os kits, e um conseqüente erro positivo.

Uma das possíveis causas da geração de resultados elevados pode ser um bloqueio incompleto de quilomícrons, VLDL e LDL pelo poliânion, deixando que as enzimas do método CHOD-PAP reajam com essas frações ¹³. Outro motivo a ser considerado é a calibração, a qual pode superestimar os valores de HDL-C para os ensaios homogêneos ¹¹.

Conforme as recomendações do NCEP ¹⁷, todos os métodos encontram-se dentro dos limites de erro preconizados para 1998.

Nauck e colaboradores ¹³, citam como valores desejados de CVs intra e inter-ensaio, de 1,6 a 4,5% e 0,9 a 3,1%, respectivamente. Nenhum dos métodos analisados atingiu estes CVs.

Para melhor classificar os pacientes, o clínico deve levar em consideração, além dos CVs e do erro total, a existência da variação biológica nos valores de HDL-C dos pacientes ^{5,15}, sendo recomendada a realização de, no mínimo, duas dosagens com intervalo de duas semanas. Esta variação representa cerca de 7% do erro total ¹⁷.

As médias das diferenças entre os métodos homogêneos direto e o precipitado variaram de 0,56 a 7,88 mg/dl. A média das diferenças foi mais elevada para o kit M, representando 21,25%, enquanto que para o BM foi 7,9% e para o L, 2,15%. Quando

avaliamos a concordância através do gráfico de Bland e Altman (Figura 1), verificamos que L apresentou a melhor concordância com o método precipitado.

Estudos realizados em diferentes países por órgãos de reconhecimento internacional têm confirmado a importância de baixos valores de HDL-C (≤ 35 mg/dl) como fator de risco para DCV ⁹. Em pacientes com colesterol total elevado (≥ 200 mg/dl), os níveis de HDL-C são de grande importância na decisão da conduta a ser adotada pelo médico (dieta, exercícios ou medicamentos). Por este motivo, analisamos a possibilidade de mudança de faixa de classificação dos pacientes pelo novo método, e verificamos que as dosagens feitas com o *kit* da L trouxeram menos mudanças. Este aspecto é de extrema importância na substituição de métodos e indica a necessidade de reavaliação dos pacientes.

Quando o LDL-C foi calculado pela equação de Friedewald, utilizando-se os dados de HDL-C obtidos pelos três *kits*, a classificação dos pacientes segundo o valor de corte de 130 mg/dl (NCEP) não foi alterada quando comparada com os valores de LDL-C calculados com os dados do método precipitado.

Os *kits* para o método direto apresentam um custo mais elevado do que o precipitado. Entretanto, deve-se levar em conta que o método direto requer a utilização de menos equipamentos e de um menor tempo de mão-de-obra especializada, o que representa uma redução no custo final.

CONCLUSÕES

Os *kits* para dosagem direta de HDL-C, analisados neste estudo, apresentaram-se dentro dos limites limites de erro preconizados pelo NCEP para 1998. Entretanto, existe uma tendência a fornecerem resultados elevados em relação ao método precipitado; desta maneira, estudos de comparação com o método de referência (ultracentrifugação) se fazem necessários para a obtenção de resultados definitivos. A substituição de métodos pode ser feita, sendo importante alertar o clínico sobre possíveis erros de classificação em pacientes *borderline*.

O *kit* L apresentou a melhor concordância com o método de precipitação, classificou melhor os pacientes de acordo com as metas preconizadas pelo NCEP para 1998 e apresentou o menor custo.

AGRADECIMENTOS

À Unidade de Bioquímica do HCPA pela ajuda na obtenção de amostras e resultados. Aos fornecedores que gentilmente cederam os diferentes *kits* de HDL-C direto para testes. Este trabalho foi apresentado à banca de avaliação da disciplina de Estágio em Análises Clínicas, Faculdade de Farmácia, UFRGS, para obtenção do diploma em Análises Clínicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **American Diabetes Association Consensus Statement:** Detection and management of lipid disorders in diabetes. *Diabetes Care*, 1993; 16 (Suppl.2):106-112.
2. **Altman, D. G.** Practical statistics for medical research. London: Chapman & Hall, 1991; 14:396-403.
3. **Bachorik, P. S., Ross, J. W.** National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. *Clin Chem*, 1995; 41:1414-1420.
4. **Bland, J. M., Altman, D. G.** Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 1986; i:307-310.
5. **Bookstein, L., Gidding, S.S., Donovan, M., Smith F.A.** Day-to-day variability of serum cholesterol, triglyceride, and high-density lipoprotein cholesterol levels. *Arch Intern Med*, 1990, 150:1653-1657.
6. **Cobbe, S. M., Shepherd, J.** Cholesterol reduction in the prevention of coronary heart disease: therapeutic rationale and guidelines. *Br Heart J*, 1993; 69 (Suppl.):63-69.
7. **Expert Panel on the detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults.** Summary of the second report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on the detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). *JAMA*, 1993; 269: 3015-3021.
8. **Friedewald, W. T., Levy, R. I., Fredrickson, D. S.** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, 1972; 18:499-502.

9. **Hirata, R. D. C., Hirata, M. H.** Diagnóstico laboratorial das hiperlipoproteinemias. Rev. Laes & Haes, 1997; 129: 128-144.
10. **Hollis, S.** Analysis of method comparison studies. JIFCC, 1997; 9(1):9-11.
11. **Huang, Y. C., Kao, J. T., Tsai, K. S.** Evaluation of two homogeneous methods for measuring high-density lipoprotein cholesterol. Clin Chem, 1997; 43:1048-1055.
12. **Kaplan, L. A., Pesce, A. J.** Quimica Clinica. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana S.A., 1986.
13. **Nauck, M., März, W., Haas, B., Wieland, H.** Homogeneous assay for direct determination of high-density lipoprotein cholesterol evaluated. Clin Chem, 1996; 42:424-429.
14. **Nauck, M. & cols.** Multicenter evaluation of a homogeneous assay for HDL-Cholesterol without sample pretreatment. Clin Chem, 1997; 43:1622-1629.
15. **Rotterdam, E.P., Katan, M.B., Knulman, J.T.** Importance of time interval between repeated measurements of total or high-density lipoprotein cholesterol when estimating an individual's baseline concentrations. Clin Chem, 1987, 33:1913-1915.
16. **Sannazzaro, C. A. C.** Arteriosclerose no diabetes. RBAC, 1994; 26:17-21.
17. **Warnick, G. R., Wood, P. D.** National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of high-density lipoprotein cholesterol: Executive Summary. Clin Chem, 1995; 41:1427-1433.

Tabela 1: Métodos utilizados para a dosagem de HDL-C no soro.

Fornecedor	Tipo de Método	Reagentes*
Labtest®	homogêneo direto	Ác. fosfotúngstico e MgCl ₂ / Polioxietileno lauril éter
DiaSys®	homogêneo direto	Ác. fosfotúngstico e MgCl ₂ / detergente
Boehringer-Mannheim®	homogêneo direto	α-ciclodextrina e dextran sulfato/ PEG
Analisa®	precipitado	Ác. fosfotúngstico e MgCl ₂

*O método de CHOD-PAP é usado para determinar HDL-C remanescente em todos os métodos.

Tabela 2: Correlação e concordância entre os métodos para dosagem de HDL-C.

		Regressão Linear [†]		95 % dos Limites de Concordância		
Métodos		Inclinação	Intercepção		(d ± 2DP)	
	n			r [*]	mg/dl	% [‡]
BM	120	0,754	12,48	0,707	2,27 ± 15,42	7,9 ± 40,10
L	120	0,881	5,52	0,818	0,56 ± 12,30	2,15 ± 33,8
D	120	1,00	7,87	0,940	7,88 ± 10,32	21,25 ± 30,6

[†] x = método precipitado convencional, * p < 0,0001, [‡] Erro relativo = porcentagem da diferença entre os métodos homogêneos direto em relação ao método precipitado.

Tabela 3: Precisão analítica dos métodos usados para dosar HDL-C.

Métodos	Precisão (%)			Erro Total (%)
	Intra-ensaio	Inter-ensaio	Total*	
BM	5,2	3,8	6,4	7,2
L	4,3	5,8	7,2	8,7
M	2,5	3,6	4,4	5,8
Precipitado	3,4	4,6	5,7	7,9

* $CV^2_{TOTAL} = CV^2_{INTRA} + CV^2_{INTER}$

Tabela 4: Porcentagem de pacientes com HDL-C $\leq$ 35 mg/dl identificados pelos diferentes métodos em comparação com pacientes classificados pelo método precipitado (critérios adotados conforme NCEP).

CT (mg/dl)	BM	L	M
200-239	55%	65%	17%
> 240	50%	100%	20%

Tabela 5: Classificação dos pacientes pelos valores de LDL-C calculados pelos três *kits* em relação aos valores calculados com o método precipitado (critérios adotados conforme NCEP).

LDL-C (mg/dl)	BM	L	M
130-159	91%	94%	107%
≥ 160	102%	102%	82%

Figure 1: Concordância entre os métodos diretos e o método precipitado (% erro relativo).

PARASIToses INTESTINAIS EM ESCOLARES DO POVOADO SANTANA DOS FRADES, PACATUBA (SE) *

Adriana Leila Vieira Mello ¹ & Anna Klara Bohland ²

RESUMO - Com a finalidade de descrever a prevalência de parasitoses intestinais segundo características epidemiológicas e ambientais, foram analisadas 26 amostras fecais de crianças de ambos os sexos, com idade compreendida entre 7 e 13 anos, que freqüentavam a Escola Estadual Nossa de Senhora Santana, sediada no Povoado Santana dos Frades, zona rural do Município de Pacatuba (SE). Os métodos diagnósticos empregados foram os de Hoffman, Pons & Janer e Ritchie modificado.

Das amostras estudadas, 96,2% apresentaram-se positivas. Destacaram-se infecções por: *Ancilostomídeos* (80,8%); *Ascaris lumbricoides* (50,0%); *Trichuris trichiura* (30,8%); *Entamoeba coli* (61,5%). Dos casos, 80,8% eram poliparasitados. Com relação às características ambientais em que vive a população da localidade, foi observado que 89,7% dos domicílios não possuíam água com canalização interna e apenas 4,8% possuíam instalações sanitárias. Conclui-se que a alta prevalência de parasitoses intestinais esteja relacionada às precárias condições ambientais em que vivem estas crianças.

UNITERMOS - enteroparasitoses, escolares

ABSTRACT – *Aiming to describe the prevalence of intestinal parasites, according to epidemiological and enviromental characteristics, there were*

* Trabalho derivado da Monografia de conclusão de Curso de Graduação em Ciências Biológicas – Modalidade Médica, apresentada no CCBS da Universidade Tiradentes (UNIT), em 1998.

¹ Biomédica do Laboratório de Análises Clínicas da Fundação de Beneficência do Hospital de Cirurgia – Aracaju – SE.

² Professora do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. UNIT - Aracaju – SE.

analysed 26 schoolchildrens, both sex, from 7 to 13 years old, at the “Nossa Senhora de Santana” School, locality in Santana dos Frades Village (Pacatuba, Sergipe, Brasil). The sample were examined by Hoffman, Pons & Janer and modified Ritchie techniques. The presence of intestinal parasites was 96.2%: Ancylostomidea (80.8%); Ascaris lumbricoides (50.0%); Trichuris trichiura (30.8%); Entamoeba coli (61.5%). Multiple infecctions were in 80.8%. The enviromental characteristics showed that 89.7% of the homes hadn’t a internal canalization of water suply, and only 4.8% had sanitary instalations. The results can suggest that the high prevalence of intestinal parasites have been relationship with the lower enviromental conditions.

UNITERMS – *intestinal parasites, schoolchildrens.*

INTRODUÇÃO

Diversos estudos vem mostrando a melhoria das condições de morbidade na infância, entretanto também tem sido verificada uma desigualdade no padrão de distribuição das doenças ^{3, 4, 11}. As enteroparasitoses não fogem a esta regra e embora atinjam indivíduos de todas as idades, o grupo mais vulnerável é o de faixa etária mais baixa ¹.

Apesar dos avanços no tratamento, as parasitoses intestinais permanecem endêmicas em diversas áreas, tornando-se um importante problema de saúde pública, principalmente em áreas pobres onde são freqüentemente encontradas ¹¹, sendo sua prevalência considerada como um índice de desenvolvimento regional ^{1, 12}.

A alta freqüência das parasitoses intestinais tem sido relacionada às péssimas condições de vida social, econômica e cultural de populações que vivem à margem do saneamento básico, trabalho, habitação, nutrição, educação e serviços de saúde ^{1, 4, 11}. Porém, com a efetivação da

municipalização da saúde ⁸, bem como a instituição do programa de agentes de saúde e do programa de saúde da família, será possível o acesso dos bens e serviços de saúde às parcelas da população até então excluídas, o que contribuirá para a melhoria deste quadro. Entretanto, para a aplicação dessas medidas são necessários estudos epidemiológicos que indiquem as espécies de maior prevalência em determinada localidade ¹¹.

O presente trabalho tem como objetivo descrever a prevalência de parasitoses intestinais em escolares residentes no povoado de Santana dos Frades - Município de Pacatuba (SE), segundo características epidemiológicas e ambientais.

MATERIAL E MÉTODOS

Com a finalidade de descrever a prevalência das parasitoses intestinais em escolares, foram analisadas amostras fecais de 26 crianças matriculadas na primeira série do primeiro grau, na Escola Estadual Nossa Senhora de Santana, situada no Povoado Santana dos Frades, área rural do Município de Pacatuba (SE). O pequeno número de casos estudado foi devido ao difícil acesso à localidade e às dificuldades operacionais relacionadas à coleta, conservação e transporte do material.

Através do cadastro e identificação escolar ainda foram coletadas as seguintes informações: sexo, data do nascimento e endereço. As amostras fecais foram coletadas em recipientes apropriados, sem a utilização de laxativos ou purgantes, sob condições de higiene e livres de contaminações. A coleta foi feita em ambiente escolar, com o auxílio e a anuência dos pais ou responsáveis. Cada coletor foi devidamente identificado e em seguida, acondicionado em isopor contendo gelo e pó-de-serra e posteriormente enviado para o Laboratório Central de Biomedicina da Universidade Tiradentes, situado em Aracaju, onde foram examinadas simultaneamente

pelos métodos de Hoffman, Pons & Janer e Ritchie modificado ⁷. Os resultados foram enviados aos responsáveis pela criança, juntamente com o encaminhamento ao médico, que atende no Centro de Saúde, localizado na sede do município. Para a análise da situação ambiental do povoado foram utilizados os dados da FIBGE ^{5, 6} e de uma pesquisa realizada pela Prefeitura Municipal de Pacatuba, em 1997 ¹⁰.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Município de Pacatuba, localiza-se na Zona da Mata, ao norte do Estado de Sergipe, sendo a distância da capital 120 Km . A população do Município, para 1998, era de 12.707 habitantes ^{5, 6}, onde 19,6% viviam na zona urbana e 80,4% na zona rural ⁵. Localizado a 20 km da sede do município, o Povoado Santana dos Frades possuía uma população estimada de 1705 habitantes, em 1998 ^{5, 6}.

Das vinte e seis crianças examinadas, 53,8% eram do sexo masculino e, 46,2% do sexo feminino, a idade variou entre sete e treze anos, com média de 9,1 anos e desvio padrão de 1,7 anos. Todas as crianças residiam no povoado.

Do total de exames parasitológicos de fezes realizados, 96,2% foram positivos, sendo 7,7% para parasitas não patogênicos e 88,5% positivos para parasitas patogênicos (Tabela 1). Esse dado é próximo ao obtido por Nunes et al. ⁹, em escolares do município de Natal, no Rio Grande do Norte (90,1%) e por Almeida et al. ¹, em Planaltina, no Distrito Federal (94,6%). Entretanto foi superior a diversos estudos realizados no Sul e Sudeste do país ^{3, 11}.

Tabela 1. Prevalência de parasitoses intestinais em escolares do Povoado de Santana dos Frades - Pacatuba (SE), 1998.

Parasito	nº	%
Ancilostomídeos	21	80,8
<i>A. lumbricoides</i>	13	50,0
<i>T. trichiura</i>	8	30,8
<i>S. mansoni</i>	1	3,8
<i>G. lamblia</i>	3	11,5
<i>E. hystolitica</i>	1	3,8
<i>E. coli</i>	16	61,5
<i>I. butchilii</i>	7	26,9
<i>E. nana</i>	15	57,7

Os enteroparasitas mais freqüentes foram os Ancilostomídeos com 80,8% de prevalência, seguidos pelo *Ascaris lumbricoides* com 50,0% e pelo *Trichuris trichiura*, com 30,8%. A prevalência de parasitoses intestinais foi semelhante à descrita por Nunes et al.⁹. Entretanto, no presente estudo a ocorrência de ancilostomose foi 4 vezes maior e a de *T trichiura* foi a metade da descrita pelos autores.

Neste estudo apesar do número de observações ter sido pequeno, os resultados obtidos podem estar indicando tratar-se de área endêmica. Atribuiu-se a alta predominância dos geohelminthos à exposição das crianças ao solo contaminado, uma vez que apenas 4,8% dos domicílios apresentavam instalações sanitárias, sendo que dos 95,2% restantes, 81,7% não possuía escoadouro de fossa séptica, e freqüentemente as fezes eram depositadas diretamente no solo, pois apenas 21,9% dos domicílios possuía banheiros¹⁰.

O *Schistosoma mansoni* apresentou uma prevalência de 3,8%, inferior ao índice de infecção entre os escolares de Jaboticatubas, em Minas Gerais⁴ e as estimativas que indicam que 10% da população do país esteja infectada

Entre os protozoários patogênicos, a *Giardia lamblia* foi o mais comum, com um índice de infecção de 11,5%, seguido da *Entamoeba histolytica* com 3,8%, um valor inferior ao descrito em diversos estudos ^{1,4}.

A prevalência observada de *A. lumbricoides* e de *T. trichiura*, bem como dos protozoários, poderia ser explicada pelo fato de 89,7% da população que residia na localidade não possuía abastecimento de água com canalização interna, sendo que 65,9% utilizava-se de cacimba (reservatório de água cavado no solo) e 23,8% usava água de poços ou nascentes, que poderiam sofrer contaminações ¹⁰.

Do total de escolares (Tabela 2), 4 eram monoparasitados (15,4%), e 21 poliparasitados (80,8%). Estes valores são bem superiores aos obtidos por Cavalcanti Júnior et al. ² (51,2%) em crianças de 0 a 14 anos. Entretanto Almeida et al. ¹, também verificaram que 80,6% de crianças na idade escolar eram poliparasitadas.

Tabela 2. Distribuição (número e percentual) de escolares segundo o número de parasitos presentes nas amostras fecais. Santana dos Frades, Pacatuba, SE, 1998.

Nº de parasitos	Nº de escolares	%
0	1	3,8
1	4	15,4
2	3	11,5
3	4	15,4
4	8	30,8
5 e mais	6	23,1
Total	26	100,0

A Tabela 3 mostra as associações de parasitos encontrados nas amostras fecais das crianças. A combinação que apareceu em maior número, no que diz respeito a helmintos, foi de Ancilostomídeos com o *Ascaris lumbricoides* (12 vezes) e no que se refere à helmintos e protozoários, foi

Ancilostomídeos com *Entamoeba coli* (14 vezes). A presença de poliparasitismo é sugestiva de que as precárias condições de saneamento e a ausência de educação sanitária para a comunidade concorram para a manutenção deste quadro, concordando com diversos estudos ^{3, 9, 11}.

Tabela 3. Distribuição de parasitos presentes nas amostras fecais de escolares segundo a associação de espécies. Santana dos Frades, Pacatuba, SE, 1998.

Parasitos	Associação								
	Ancilostomídeos	<i>A. lumbricoides</i>	<i>T. trichiura</i>	<i>S. mansoni</i>	<i>G. lamblia</i>	<i>E. hystolitica</i>	<i>E. coli</i>	<i>I. butchilii</i>	<i>E. nana</i>
Ancilostomídeos	(21)	12	8	1	2	1	14	6	13
<i>A. lumbricoides</i>	-	(13)	7	1	1	1	9	3	9
<i>T. trichiura</i>	-	-	(8)	1	-	-	4	-	4
<i>S. mansoni</i>	-	-	-	(1)	-	-	-	-	-
<i>G. lamblia</i>	-	-	-	-	(3)	1	2	1	3
<i>E. hystolitica</i>	-	-	-	-	-	(1)	1	-	1
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	(16)	7	10
<i>I. butchilii</i>	-	-	-	-	-	-	-	(7)	5
<i>E. nana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	(15)

* Os valores entre parênteses referem-se ao total de casos por espécie.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As parasitoses intestinais nos escolares de Santana dos Frades mostraram-se endêmicas, e esta alta prevalência é devida à intensa contaminação do solo e da água, decorrente das desfavoráveis condições ambientais em que vivem estas crianças.

Devido ao estreito relacionamento entre o índice parasitário e o grau de educação é imprescindível que os órgãos competentes promovam ações com

a finalidade de melhorar as condições de saúde da população, através de medidas relativas à educação sanitária mostrando que mudanças nos hábitos poderiam diminuir consideravelmente a presença das parasitoses intestinais.

Outras medidas que poderiam ser tomadas para o controle e a profilaxia dessas infecções, estão relacionadas com a melhoria do saneamento ambiental. Acredita-se que com a efetivação da municipalização da saúde, sejam implementadas ações em nível local, no sentido de minimizar os componentes que concorrem para a manutenção do atual quadro epidemiológico.

AGRADECIMENTOS

À Prefeitura Municipal de Pacatuba, pelo fornecimento dos dados da pesquisa sócio-econômica, referentes ao Povoado de Santana dos Frades.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Almeida, I.S.** Estudo transversal de prevalência de *Giardia lamblia* e outros parasitas intestinais no Bairro Nossa Senhora de Fátima, Planaltina - DF. *Bras. Med.* 28(1-4):16 - 9, 1991.
2. **Cavalcanti Júnior, G.B.; Ribeiro, M.D.; Brito, T.N.S.; Araujo, M.C.P.E.; Medeiros, M.C.C. de** Frequência de parasitoses intestinal numa amostra da população infantil do Rio Grande do Norte. *Rev. Bras. Anál. Clín.* 19(4):75 - 6, 1987.
3. **Carneiro Filho, M.; Ferreira R.F.; Garcia C.E.** Incidência de enteroparasitas em crianças de Joinville - SC. *J. Bras. Med.* 67 (3) : 167 - 70, 1994.
4. **Cury, G.; Sales, P.G.O.; Reis, M.C.W.; Rego, V.M.; Arndt, A.V.; Souza Filho, C.B.A.; Moreira, H.B.; Abreu, M.S.; Leite, P.M.G.** Prevalência da Esquistossomose mansoni e de parasitoses intestinais em escolares da área rural do município de Jaboticatubas, MG, 1992-1993. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 27 (4) : 217 - 20, 1994.
5. **Fundação IBGE.** *Censo demográfico 1991: Dados do Arquivo do Universo*: Pacatuba. Aracaju, 1998 (10º Recenseamento Geral do Brasil, 1991).

6. **Fundação IBGE.** *Contagem da população: 1996.* v. 1. Rio de Janeiro, 1997.
7. **Moura, R.A.; Wado, C.S.; Purchio, A.; Almeida, T.V.de.** *Técnicas de Laboratório.* 3ª ed. São Paulo. Ed. Atheneu, 1994.
8. **Ministério da Saúde.** *Norma operacional básica do sistema único de saúde: NOB-SUS 96* , Brasília, 1997.
9. **Nunes, M.P.O.; Costa, M.S.G.; Nunes, J.F.I.; Silva, E.M.A.** Ocorrência de enteroparasitoses em escolares da Escola “Vilagram Cabrita” - Natal - RN. *Rev. Bras. Anál. Clín.* (4) : 121 - 22, 1995.
10. **Prefeitura Municipal de Pacatuba.** *Pesquisa sócio-econômica.* Pacatuba, 1998.
11. **Pupulin, A.R.T.; Guilherme A.L.F.; Falavigna, D.L.M.; Araújo, S.M.; Fukushigue,Y.** Uma tentativa de orientar comunidades escolares no controle de parasitoses. *Rev. Bras. Anál. Clín.* 28 (3) : 130 - 33, 1996.
12. **Pessoa, S. B.; Martins, A.V..** *Parasitologia médica.* 11ª ed. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan, 1988.

VALORES DE REFERÊNCIA DAS COLINESTERASES EM PLASMA E ERITRÓCITOS* (*Reference values of plasma and erythrocyte cholinesterases*)

SIQUEIRA, M. E. P. B.(1); FREITAS, M. L.(2); ESTEVES, M. T. C. (1)

ABSTRACT

The blood cholinesterase activities are used as bioindicators of exposure to the organophosphates insecticides. The present study assayed the plasma and red cell cholinesterases activities from 101 healthy subjects, not exposed occupationally to anti cholinesterase substances, to establish reference values. The enzymatic activities were determined by the modified method of ELLMAN et al. To check the volunteer's health conditions, analysis of some biochemical and haematological parameters were performed. The mean values (95% confidence range) of the bioindicators were 8.8 $\Delta A/\text{min/mL}$ (8.4 – 9.3) and 54.9 $\Delta A/\text{min/mL}$ (52.9 – 56.9), respectively to plasma and erythrocyte activities. The results of this work can be used as reference levels to enzymatic activity when pre exposure individual values are not available, a common situation in cases of intoxication by organophosphates insecticides. No significant differences in the enzymatic activities were noted when the population was subdivided according to sex and age.

Key words: *Reference values. Plasma cholinesterase. Erythrocyte cholinesterase. Organophosphates insecticides.*

* Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas (Efoa). R. Gabriel Monteiro da Silva, 714. CEP 37130-000. Alfenas, MG
e-mail: marelisa@int.efoa.br

(1) Professores Adjuntos do Departamento de Análise Clínicas /Efoa

(2) Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq)

RESUMO

As atividades das colinesterases no sangue são utilizadas como bioindicadores na exposição aos inseticidas organofosforados. Neste trabalho foram estudadas as atividades da pseudocolinesterase plasmática (chE-P) e da acetilcolinesterase eritrocitária (chE-E) em 101 indivíduos considerados sadios, não expostos ocupacionalmente às substâncias anticolinesterásicas, para se estabelecer valores de referência destes indicadores. As atividades enzimáticas foram determinadas pelo método de ELLMAN e cols. modificado. Para atestar o estado de saúde dos voluntários, foram também realizadas análises de alguns parâmetros bioquímicos e hematológicos. Os valores médios (intervalo de confiança 95%) dos indicadores pesquisados foram de 8,8 $\Delta A/\text{min/mL}$ (8,4 – 9,3) e de 54,9 (52,9 – 56,9), respectivamente para a chE-P e a chE-E. Os resultados deste trabalho podem ser utilizados como de referência das atividades enzimáticas, quando valores de pré-exposição individual não forem disponíveis, situação comum, principalmente, em casos de intoxicação por inseticidas organofosforados. Não foi notada diferença estatisticamente significativa nos resultados quando a população foi subdividida de acordo com o sexo e a faixa etária. O uso do tabaco, o local de morada e o tipo de trabalho, entre outros, não afetaram os níveis enzimáticos da colinesterases.

Palavras – chave: *Valores de referência. Colinesterase plasmática. Colinesterase eritrocitária. Inseticidas organofosforados.*

1. INTRODUÇÃO

Hoje em dia existem mais de 10.000 preparações de praguicidas disponíveis à venda no mundo e dentre estas preparações estão os organofosforados, que são, certamente, os mais utilizados no combate às pragas que infestam a lavoura e a pecuária (9). Outrossim, são os que têm provocado intoxicações nos trabalhadores que manipulam e aplicam estes produtos, sem o uso de equipamento de proteção adequado (4, 8, 9, 24).

As atividades das colinesterases em sangue são usadas como bioindicadores do grau de absorção de inseticidas organofosforados, compostos que inibem a atividade enzimática da acetilcolinesterase, provocando acúmulo de acetilcolina nas sinapses nervosas, o que causa uma “crise colinérgica” nos indivíduos intoxicados (2,11).

A diminuição da atividade da colinesterase eritrocitária (chE-E) é considerada uma resposta mais específica da exposição a compostos anticolinesterásticos de que a diminuição da atividade da enzima plasmática (chE-P), porque está melhor relacionada à atividade da acetilcolinesterase nas terminações nervosas (8, 9, 10, 15, 17). Muitos ésteres organofosforados inibem inicialmente a atividade da chE-P (3); entretanto este efeito não parece resultar em lesão. Assim, a determinação da chE-E representa um teste de *efeito*, enquanto que a enzima do plasma pode ser utilizada como indicador de *exposição* ou *dose interna* (2). Também se verifica diferenças na afinidade entre os inseticidas organofosforados e a chE-E e a chE-P; o paration metílico é inibidor mais potente da chE-E e o diclorvos da chE-P (11). Devido a variabilidade interindividual da atividade de colinesterases sanguíneas, recomenda-se suas determinações em período de pré-exposição ao praguicida organofosforado para que se possa avaliar a porcentagem de inibição ocorrida após a exposição (2, 3, 5, 10, 15, 17, 20). Entretanto, é freqüente a ocorrência de exposições e/ ou de intoxicações em indivíduos para os quais se desconhece a atividade normal das

enzimas; suas determinações em indivíduos não-expostos ocupacionalmente aos anticolinesterásticos pode auxiliar na avaliação das inibições enzimáticas, uma vez que os limites biológicos de exposição e os valores usados para auxiliar a conduta médica no tratamento e prognóstico do paciente intoxicado são fornecidos em % de inibição enzimática (11).

Entre os vários métodos que são propostos para a determinação das atividades enzimáticas, o espectrofotométrico publicado por ELMAN e cols. (6) tem sido o mais recomendado, com ou sem modificações, visto sua simplicidade reprodutibilidade (11, 13, 21, 24, 25).

A determinação de valores de referência das colinesterases plasmática e eritrocitária, assim como o estudo de algumas variáveis fisiológicas e ambientais que pudessem afetar estes valores, em indivíduos saudáveis, não-expostos aos anticolinesterásticos, constituiu o objetivo do presente trabalho.

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1. Material

2.1.1. População estudada

O estudo foi realizado com 101 indivíduos saudáveis, de diferentes sexos (36 homens e 65 mulheres), e faixas etárias (15 a 60 anos). As amostras de sangue foram colhidas sem sistemas à vácuo, heparinizados. Cada voluntário respondeu um questionário para levantamento de dados considerados relevantes à interpretação dos resultados, tais com idade, local de moradia e de trabalho, tipo de alimentação e de ocupação profissional, uso de medicamentos, bebidas alcóolicas, tabaco, entre outras.

2.1.2. Reagentes e aparelho

Tampão fosfato pH $7,4 \pm 0,2$; iodeto de acetiltiocolina (sol. 17,4 g/L) e ditiobisnitrobenzoato (3,96 g/L); espectrofotômetro de duplo feixe, Micronal-B 493, controlado por microcomputador.

2.2. Método

As atividades das colinesterases plasmáticas e eritrocitária foram determinadas pelo método de ELLMAN e cols. (6), com modificações. O método se baseia em que a *enzima do material biológico, ao hidrolizar a acetiltiocolina, origina a tiocolina a qual reage com o ditiobisnitrobenzoato (DTNB), resultando na formação de complexo de cor amarela.* A estimativa da velocidade de reação é usada como medida da atividade colinesterásica da amostra.

A técnica usada foi a seguinte:

- colher 5 mL de sangue em sistema à vácuo, heparinizado;
- centrifugar 2 mL e separar o plasma;
- pipetar 10 μ L de sangue total (40 μ L para o plasma) e 9 mL de solução tampão para tubo de ensaio de 15 mL; homogeneizar;
- passar 3 mL da suspensão para cubeta de referência e outros 3 mL para a cubeta de amostra;
- adicionar em ambas as cubetas, 100 μ L de sol. de DTNB; homogeneizar e acertar 100% da transmitância;
- adicionar 50 μ L de substrato (sol. de acetiltiocolina) à cubeta da amostra e disparar o cronômetro; homogeneizar por inversão;

- fazer a primeira leitura após 30 segundos e a segunda após 3 minutos da primeira ($\lambda = 430 \text{ nm}$).

As atividades colinesterásticas (em $\Delta A / \text{min} / \text{mL}$) são calculadas como abaixo:

Para o *sangue total* (chE-T): $\Delta A \times 100$; Para o *plasma* (chE-P): $\Delta A \times 25$; Para o *eritrócito* (chE-E): $100/\text{Ht} [(\text{chE-T}) - (\text{chE-P} \cdot 1 - \text{Ht}/100)]$. Onde, ΔA = variação da absorvância e Ht = hematócrito.

Como a reação é feita a temperatura ambiente, cada atividade deve ser corrigida por um fator de correção, por exemplo, a 20°C , o f_c é de 1,225.

2.3. Precisão do método

Para saber se o tempo decorrido entre a colheita do sangue e a separação do plasma afeta as atividades colinesterásticas, realizou-se ensaios, em sextuplicata, para amostras centrifugadas após 90 min e após 180 min da colheita. As variações foram medidas através dos coeficientes de variação obtidos.

A precisão interensaio do método foi avaliada em 2 amostras, analisadas dia-após-dia, por até 72 e 120 h, respectivamente, de suas colheitas.

3. RESULTADOS

A tabela 1 denota os resultados dos coeficientes de variação encontrados nas amostras centrifugadas após 90 e 180 min da colheita.

(tabela 1)

A tabela 2 mostra os resultados da precisão interensaio de duas amostras analisadas dia-após-dia, por até 72 e 120 h, respectivamente, após sua colheitas.

(tabela 2)

Os valores de referência, expressos como valores médios $\pm$ desvio padrão, intervalo de confiança 95% e valor de referência inferior (VRI), para as atividades colinesterásicas, são mostrados na Tabela 3.

(tabela 3)

A Figura 1 mostra os valores das atividade enzimáticas quando a população foi subdividida de acordo com o sexo.

(figura 1)

A Figura 2 denota as atividades das colinesterases de acordo com a faixa etária da população estudada.

(figura 2)

As Figuras 3 e 4 mostram a distribuição dos valores encontrados, respectivamente, para a colinesterase plasmática e eritrocitária.

(figuras 3 e 4)

Para se atestar o estado de saúde da população foram realizados determinações de alguns parâmetros bioquímicos e hematológicos pelos métodos usados rotineiramente pelo Laboratório Central de Análises Clínicas da Efoa. As Tabelas 4 e 5 mostram os resultados obtidos.

(tabelas 4 e 5)

4. DISCUSSÃO

Em análises rotineiras é importante conhecer a estabilidade dos bioindicadores na amostra, o que vai ou não permitir seu armazenamento para posterior análise. As condições necessárias ao seu transporte são também de relevante importância prática para o analista, notadamente em situações em que a colheita das amostras é realizada em locais distantes dos laboratórios, como ocorre na avaliação da exposição de trabalhadores rurais expostos aos inseticidas.

Assim, o estudo do tempo necessário à centrifugação do sangue após sua colheita, mostrou menores variações quando o plasma é centrifugado até noventa minutos após a retirada do sangue (Tab. 1); após este tempo, o coeficiente de variação para a chE-P foi superior a 10%. A chE-E não foi significativamente alterada nos tempos estudados. MINEAU e cols. (18) aconselham a separação do plasma tão logo quanto possível após a colheita do sangue. Acredita-se que, por difusão ou hemólise dos eritrócitos durante a conservação, a colinesterase intracelular passe para o plasma, dando resultados superestimados de atividade enzimática neste meio. MARQUES & SIQUEIRA (16), obtiveram CV menores que 10% para a chE-P, em amostras centrifugadas até 120 min após a colheita do sangue.

Os ensaios de precisão intersérie mostraram que as amostras, após a separação do plasma, podem se armazenadas por até 72 horas antes da realização das análises (Tab. 2), sem que haja variações significativas das atividade enzimáticas. Quando armazenado a 5° C, por 5 dias, ou a - 16° C por até 14 meses, o plasma parece não mostrar perdas significativas da atividade enzimática (10, 13, 18). Não foi possível estudar a exatidão do

método pela não disponibilidade no mercado de material certificado (sangue ou plasma) para as atividades colinesterásicas.

A população mostrou-se adequada ao objetivo do trabalho, não tendo sido verificadas alterações, hematológicas e bioquímicas de acordo com os exames realizados (Tab. 5 e 6), o que confirma as informações fornecidas pelo voluntário relativas ao seu estado de saúde.

Na avaliação de resultados de trabalhadores expostos ocupacionalmente às substâncias químicas, considerados como um grupo, aconselha-se a comparação das distribuições dos valores para se estabelecer se ocorre ou não exposição aumentada aos xenobióticos (1). Na população estudada, verificou-se significativa variabilidade interindividual (Fig. 3 e 4), principalmente na atividade da enzima no plasma, notando-se distribuição mais uniforme para a chE-E. Vários autores se referem à estas variações ocasionadas por inúmeros fatores, dentre eles: anemias crônicas, carcinoma, hepatite, câncer hepático, febre reumática, queimaduras, uremia, hipercolesterolemia, má nutrição, nefropatias, infartos, uso de clorpromazina e de derivados fenotiazínicos (4, 5, 8, 10, 11, 12, 14, 17, 19, 20, 23). Assim, o uso destes valores para cotejar resultados de exposição baixa aos inseticidas organofosforados, pode não permitir a identificação da exposição. Entretanto, em exposição de moderada a elevada, o deslocamento da distribuição das atividades enzimáticas no grupo exposto para a direita, provavelmente, permitirá melhor definição do grupo.

As atividades de referência, expressas como valores médios, intervalo de confiança 95% e valor de referência inferior, podem ser usadas na comparação de resultados individuais das atividades, em situação de intoxicação do indivíduo (exposição de moderada a elevada), quando os valores de pré-exposição não são disponíveis. A

atividade da chE-E foi significativamente mais elevada de que a chE-P, o que é esperado, especialmente, quando o substrato usado é a acetiltiocolina (2, 5, 9, 10).

Não foi detectada diferença significativa nos valores de referência das colinesterases sangüíneas entre homens e mulheres, o mesmo tendo sido observado nas diferentes faixas etárias. A literatura relata dados conflitantes sobre a influência do sexo nas atividades enzimáticas da colinesterases. RIEDER e cols. (19) encontraram diferenças significativas na chE-P de acordo com o sexo, o mesmo não tendo sido observado nos níveis da chE-E. VORHAUS e cols. (26) não detectaram diferenças relacionadas ao sexo em seu trabalho, como também SILVA e cols. (22) em trabalho realizado no Brasil. A atividade da chE-E mais baixa em mulheres relativamente aos homens, são ocasionadas, principalmente, por diferenças no hematócrito e se tornam insignificantes se os valores são expressos em relação à quantidade de eritrócito (2), o que também foi observado neste trabalho. ALCINI e cols. (2), demonstraram que a atividade colinesterásica plasmática de mulheres jovens equivale a 64-74% da atividade do homem; esta diferença tende a desaparecer com o avanço da idade.

Os demais fatores, como o local de moradia e de trabalho, a ingestão de medicamentos, o uso do tabaco, não afetaram, as atividades enzimáticas.

AGRADECIMENTO:

Os autores agradecem as farmacêuticas e técnicas do Laboratório Central de Análises Clínicas da Efoa, pelos exames hematológicos e bioquímicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AITIO, A. – Biological monitoring today and tomorrow. *Scand. J. Work Environm Hlth.*, 20: 46-58, 1994.
2. ALCINI, D. & cols. – Valutazioni di un metodo standardizzato su base europea per la determinazione della colinesterasi plasmatica ed eritrocitaria. *Med. Lav.*, 79: 42-53, 1988.
3. AREEKUL, S.; SRICHAIRAT, S.; KIRDUDON, P. – Serum and red cell cholinesterase activity in people exposed to organophosphate insecticides. *South. Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth.*, 12: 94-98, 1981.
4. BERNARD, P. & COCKER, F. – Biological monitoring of workers occupationally exposed to organophosphorus pesticides. *Pestic. Sci.*, 38: 315-322, 1993.
5. BROCK, A. & BROCK, V. – Plasma cholinesterase activity in a healthy population group with no occupational exposure to known cholinesterase inhibitors: relative influence of some factors related to normal inter- and intra – individual variations. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 50:401-408, 1990.
6. ELLMAN, G. L. & cols. – A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7: 88-95, 1961.
7. FAIRBROTHER, A. & cols. – Methods used in determination of cholinesterase activity.
3. IN: MINEAU, P. (ed) – *Cholinesterase – inhibiting insecticides*. New York, Elsevier, 1991.
8. FENGSHENG, H. E. – Biological monitoring of occupational pesticides exposure. *Occup. Environm. Hlth.*, 65: 69-76, 1993.

9. FAUSTINI, A. & cols. – Monitoraggio delle colinesterasi in lavoratori agricoli e commercianti esposti ad esteri fosforici e carbammati. *Med. Lav.*, 83: 135-145, 1992.
10. GAGE, S. C. – The significance of blood cholinesterase activity measurements. *Res. Rev.*, 20: 53-64, 1992.
11. GALLO, M. A. & LAWRYK, N. J. – Organic phosphorus pesticides. IN: HAYES, W. J. & LAWS, E. R. – *Handbook of pesticide toxicology*. New York, Academic Press, 1991. V. 2, p. 917.
12. HE, F. – Biological monitoring of occupational pesticides exposure. *Int. Arch. Occup. Environm. Hlth.*, 65: 569-576, 1993.
13. HEINS, M.; HEIL, W.; WITHOLD, W. – Storage of serum or whole blood samples? Effects of time and temperature on 22 serum analytes. *Eur. J. Clin. Chem. Biochem.*, 33: 231-238, 1995.
14. KING, E. S. J. & WHITTAKER, M. – Assay of cholinesterase in clinical chemistry. *Ann. Clin. Biochem.*, 16: 57-75, 1979.
15. LOTTI, M. – Cholinesterase inhibition: Complexities in interpretation. *Clin. Chem.*, 41: 1814-1818, 1995.
16. MARQUES, A. & SIQUEIRA, M. E. P. B. – *Determinação da atividade das colinesterases sanguíneas e de parâmetros bioquímicos e hematológicos em sangue de indivíduos expostos aos inseticidas organofosforado*. Trabalho monográfico do PET/Efoa. Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, 1994.
17. MASON, H. J. & LEWIS, P. J. – Intra – individual variation in plasma and erythrocyte cholinesterase activities and the organophosphate pesticides. *J. Soc. Occup. Med.*, 39: 121-124, 1989.

18. MINEAU, P. (ed) – *Cholinesterase – inhibiting insecticides*. New York, Elsevier, 1991.
p. 42.
19. RIEDER, J. A. e cols. – Plasma and red cells cholinesterase in 800 “healthy” blood donors. *J. Lab. Clin. Med.*, 50: 376-383, 1967.
20. SANS, P. e cols. – Red blood cells and total blood acetylcholinesterase and plasma cholinesterase in humans: observed variances. *Clin. Toxicol.*, 29: 81-90, 1991.
21. SILK, E. & cols. – Assay of cholinesterase in clinical chemistry. *Ann. Clin. Biochem.* 16: 57-75, 1979.
22. SILVA, Z. L. & cols. – Atividade da acetilcolinesterase de indivíduos não expostos a inseticidas fosforados. *Rev. Bras. Anal. Clin.*, 29: 16-18, 1997.
23. SIQUEIRA, M. E. P. B.; BORGES, E. L.; FERNÍCOLA, N. A. G. G. – Determinação de níveis normais de colinesterase plasmática e eritrocitária. *Rev. Saúde Pub.*, 12: 340-344, 1978.
24. STEPHEN, A. M. & cols. – Assessment of azinphos – methyl exposure in California. Peach Harvest Workers. *Arch. Environm. Hlth.*, 49: 289-296, 1994.
25. STOJAN, J. & PAVLIC, M. R. – The influence of na organosulfonate on the reaction between Ellman’s Reagent and thiocholine. *J. Anal. Toxicol.*, 18: 1994.
26. VORHAUS, L. J. & cols. – Serum cholinesterase in health and disease. *Am. J. Med.*, 14: 707-729, 1953.

Tabela 1- Coeficiente de variação (CV%) obtidos para amostras de sangue (n=6) centrifugadas após 90 min (A) e após 180 min (B) da colheita do material.

colinesterase	% CV	
	A	B
plasma	7,2	28,5
eritrócito	7,1	5,6

Tabela 2 – Valores médios (x), desvio padrão (Sx) e coeficiente de variação (CV%) de atividade enzimáticas ($\Delta A/\text{min}/\text{mL}$) de amostras analisadas dia-após-dia até 3 dias (A) e 5 dias (B) após a colheita do sangue.

dias após colheita	plasma		eritrócito	
	A	B	A	B
1º	9,3	9,3	56,7	56,7
2º	11,2	11,2	51,4	51,4
3º	11,1	11,1	65,4	65,4
4º		10,0		41,9
5º		12,4		39,1
x	10,4	10,8	58,9	50,9
Sx	0,9	1,2	6,2	10,8
%CV	8,7	11,1	10,5	21,2

Tabela 3 – Valores médios ($\bar{x}$) $\pm$ desvio padrão (S_x), intervalo de confiança 95% (IC95%), intervalo experimental (IE) e valor de referência inferior (VRI) das colinesterases no plasma e no eritrócito na população total (n = 101)

colinesterase	$\bar{x} \pm S_x$	IE	IC95%	VRI*
plasma	8,8 $\pm$ 2,3	4,7-16,9	8,4-9,3	4,2
eritrócito	54,9 $\pm$ 9,9	36,6-84,3	52,9-56,9	35,1

* o valor de referência inferior é obtido pelo valor médio – 2 desvios padrão.

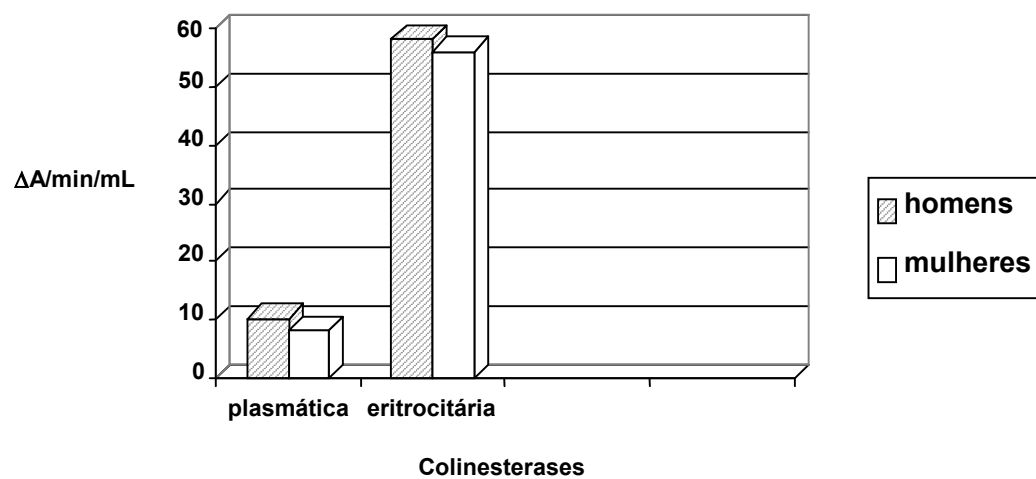


Figura 1. Valores de colinesterases plasmáticas e eritrocitária entre homens (n = 36) e mulheres (n = 65).

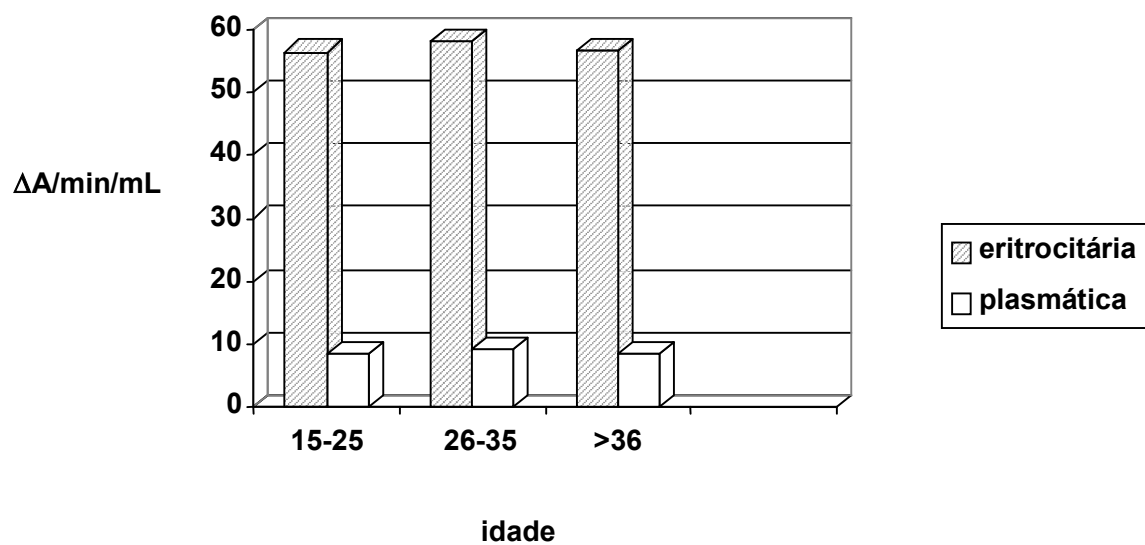


Figura 2. Valores médios da colinesterase plasmática e eritrocitária de acordo com a faixa etária da população.

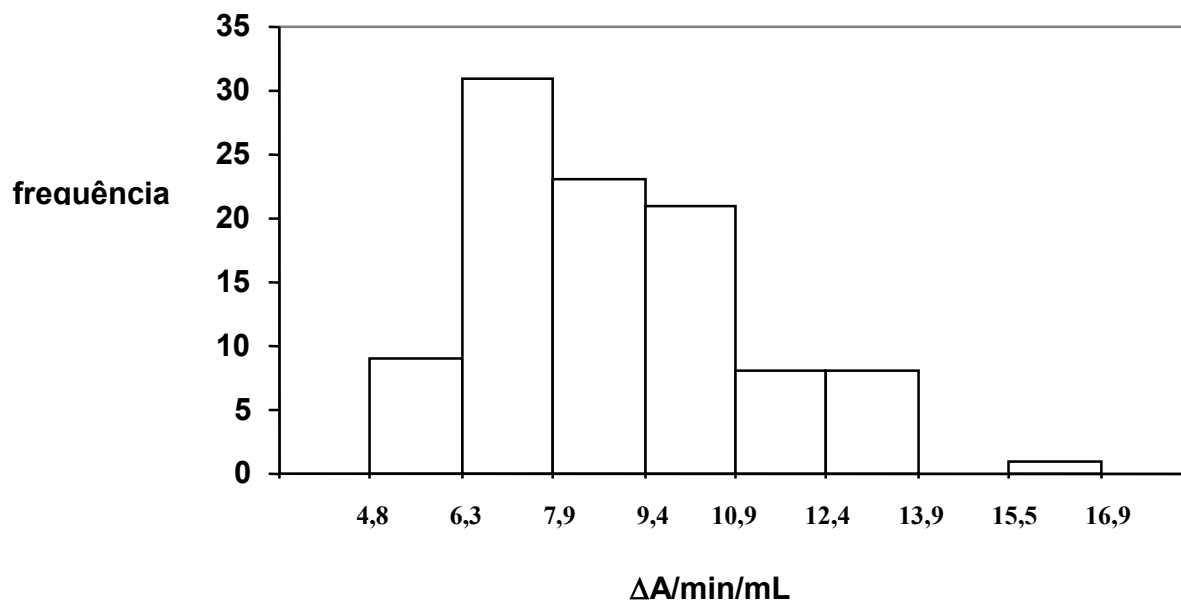


Figura 3 – Distribuição dos valores de colinesterase plasmática na população (n = 101)

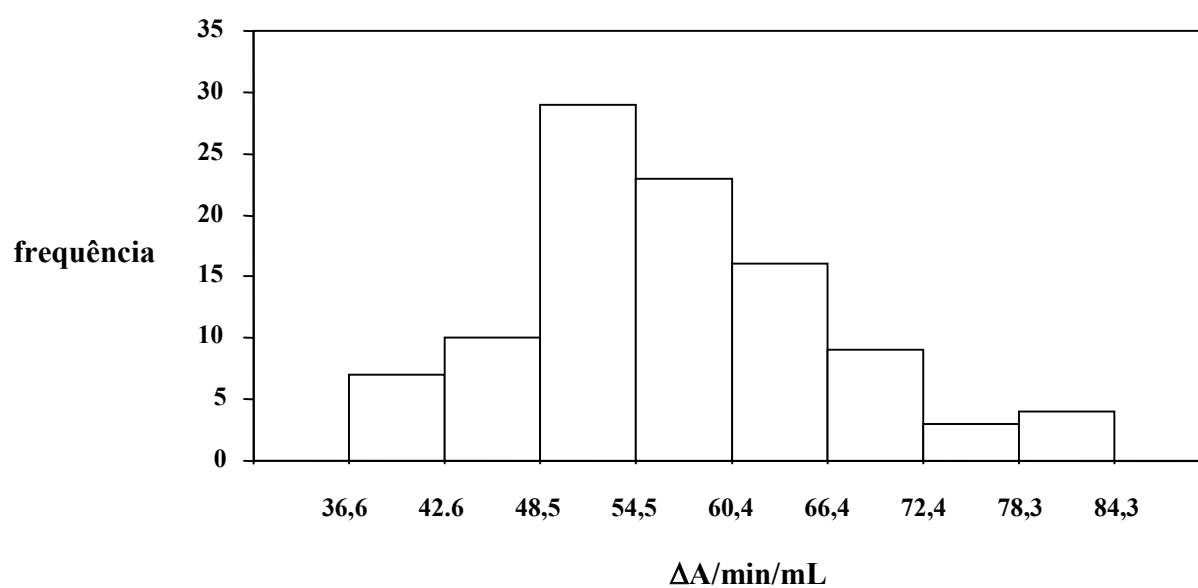


Figura 4 – Distribuição dos valores de colinesterase eritrocitária na população (n = 101)

Tabela 4 – Valores de glicose, colesterol total, creatinina, triglicerídeos, uréia e transaminases, expressos como média, intervalo de confiança 95% e desvio padrão.

parâmetro	valor de referência do método	média ± desvio padrão	intervalo de confiança 95%
glicose	70-110 mg/dL	83,6 ± 12,3	80,7 – 86,5
colesterol total	até 200 mg/dL	157,9 ± 31,1	150,6 – 165,2
creatinina	0,4 – 1,3 mg/dL	0,9 ± 0,2	0,8 – 0,9
triglicerídeos	10 – 170 mg/dL	99,3 ± 33,2	91,5 – 107,1
uréia	10 – 40 mg/dL	23,0 ± 7,0	21,3 – 24,7
AST*	4 – 36 U/mL	25,8 ± 8,7	23,6 – 27,9
ALT**	4 – 32 U/mL	26,2 ± 10,8	22,1 – 30,0

* AST – aspartato transaminase

**ALT – alanina transaminase

Tabela 5 – Valores de hemoglobina, hematócrito e índices hematimétricos: VGM, HGM, CHGM expressos como média, desvio padrão e intervalo de confiança 95%.

	valor de referência	média $\pm$ desvio	intervalo de
parâmetro	do método	padrão	confiança 95%
hemoglobina	15,5 $\pm$ 5%	14,2 $\pm$ 1,4	13,8 – 14,5
hematócrito	45 $\pm$ 5%	42,9 $\pm$ 3,5	42,1 – 43,7
VGM*	80 – 90 μ m	86,0 $\pm$ 0,3	85,9 – 86,1
HGM**	27 – 32 pg	26,8 $\pm$ 1,1	26,5 – 27,1
CHGM***	32 – 36%	32,5 $\pm$ 0,9	32,2 – 32,8

*VGM – Volume globular médio

**HGM – hemoglobina globular média

*** CHGM – concentração hemoglobínica globular média