

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA:
GASTROENTEROLOGIA
MESTRADO

**AVALIAÇÃO DA EXCREÇÃO FECAL DE GORDURA:
ESTUDO SOBRE O ESTEATÓCRITO E SUAS MODIFICAÇÕES E A
DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO FECAL DE COLESTEROL E
TRIGLICERÍDEOS**

IZABEL CRISTINA SCHANDER DE ALMEIDA

ORIENTADOR: PROF. DR. JARBAS RODRIGUES DE OLIVEIRA

CO-ORIENTADOR: PROF. ISMAEL MAGUILNIK

PORTO ALEGRE
1996

A447a Almeida, Izabel Cristina Schander de

Avaliação da excreção fecal de gordura estudo sobre o esteatócrito e suas modificações e a determinação da concentração fecal de colesterol e triglicérides / Izabel Cristina Schander de Almeida ; orient. Jarbas Rodrigues de Oliveira; co-orient. Ismael Maguilnik - Porto Alegre : UFRGS, 1996.

118 f.: il. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Medicina: Gastro - enterologia.

1. Fezes. 2. Gorduras. 3. Diagnóstico laboratorial. 4. Absorção intestinal

I. Oliveira, jarbas Rodrigues de. II. Maguilnik, Ismael. III. Título.

C.D.D. 616.07563

C.D.U. 616-074

Catálogo na fonte: Biblioteca FAMED/HCPA

A minha família, pelo apoio, paciência e,
acima de tudo, pelo amor.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Ismael Maguilnik, co-orientador deste trabalho, pelo exemplo profissional e pela amizade.

AGRADECIMENTOS

- Aos voluntários, que tão gentilmente concordaram em colaborar.
- À Profa. Elza Daniel de Mello, pela valiosa ajuda no início deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Sérgio Gabriel Silva de Barros, Coordenador do Curso de Pós-graduação em Gastroenterologia, pelo apoio sempre demonstrado.
- À colega Profa. Sandra M. G. Vieira, pelo apoio e pelas sugestões valiosas.
- Aos novos amigos feitos durante o período de trabalho no Laboratório de Bioquímica, na pessoa de seu chefe Bioquímico Gledison Gastaldo.
- À Bioquímica Carmen Pilla, pelos ensinamentos de Bioquímica e Informática.
- À Bioquímica Maria Luiza Brizolara, pela valiosa ajuda na realização deste trabalho.
- À Nutricionista Carmem Maria Francisco, pela ajuda com as dietas e seu cálculo.
- Ao Bioquímico Ricardo Brück, do Laboratório de Bioquímica do Instituto de Cardiologia, pelo Brij 35.
- Ao colega Vinicius D. da Silva, pela ajuda com as figuras e a Informática.
- Ao Prof. Dr. Alberto Rosa, pelo seu apoio, como chefe do Serviço de Medicina Interna do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, na realização do curso.
- À colega Nina Rosa de Menezes Pardo, modelo de chefe e amiga, da Emergência do Hospital São Lucas da PUC-RS, pelo apoio e amizade durante a realização de todo o curso.
- Aos demais colegas da Emergência do Hospital São Lucas da PUC-RS e do Serviço de Pronto Atendimento de Adultos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pela amizade e compreensão durante todo o curso.

- À colega Themis Zelmanovitz, pela colaboração e coleguismo durante todo o tempo.
- Às bibliotecárias Rosária Prenna Geremia e Mônica Borges pela ajuda com as pesquisas bibliográficas.
- A todos os membros do Grupo de Sistemas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pela grande ajuda, em especial a Luiz Marcos Zambonato, Márcio dos Santos Célia e Belini Fagundes de Mello.
- A todos aqueles que colaboraram para a realização do curso e deste trabalho.

PRECISO

É TER PACIÊNCIA

DECANTAR O VINHO

PRECISO

É TER CIÊNCIA

DEPURAR O LIMO

A ÁGUA QUE FILTRA NA PALAVRA LUZ

PRECISO

É TER AUSÊNCIA

SUTILEZA

TATO

AMOR (O ATO E OS ENTRE ATOS)

PARA FAZER DESTE PAPEL

POEMA

HAROLDO DE CAMPOS

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	XII
LISTA DE FIGURAS.....	XIV
RESUMO.....	XVI
ABSTRACT.....	XVIII
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS LIPÍDEOS DA DIETA.....	1
1.2 METABOLISMO DOS LIPÍDEOS.....	3
1.2.1 DIGESTÃO E ABSORÇÃO DE GORDURAS.....	7
1.3 ESTEATORRÉIA.....	18
1.4 TESTES PARA DETERMINAÇÃO DE GORDURA FECAL.....	19
1.5 O ESTEATÓCRITO.....	29
2 JUSTIFICATIVA.....	41
3 OBJETIVOS.....	44
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	46
4.1 AMOSTRA.....	47
4.1.1 DETERMINAÇÃO DO ESTEATÓCRITO PELO MÉTODO CLÁSSICO (TÉCNICA 1) EM VOLUNTÁRIOS.....	47
4.2 TÉCNICAS DO ESTEATÓCRITO.....	48
4.2.1 TÉCNICA 1.....	48
4.2.2 TÉCNICA 2.....	49
4.2.3 TÉCNICA 3.....	50

4.2.4 TÉCNICA 4.....	50
4.2.5 TÉCNICA 5.....	51
4.2.6 TÉCNICA 6.....	51
4.3 VARIAÇÕES DA TÉCNICA CLÁSSICA.....	53
4.3.1 BANHO-MARIA.....	53
4.3.2 CORANTE LIPÍDICO.....	53
4.3.3 ACIDIFICAÇÃO.....	53
4.4 CÁLCULO DO ESTEATÓCRITO.....	54
4.5 AVALIAÇÃO DA PROPORCIONALIDADE ENTRE A QUANTIDADE DE GORDURA ACRESCENTADA ÀS FEZES E O ESTEATÓCRITO.....	55
4.6 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COLESTEROL E TRIGLICERÍDEOS NAS FEZES.....	56
4.6.1 REAGENTES ENZIMÁTICOS PARA A DETERMINAÇÃO DE CO- LESTEROL E TRIGLICERÍDEOS.....	57
4.6.2 CALIBRADOR UTILIZADO.....	57
4.7 DELINEAMENTO.....	58
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	58
4.8.1 ESTEATÓCRITO.....	58
4.8.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COLESTEROL E TRI - GLICERÍDEOS NAS FEZES.....	58
5 RESULTADOS.....	59
5.1 VALORES DO ESTEATÓCRITO PELO MÉTODO CLÁSSICO (TÉCNI- CA 1) EM 22 VOLUNTÁRIOS.....	60
5.2 ESTUDO DAS DIFERENTES TÉCNICAS DO ESTEATÓCRITO.....	62
5.2.1 ESCOLHA DA GORDURA A SER UTILIZADA.....	63

5.2.2 AVALIAÇÃO DA PROPORCIONALIDADE ENTRE A TAXA DE GORDURA ACRESCENTADA E AS DIFERENTES TÉCNICAS DO ESTEATÓCRITO.....	67
5.2.3 DETERMINAÇÃO DA VARIAÇÃO INTRA-ENSAIO E INTERENSAIO.....	72
5.2.3.1 DETERMINAÇÃO DA VARIAÇÃO INTRA-ENSAIO.....	73
5.2.3.2 DETERMINAÇÃO DA VARIAÇÃO INTERENSAIO.....	73
5.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COLESTEROL E TRIGLICERÍDEOS NAS FEZES.....	74
5.3.1 TESTES DE RECUPERAÇÃO COM BRIJ 35.....	75
5.3.2 TESTES DE RECUPERAÇÃO COM BRIJ 30.....	75
6 DISCUSSÃO.....	78
7 CONCLUSÕES.....	93
ANEXOS.....	95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	102
BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.....	116

LISTA DE TABELAS

1	TENDÊNCIAS NO CONSUMO DE GORDURAS DURANTE PERÍODOS SELECIONADOS - EUA.....	3
2	INGESTÃO E EXCREÇÃO DE GORDURA SEGUNDO ASENJO (1952).....	4
3	EXCREÇÃO FECAL DE GORDURA DE ACORDO COM A INGESTÃO SEGUNDO CASTRO E RIBEIRO (1976).....	5
4	VARIAÇÃO DA EXCREÇÃO FECAL DE GORDURA DE ACORDO COM A IDADE.....	6
5	EXCREÇÃO FECAL DE GORDURA SEGUNDO PENFOLD E KEYNES (1972).....	19
6	MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE GORDURA FECAL SEGUNDO McNEELY (1990).....	27
7	VALORES DO ESTEATÓCRITO EM CRIANÇAS NORMAIS SEGUNDO MELLO (1993) (MODIFICADO).....	35
8	VALORES DO ESTEATÓCRITO EM CRIANÇAS SADIAS, HIV INFECTADAS E COM DIARRÉIA.....	36
9	VALORES DO ESTEATÓCRITO ÁCIDO E CLÁSSICO SEGUNDO TRAN, FORGET, VAN DEN NEUCKER ET ALLI (1994).....	38
10	COMPARAÇÃO DOS ESTEATÓCRITOS ÁCIDO E CLÁSSICO E TEOR FECAL DE GORDURA SEGUNDO TRAN, FORGET, VAN DEN NEUCKER ET ALLI (1996).....	39
11	TÉCNICA DO ESTEATÓCRITO E SUAS VARIAÇÕES	52
12	VALORES DO ESTEATÓCRITO, MÉDIA DA KCAL E PERCENTAGEM	

	DE LIPÍDEOS DOS VOLUNTÁRIOS ESTUDADOS.....	61
13	VALORES DO ESTEATÓCRITO PELA TÉCNICA 1- COMPARATIVO DOS 4 TIPOS DE GORDURA.....	66
14	RESULTADOS DO ESTEATÓCRITO NAS 6 DIFERENTES TÉCNICAS.....	68
15	COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE SPEARMAN PARA AS DIFE- RENTES TÉCNICAS DO ESTEATÓCRITO.....	72
16	VALORES DA MÉDIA, DESVIO PADRÃO E COEFICIENTE DE VA- RIAÇÃO INTRA-ENSAIO E INTERENSAIO.....	74
17	RESULTADOS DAS EXTRAÇÕES DE COLESTEROL E TRIGLICERÍDE- OS COM BRIJ 35.....	75
18	RESULTADOS DA EXTRAÇÃO/RECUPERAÇÃO DE COLESTEROL NAS FEZES COM O USO DO BRIJ 35.....	76
19	RESULTADOS DA EXTRAÇÃO/RECUPERAÇÃO DE TRIGLICERÍDEOS NAS FEZES COM O USO DO BRIJ 30.....	77

LISTA DE FIGURAS

1	AÇÃO DA COLIPASE E LIPASE- A COLIPASE PERMITE A AÇÃO DA LIPASE.....	10
2	MICELAS- VEÍCULOS PARA MOVIMENTAÇÃO DOS PRODUTOS DA DIGESTÃO DOS LIPÍDEOS.....	12
3	REAÇÕES QUÍMICAS NO INTERIOR DO ENTERÓCITO ENVOLVENDO PRODUTOS DA DIGESTÃO LIPÍDICA.....	14
4	ESQUEMA DE UM CAPILAR DE MICROHEMATÓCRITO APÓS CENTRIFUGAÇÃO.....	55
5	RELAÇÃO ENTRE O ESTEATÓCRITO E A ADIÇÃO DE QUANTIDADES CRESCENTES DE MANTEIGA ÀS FEZES (TÉCNICA 1).....	64
6	RELAÇÃO ENTRE O ESTEATÓCRITO E A ADIÇÃO DE QUANTIDADES CRESCENTES DE MARGARINA VEGETAL ÀS FEZES (TÉCNICA 1).....	64
7	RELAÇÃO ENTRE O ESTEATÓCRITO E A ADIÇÃO DE QUANTIDADES CRESCENTES DE ÓLEO DE SEMENTES ÀS FEZES (TÉCNICA 1).....	65
8	RELAÇÃO ENTRE O ESTEATÓCRITO E A ADIÇÃO DE QUANTIDADES CRESCENTES DE ÓLEO DE CANOLA ÀS FEZES (TÉCNICA 1).....	65
9	RELAÇÃO ENTRE O ESTEATÓCRITO E A ADIÇÃO DE QUANTIDADES CRESCENTES DE MANTEIGA PELA TÉCNICA 2.....	69
10	RELAÇÃO ENTRE O ESTEATÓCRITO E A ADIÇÃO DE QUANTI-	

	DADES CRESCENTES DE MANTEIGA PELA TÉCNICA 3.....	69
11	RELAÇÃO ENTRE O ESTEATÓCRITO E A ADIÇÃO DE QUANTI- DADES CRESCENTES DE MANTEIGA PELA TÉCNICA 4.....	70
12	RELAÇÃO ENTRE O ESTEATÓCRITO E A ADIÇÃO DE QUANTI- DADES CRESCENTES DE MANTEIGA PELA TÉCNICA 5.....	70
13	RELAÇÃO ENTRE O ESTEATÓCRITO E A ADIÇÃO DE QUANTI- DADES CRESCENTES DE MANTEIGA PELA TÉCNICA 6.....	71

RESUMO

A análise quantitativa da excreção fecal de gordura (método de van de Kamer) permanece como o melhor e mais utilizado método de avaliação de pacientes suspeitos de alterações na digestão e/ou absorção de gorduras. No entanto, esta técnica é pouco aceita por todos os envolvidos na sua realização. Vários métodos foram propostos tentando solucionar questões como a manipulação de grandes quantidades de fezes. Uma destas técnicas é o esteatócrito, um método semiquantitativo de determinação da excreção fecal de gordura, descrito por PHUAPRADIT, NARANG, MENDONÇA et alli (1981). O método também sofreu críticas e, a partir destas, foram propostas modificações. Um dos objetivos deste trabalho foi o de estudar a técnica original e 5 modificações da mesma. Obtivemos 6 diferentes formas de realização do esteatócrito, a saber: 1) técnica clássica (homogeneização por 1 minuto à temperatura ambiente); 2) homogeneização por 2 minutos à temperatura ambiente; 3) homogeneização por 1 minuto e material em banho-maria a 37° C por 24 horas; 4) homogeneização por 2 minutos nas mesmas condições de temperatura da técnica 3; 5) homogeneização por 2 minutos à temperatura ambiente com adição de ácido e corante lipídico e 6) como a técnica 5 mas em banho-maria a 75° C durante 10 minutos. Testes de correlação demonstraram que a técnica 2 é a mais adequada das 6 diferentes formas de realizar-se o esteatócrito. Seu coeficiente de correlação foi de 0,94. Para as demais, obtivemos os seguintes valores: técnica 1= 0,65; técnica 3= 0,65; técnica 4= 0,87; técnica 5= 0,74 e técnica 6= 0,73. Testes de variação intra e interensaio confirmaram a técnica 2 como a de melhor desempenho.

Como mais uma alternativa ao método de van de Kamer, estudamos a determinação da concentração fecal de colesterol e triglicerídeos. Nosso objetivo era avaliar o desempenho da técnica. Obtivemos recuperação de $82,80 \pm 14,20\%$ para o colesterol e $113,24 \pm 87,67\%$ para os triglicerídeos. A variação nos resultados da determinação de colesterol não inviabiliza o seu uso na prática diária, o mesmo não é válido para os triglicerídeos (talvez sejam necessárias modificações na técnica para melhor desempenho).

ABSTRACT

The quantitative analysis of fecal fat excretion (van de Kamer method) is still the best and most widely used method of evaluation of patients suspected of having alteration in their digestion and/or absorption of fats. However, this technique is not much accepted by everybody involved in its execution . Many methods have been proposed, trying to solve matters such as the manipulation of large quantities of feces. One of these techniques is the steatocrit, a semiquantitative method of determining the fecal fat excretion, described by PHUAPRADIT, NARANG, MENDONÇA et alii (1981). This method has also been criticized and, based on these critics, modifications have been proposed. One of the objectives of this work was to study the original technique and five of its modifications. We obtained 6 different ways of executing the steatocrit, which are: 1) classic technique (homogenization during 1 minute at environmental temperature); 2) homogenization during 2 minutes at environmental temperature; 3) homogenization during 1 minute and material in water-bath at 37° C for 24 hours; 4) homogenization during 2 minutes in the same temperature conditions as in technique 3; 5) homogenization during 2 minutes at environmental temperature with addition of acid and lipid dyeing and 6) as in technique 5 but in water-bath at 75° C during 10 minutes. Correlation tests demonstrated that technique 2 is the most adequate of the 6 different forms of executing the steatocrit. Its coefficient of correlation was 0.94. For the others, we obtained the following values: technique 1= 0.65; technique 3= 0.65; technique 4= 0.87; technique 5= 0.74 and technique 6= 0.73. Intra and interexperiment variation tests confirmed technique 2 as being the one with the best performance.

As an additional alternative to the van de Kamer method, we studied the determination of fecal concentration of cholesterol and triglycerides. Our objective was to evaluate the performance of the technique. We obtained a recuperation of $82.80 \pm 14.20\%$ for cholesterol and $113.24 \pm 87.67\%$ for triglycerides. The variation in the results for the cholesterol determination does not render this technique unviable in daily practice. The same does not apply to triglycerides (maybe modifications in the technique are necessary for a better performance).

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS LIPÍDEOS NA DIETA

Os lipídeos são macronutrientes existentes nos alimentos, constituídos de diferentes compostos que exercem funções estruturais, energéticas, coenzimáticas e hormonais nos seres vivos (VARELA, 1985; ANDERSON, 1988). As gorduras ou lipídeos são as fontes mais concentradas de energia para o organismo humano; 1 g de gordura produz 9 kcal, comparadas às 4 Kcal/g dos glicídeos e proteínas (VARELA, 1985; ANDERSON, 1988). Além de seu alto valor energético, elas contêm ácidos graxos essenciais e atuam como veículo das vitaminas lipossolúveis. O fato de as gorduras tornarem uma refeição mais satisfatória é devido a seu esvaziamento gástrico lento e conseqüente influência na saciedade, e também pelo sabor que dá aos alimentos (SANTOS, 1982; ANDERSON, 1988).

Para reconhecimento do seu papel como reservatório de energia química potencial, é importante mencionar o patrimônio energético do homem normal, que é de aproximadamente 165.900 kcal, das quais 141.000 kcal estão na forma de lipídeos, 24.000 kcal na forma de proteínas (principalmente muscular) e 900 kcal na forma de glicogênio (600 como glicogênio muscular e 300 como glicogênio hepático).

Não existem evidências fisiológicas de que o organismo humano necessite de tanta gordura como a consumida pelos norte-americanos, sendo que muitos especialistas recomendam uma redução moderada da gordura da dieta. Em muitos países do Oriente, Oriente Médio e África, a dieta média propicia menos de 20% do total calórico na forma de gordura, em contraste com uma quantidade duas vezes maior na dieta norte-americana (ANDERSON, 1988). Na tabela 1, vemos alguns

dados sobre o consumo de gordura pelos norte-americanos, conforme adaptado de ANDERSON (1988) e MAHAN & ARLIN (1994).

TABELA 1- TENDÊNCIAS NO CONSUMO DE GORDURAS DURANTE PERÍODOS SELECIONADOS- EUA

PERÍODO	Kcal/ CAPITA	Kcal DE GORDURA(%)
1909-1913	3.490	32,2
1964	3.170	41,1
1977	-	41,0
1979	3.500	43,2
1985-86	-	36,4

1.2 METABOLISMO DOS LIPÍDEOS

A dieta média consiste de 100 a 150g de triglicerídeos juntamente com 4 a 8 g de fosfolipídeos (principalmente a lecitina) e 500 mg de colesterol a cada dia, dos quais cerca de dois terços são de origem animal (PENFOLD & KEYNES, 1970; CAREY, SMALL & BLISS, 1983; LEVY, CHOURAQUI & ROY, 1988; THOMSON, KEELAN & CLANDININ, 1989). Quantitativamente mais importantes são a lecitina e o colesterol endógenos de origem biliar, que contribuem com 7 a 22 g e 1 a 2 g, respectivamente, para o total de lipídeos que circulam diariamente pelo trato gastrointestinal (CAREY, SMALL & BLISS, 1983; LEVY, CHOURAQUI & ROY, 1988). Em adição às secreções intestinais e bile, células descamadas e bactérias também contribuem para uma quantidade significativa de gordura que pode ser reabsorvida diariamente (COTTON, 1972; GANGL & OCKNER, 1975; LEVY, CHOURAQUI & ROY, 1988; KHOURI, 1989; MARROTTA & FLOCH, 1989; TURNBERG & RILEY, 1993; BLACK, 1995). Numa dieta normal, acima de 94% dos

triglicerídeos e fosfolipídeos ingeridos são absorvidos (COTTON, 1972; LEVY, CHOURAQUI & ROY, 1988; KHOURI, 1989; MARROTTA & FLOCH, 1989; RILEY & TURNBERG, 1993). Segundo CAREY, SMALL & BLISS (1983), o intestino proximal da média dos indivíduos sadios absorve acima de 98% das aproximadamente 150 g de lipídeos ingeridos, bem como das 15-40 g de lipídeos endógenos que chegam até ele. ASENJO, em 1952, realizou uma compilação de dados sobre ingestão e excreção de gorduras e apresenta os seguintes dados:

TABELA 2- INGESTÃO E EXCREÇÃO DE GORDURA SEGUNDO ASENJO (1952)

INGESTÃO	EXCREÇÃO
8,3-9,4 g	3,68± 0,73 g*
40-128 g	4,32± 1,78 g*
140-160 g	3,88± 1,57 g*
200-280 g	8,72± 2,46 g

*não havia diferença estatística entre os grupos.

Os resultados indicariam, segundo Asenjo, a existência de um limiar intestinal para gorduras, e que este estaria situado próximo às 200 g de gordura.

No nosso meio, temos um estudo muito interessante de CASTRO & RIBEIRO (1976) onde os mesmo indivíduos foram submetidos a quatro dietas com teores de gordura progressivamente maiores. Os resultados estão esquematizados na tabela 3.

TABELA 3- EXCREÇÃO FECAL DE GORDURA DE ACORDO COM A INGESTÃO SEGUNDO CASTRO & RIBEIRO (1976)

DIETA	TOTAL DE LIPÍDEOS	EXCREÇÃO FECAL DE GORDURA
I	1,7 g	1,07 ± 0,32 g
II	66 g	1,88 ± 0,60 g
III	150 g	2,59 ± 1,00 g
IV	302 g	3,78 ± 1,00 g

Com este trabalho os autores chegaram às seguintes conclusões:

- 1) admitindo-se que o teor de gordura da alimentação da população brasileira situa-se na faixa compreendida pelas dietas II e III, considerou-se como valor normal para excreção fecal de gordura a média das excreções obtidas com estas dietas, ou seja, de $2,24 \pm 0,89$ g por dia.
- 2) o aumento no teor de gordura da dieta corresponde ao aumento significativo do teor de gordura fecal; quando, entretanto, a ingestão se situa entre as dietas II e III, o teor de gordura fecal não se altera.

Notamos que os dados de CASTRO & RIBEIRO não estão de acordo com os expressos na tabela 2. Segundo ASENJO, para uma ingestão de gordura entre 40 e 128 g, a excreção fecal é de $4,32 \pm 1,78$ g. Já para CASTRO & RIBEIRO, uma ingestão dentro desta faixa (66 g), a excreção é de $1,88 \pm 0,60$ g. O mesmo acontece nas demais faixas de ingestão e excreção. Talvez tais diferenças devam-se ao fato de que os últimos autores utilizaram-se de pacientes portadores de Doença de Chagas no seu estudo. Afirmam que os pacientes foram considerados como tendo funcionamento intestinal normal, sem esteatorréia. Justificam a escolha destes

pacientes em função da impossibilidade de conseguirem indivíduos normais que se dispusessem a permanecer internados e submetidos a rigoroso regime dietético.

Importante comentar o trabalho de ARORA, KASSARJIAN, CROFFEY et alii (1989) sobre os possíveis efeitos do envelhecimento nos testes das funções absorptivas do intestino em humanos. A excreção fecal de gordura foi avaliada pelo método de van de Kamer e os autores não encontraram diferença estatística nos diferentes grupos avaliados (como demonstrado na tabela 4). Os outros parâmetros avaliados no estudo (d-xilose, teste respiratório do [C14] glicocolato e [C14] aminopirina) também não mostraram alterações significativas, indicando que as funções hepática e intestinal estão preservadas no idoso.

TABELA 4- VARIAÇÃO DA EXCREÇÃO FECAL DE GORDURA DE ACORDO COM A IDADE

GRUPO (idade em anos)	N	GORDURA FECAL (g/dia)
19-44	22	2,8 ± 0,5*
45-69	54	2,5 ± 0,3*
70-91	38	2,8 ± 0,3*

* sem diferença estatística

Adaptado de ARORA, KASSARJIAN, CROFFEY et alii (1989)

1.2.1 DIGESTÃO E ABSORÇÃO DE GORDURAS

A maioria dos lipídeos da dieta são absorvidos no terço médio do jejuno, mas a taxa e a extensão da absorção é influenciada pela presença de outros alimentos, particularmente as fibras da dieta. BOOTH, ALLDIS & READ realizaram um estudo, em 1961, com pacientes submetidos a ressecções de intestino delgado em diferentes extensões. Concluíram ao final do estudo que o jejuno é o sítio principal de absorção de gordura e responde com um aumento na absorção a um aumento na quantidade de gordura na dieta. O íleo representaria uma reserva capaz de absorver a gordura que ultrapassa a capacidade absorptiva do jejuno. Uma ingestão elevada de fibras reduz a taxa de absorção de lipídeos.

Podemos resumir o metabolismo dos lipídeos da seguinte forma: o problema da insolubilidade da gordura em água domina os mecanismos que foram desenvolvidos para digerir e absorver os lipídeos. Dentro do lúmen, a gordura ingerida tem que ser liberada e quebrada em gotículas em emulsão. Após a digestão, os produtos devem ser transportados, através da fase aquosa dentro do lúmen, até a membrana lipídica da célula epitelial. Esta passagem é seguida, dentro do epitélio, por reconstituição em grandes moléculas lipídicas- predominantemente triglicerídeos- o que requer processos especializados para transportá-los para fora da célula (RILEY & TURNBERG 1993).

O processo que inicia a digestão dos lipídeos é chamado emulsificação e tem lugar no estômago, onde, como resultado das contrações da musculatura gástrica, ocorre a mistura das fases sólida e líquida da refeição (CAREY, SMALL & BLISS,

1983; DANI & CASTRO, 1993). As contrações musculares do estômago produzem forças fortes o suficiente para emulsificação. Emulsificadores potentes que podem agir no meio ácido do estômago incluem produtos pépticos das proteínas da dieta, polissacarídeos e fosfolipídeos (THOMSON, KEELAN & CLANDININ, 1989). A hidrólise enzimática dos triglicerídeos também se inicia no estômago, e uma vez que estes ficam aí armazenados por 2-4 horas, 30% do total de triglicerídeos da dieta podem ser digeridos. No entanto, hidrólise e absorção quantitativas, especialmente de ácidos graxos de cadeia longa, requerem condições menos ácidas, lipases e detergentes apropriados e células absorptivas especializadas. Este ambiente é dado pelo lúmen e mucosa do intestino delgado superior (CAREY, SMALL & BLISS, 1983). A liberação física do alimento pela mastigação e pela atividade motora do estômago permite a formação de uma emulsão relativamente instável para liberação no duodeno. Para esta emulsão ser estabilizada, as gotículas devem ser cobertas, e os fosfolipídeos fornecem esta cobertura. A emulsificação também é assistida pela pequena quantidade de ácidos graxos que é liberada pela lipólise intragástrica e, uma vez no duodeno, a emulsão contém, predominantemente, triglicerídeos, mas incluem ésteres de colesterol e alguns diglicerídeos, enquanto que a cobertura consiste de fosfolipídeos, ácidos graxos parcialmente ionizados, monoglicerídeos, e sais biliares (RILEY & TURNBERG 1993).

O conteúdo gástrico contém também uma enzima, a lipase, cuja origem é ainda controversa. Alguns defendem a origem lingual e/ou faríngea, enquanto outros admitem apenas a existência de lipase gástrica (CAREY, SMALL & BLISS, 1983; SHIAU, 1987; DANI & CASTRO, 1993; LEVY & BERNARDES, 1993). LEVY, CHOURAQUI & ROY (1988) mencionam a existência de duas lipases, a primeira do estômago e a segunda de origem lingual. Esta última derivada das glândulas de Von

Ebner, localizadas abaixo das papilas circunvaladas e secretadas em resposta à estimulação, ingestão de alimentos, à presença de um alimento gorduroso, ou por agonistas simpáticos (SHIAU, 1987; THOMSON, KEELAN & CLANDININ, 1989). Ambas são estáveis em meio ácido e resistentes à proteólise péptica (SHIAU, 1987; LEVY, CHOURAQUI & ROY, 1988; LEVY & BERNADES, 1993). A atividade da lipase lingual é inibida na presença de micelas de sais biliares e esta inibição não é prevenida pela colipase (SHIAU, 1987).

MÉNARD, MONFILS & TREMBLAY (1995) afirmam a existência de uma lipase gástrica (que surge entre a 10-13 semanas de gestação). A atividade da enzima mantém-se relativamente constante entre os 20 e 60 anos de idade com uma diminuição importante após esta idade. A localização celular da lipase gástrica e da pepsina na mucosa fúndica de humanos adultos mostrou que estas enzimas são sempre encontradas juntas nas células principais. Em condições fisiológicas, os ácidos graxos livres e os monoglicerídeos produzidos pela lipólise gástrica facilitam a hidrólise dos triglicerídeos pela lipase pancreática. No entanto, em situações como a insuficiência pancreática, a importância da lipólise gástrica aumenta e assume um papel fundamental.

A fase é dependente da presença de uma concentração adequada de lipase pancreática (para hidrolisar os triglicerídeos em monoglicerídeos e ácidos graxos), e sais biliares (para incorporar estes produtos da lipólise nas micelas mistas).

A lipase pancreática é inibida na presença de ácidos biliares acima da concentração micelar crítica, mas esta inibição pode ser superada pela presença da colipase. A lipase pancreática liga-se então, fortemente, à colipase e permite a hidrólise dos triglicerídeos, mesmo na presença de ácidos biliares. Na figura 1, temos a representação esquemática desta fase do metabolismo lipídico. Apesar da

concentração micelar crítica, a lipase lingual exibe alguma atividade próxima a esta concentração. Assim, mais de 70% da gordura de origem na dieta pode ser absorvida na ausência de lipase pancreática (THOMSON, KEELAN & CLANDININ, 1989).

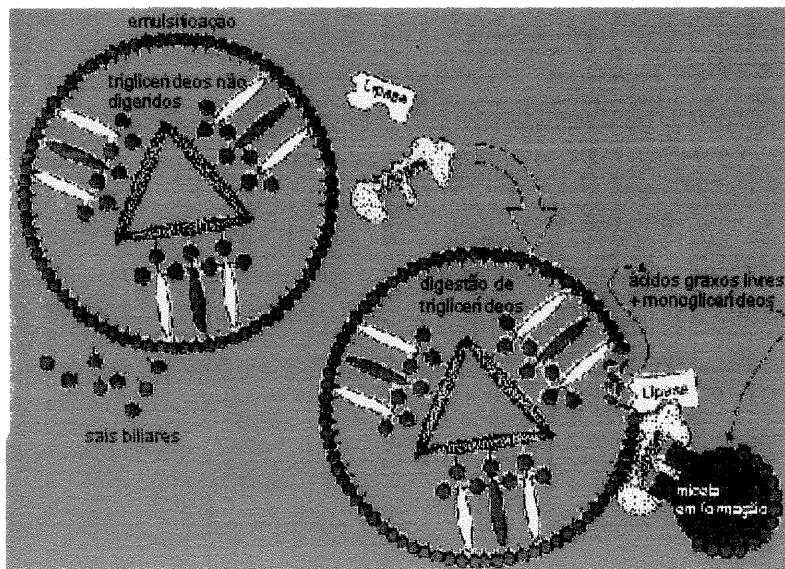


FIGURA 1- Ação da colipase e lipase- a colipase permite a ação da lipase.

Fonte: JACOBSON & LEVINE 1994 (modificado).

Uma vez que a lipase pancreática é ativa principalmente num pH neutro(ela é destruída de modo irreversível a um pH inferior a 3), a secreção de bicarbonato pelo pâncreas e árvore biliar é importante e fornece a neutralização necessária do ácido gástrico (LEVY & BERNADES, 1993; RILEY & TURNBERG, 1993).Na presença da colipase e no pH ótimo, a atividade da lipase libera ácidos graxos e monoglicerídeos de uma maneira rápida e eficiente.

Antes de atingirem o interior da célula, os lipídeos devem passar por um processo chamado **captação**. Os produtos da digestão de lipídeos incluem ácidos

graxos, 2-monoacilglicerol, lisofosfatidilcolina e colesterol livre. Estes são solubilizados em micelas que aumentam a captação por aumentarem o gradiente de concentração aquoso através da camada de água estacionária.

A maioria dos lipídeos são absorvidos no intestino proximal e para tanto devem ultrapassar duas barreiras em série: a camada de água estacionária e a borda em escova das células intestinais (SHIAU, 1987; THOMSON, KEELAN & CLANDININ, 1989). A camada de água estacionária é a principal barreira à difusão de substâncias de alto peso molecular, enquanto que a membrana celular é a principal barreira para substâncias de baixo peso molecular (SHIAU, 1987). Os lipídeos são absorvidos por captação passiva através destas duas barreiras. Os produtos da digestão lipídica são solubilizados em micelas de ácidos biliares as quais aumentam a captação de gorduras por aumentarem o gradiente de concentração aquoso e sobrepassarem a resistência da camada de água estacionária (THOMSON, KEELAN & CLANDININ, 1989). A interação de lipídeos com a água e com outros lipídeos resulta na formação de diferentes estruturas, tais como monômios, monocamadas de lipídeos, fase "de cristal líquido" e micelas. Destes, as mais importantes são as **micelas**. Em baixas concentrações, os sais biliares existem como monômeros em solução. No entanto, quando se atinge a **concentração micelar crítica**, os monômeros de sais biliares começam a formar agregados ditos **micelas**. Micelas formadas somente por sais biliares são chamadas de micelas simples e a solubilização de outros lipídeos nas micelas simples forma as micelas mistas (SHIAU, 1987). Micelas mistas não são absorvidas intactas, mas devem dissociar-se antes da absorção. Acredita-se que a dissociação seja mediada via um pH baixo na camada de água estacionária e, na borda, em escova das células epiteliais. Ácidos graxos de

cadeia curta e média são absorvidos como monômeros, com velocidade limitada pela passagem através da borda em escova. Para ácidos graxos de cadeia longa e colesterol, o passo limitante está na camada de água estacionária (THOMSON, KEELAN & CLANDININ, 1989). Na figura 2 abaixo, temos a representação das micelas como veículo para movimentação dos produtos da digestão dos lipídeos.

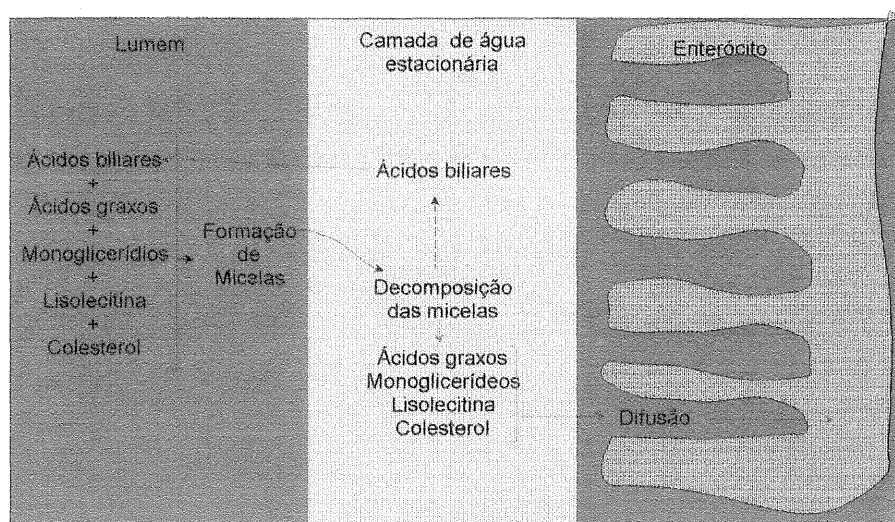


FIGURA 2- Micelas- veículos para movimentação dos produtos da digestão dos lipídeos. Fonte: JACOBSON & LEVINE 1994 (modificado).

Durante muito tempo pensou-se que os ácidos graxos atravessassem a membrana dos microvilos exclusivamente por difusão passiva. Recentemente, foi descrita uma proteína ligante de ácidos graxos na membrana dos microvilos. Da mesma forma, uma proteína carreadora na membrana dos microvilos poderia estar envolvida na absorção do colesterol (BLACK, 1995).

Estudos de microscopia eletrônica mostram a presença de gotículas osmofílicas na região do Golgi e nos espaços intercelulares durante a fase mucosa da absorção. Estes dados refletem uma ressíntese de triglicerídeos a partir de ácidos graxos e monoglicerídeos, sua subsequente incorporação em quilomicrons e sua extrusão da célula por pinocitose reversa (THOMPSON, 1989, BLACK, 1995). Os monoglicerídeos e os ácidos graxos são reconstituídos pelas principais enzimas presentes num complexo chamado "triglicerídeo sintetase". Esta via de monoglicerídeos concorre com uma grande percentagem (70%) dos triglicerídeos ressintetizados após uma refeição (LEVY, CHOURAQUI & ROY, 1988).

Não só os ácidos graxos e monoglicerídeos são metabolizados durante esta etapa da digestão e absorção dos lipídeos. Após a captação como esterois livres, o colesterol é re-esterificado durante sua passagem através da mucosa intestinal. Aproximadamente dois terços do esterois absorvido sofre esterificação pela acil-colesterol acil transferase, principalmente a oleato de colesterol. Assim, vê-se que o colesterol livre é absorvido e esterificado no retículo endoplasmático para a formação de lipoproteínas e quilomicrons, os quais, então, movem-se em direção ao aparelho de Golgi (GANGL & OCKNER, 1975; THOMSON, KEELAN & CLANDININ, 1989; BLACK, 1995). Uma vez dentro da célula, os ácidos graxos ligam-se a proteínas específicas. Estas têm maior afinidade por ácidos graxos insaturados do que pelos saturados e pequena, se existe alguma, pelos ácidos graxos de cadeia curta e média. Elas podem ajudar no transporte, através do citoplasma até o retículo endoplasmático, para a ressíntese de triglicerídeos (WALDRAM, 1975; RILEY & TURNBERG, 1993). No retículo endoplasmático, os triglicerídeos são ressintetizados através de dois processos: 1) monoglicerídeos são reesterificados com ácidos graxos

absorvidos após terem sido ativados para formar acetil-CoA. 2) Diglicerídeos e então triglicerídeos são formados seqüencialmente em reações que favorecem ácidos graxos de cadeia longa absorvidos do lúmen.

Dentro das células epiteliais, os triglicerídeos resintetizados, junto com os ésteres de colesterol, fosfolípidos e várias apoproteínas, formam partículas carregadoras de lipídeos chamadas de **quilomicrons**, as quais são, então, transportadas através do intestino para os linfáticos, conforme esquematização na figura 3.

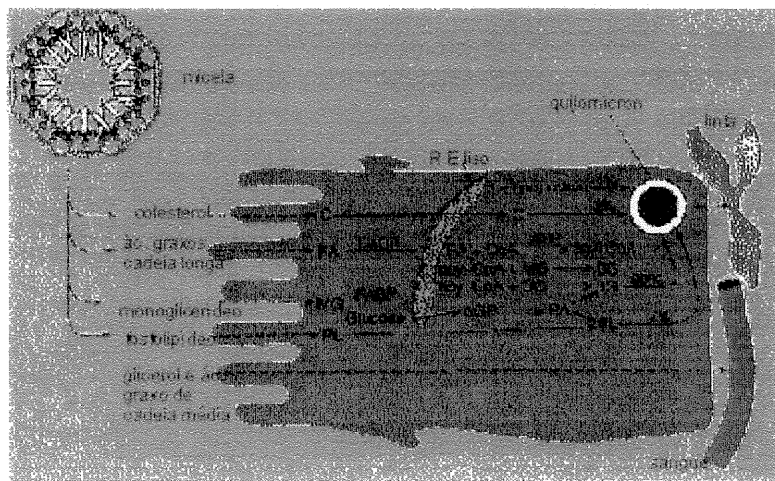


FIGURA 3- Reações químicas no interior do enterócito envolvendo produtos da digestão lipídica. Fonte: JACOBSON & LEVINE 1994 (modificado).

O mecanismo exato de formação não é conhecido, assim como não são claros os mecanismos regulatórios intracelulares. No entanto, sabe-se que são necessárias apoproteínas para que as gotículas de gordura saiam da célula. O termo quilomicrons, inicialmente, designava partículas grandes de gordura vistas no sangue após ingestão de gorduras (GANGL & OCKNER, 1975; SHIAU, 1987). Estas

partículas podem ser vistas na mucosa intestinal, linfa do ducto torácico e linfa mesentérica. A linfa, coletada dos linfáticos mesentéricos e do ducto torácico, contém partículas de diferentes tamanhos. A linfa mesentérica coletada após ingestão de gorduras contém todas as partículas de lipoproteínas descritas no sangue. Estas incluem quilomicrons, VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade), LDL (lipoproteína de baixa densidade), e a HDL (lipoproteína de alta densidade). O termo quilomicron, agora, define uma classe mais específica de partículas carreadoras de lipídeos (como será detalhado adiante) (SHIAU, 1987).

Uma vez sintetizados, triglicerídeos, colesterol e seus ésteres, e fosfolipídeos são armazenados para exportação na forma de quilomicrons e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) (RILEY & TURNBERG 1993).

Uma vez que os quilomicrons tenham se formado no retículo endoplasmático liso, eles são transferidos para o aparelho de Golgi. As vesículas de quilomicrons derivadas do Golgi são então incorporadas à membrana basolateral e secretadas por exocitose na circulação linfática (GANGL & OCKNER, 1975; RILEY & TURNBERG, 1993).

QUILOMICRONS

Estas são as maiores partículas carreadoras de lipídeos (750-6000A) recuperadas da linfa. O tamanho dos quilomicrons é uma função da quantidade de lipídeos carreados pelas lipoproteínas. Os maiores componentes lipídicos dos quilomicrons são triglicerídeos (86-92% da massa), ésteres de colesterol (0,8-1,4%),

colesterol livre (0,8-1,6%), fosfolípidos (6-8%) e proteínas (1-1,5%)(GANGL & OCKNER, 1975; SHIAU, 1987 ; BLACK, 1995).

Após esta fase de metabolismo intra-celular, há uma fase chamada de linfática. Durante esta fase da absorção, numerosos quilomicrons podem ser vistos dentro dos linfáticos intestinais (como dito acima) (THOMPSON, 1989). A principal rota de transporte de triglicerídeos, colesterol e vitaminas lipossolúveis da mucosa intestinal para o sangue é via linfa, mas é provável que haja alguma absorção através da veia porta (THOMPSON, 1989).

1.3 ESTEATORRÉIA

Esteatorréia é a presença de excesso de gordura nas fezes (MAROTTA & FLOCH, 1989). Isto é geralmente causado por problemas na digestão e absorção gastrointestinais. As causas mais comuns são doenças do intestino delgado ou pâncreas (BAI, ANDRÜSH, MATELO et alii, 1989; BENINI, CALIARI, GUIDI et alii, 1989, MAROTTA & FLOCH, 1989).

A má absorção de lipídeos pode ter muitas conseqüências:

- a) déficit calórico (as gorduras alimentares fornecem 9 kcal / g);
- b) déficit de ácidos graxos essenciais (que são, entre outros, os precursores das prostaglandinas);
- c) déficit das vitaminas lipossolúveis- K (prolongamento do tempo de protrombina), E (alterações neurológicas), D (osteomalácia), A (alterações da visão noturna) (LEVY & BERNADES, 1993).

O grau de esteatorréia varia muito. Como já visto, a absorção normal de gordura é superior a 94%. Assim, uma excreção de 6 a 8 g / 24 horas é, freqüentemente, considerada como anormal e uma excreção maior de 8 g por dia está, claramente, associada com doença. Valores acima de 20-25 g por dia de esteatorréia são freqüentemente associados com doença pancreática (BO-LINN & FORDTRAN, 1984; ROBERTS, POTURICH & WALD, 1986; LEMBCKE, GRIMM & LANKISCH, 1987; BAI, ANDRÜSH, GUIDI et alii 1989; MAROTTA & FLOCH, 1989). No caso das doenças pancreáticas, é importante lembrar que a reserva funcional do pâncreas é muito superior às necessidades normais. Assim, a esteatorréia não surge até que o débito de lipase ao nível do duodeno seja inferior a 10% do débito normal (Di MAGNO, 1973; GRAHAM, 1977; THORSGAARD PEDERSEN, 1987; LEVY & BERNADES, 1993). BLISS & SMALL (apud HOFMANN & MANIER, 1985) mostraram que, em alguns pacientes com insuficiência pancreática, há hidrólise no cólon de gordura mal absorvida, provavelmente por lipases bacterianas, apesar de que uma lipólise continuada pelas lipases lingual e gástrica possa também contribuir. BAI et al.(1989) realizaram um trabalho prospectivo sobre a concentração de gordura fecal no diagnóstico diferencial da esteatorréia. Concluíram, após realizarem 2607 determinações de gordura fecal pelo método de van de Kamer, que a sobreposição da concentração de gordura fecal na esteatorréia causada por doença pancreática e naquelas causadas por doença celíaca, ressecção gástrica e outras situações não permite que se diferencie entre esteatorréia pancreática e intestinal. O mesmo já havia sido publicado por LEMBCKE, GRIMM & LANKISCH (1987) após análise de 1269 exames, num trabalho retrospectivo e os resultados foram confirmados por BENINI (1992) posteriormente. Nos pacientes cirróticos, há uma má absorção leve a moderada de gorduras, sendo a esteatorréia mais freqüente em pacientes com dano

hepático mais severo e, a longo prazo, pode contribuir para as alterações nutricionais nestes pacientes (MERLI, CASCHERA, PIAT et alii, 1992). Vários fatores podem contribuir para esta má absorção, entre eles a insuficiência pancreática, diminuição na concentração de sais biliares e alterações da mucosa intestinal. Algumas drogas usadas durante o tratamento destes pacientes (como a neomicina, a colestiramina, a lactulose) também foram implicadas. Quanto à lactulose, o uso desta droga aumenta a quantidade total das fezes (+60%) bem como a excreção fecal de gordura(+ 70%). A esteatorréia induzida por este tratamento foi caracterizada como leve, menor do que 10 g/ dia, no trabalho de MERLI, CASCHERA, PIAT et alii (1992).

1.4 TESTES PARA DETERMINAÇÃO DE GORDURA FECAL

A absorção de gorduras, como já foi visto, é um processo complexo, envolvendo ações integradas do pâncreas, sistema biliar e mucosa do intestino delgado. Assim, não surpreende o fato da absorção de gorduras ser usada como indicador global das funções digestivas e absorptivas (RAFFENSPERGER, D'AGOSTINO, MANFREDI et alii, 1967; GOLDSTEIN, BLONDHEIM, LEVY et alii, 1983; RILEY & TURNBERG, 1993). No entanto, a absorção de gorduras pode ser normal na presença de má absorção de outras substâncias e um teste normal não exclui a síndrome de má absorção. Apesar do aspecto macroscópico das fezes em pacientes com esteatorréia severa ser característico, a simples inspeção é um mau indicador do conteúdo de gordura. Fezes com grande quantidade de gordura podem ter um aspecto normal (RILEY & TURNBERG, 1993). Segundo THORSGAARD PEDERSEN (1987), a medida da assimilação de gordura é uma das chaves quando

se avalia um paciente com diarréia. É também útil no diagnóstico de doenças intestinais e pancreáticas (IACONO, CARROCCIO, ALONGI et alli, 1990; GUARINO, TARALLO, GRECO et alli, 1992) e no manejo de pacientes com má absorção (RAFFENSPERGER, D'AGOSTINO, MANFREDO et alii, 1967, CARROCCIO, PARDO, MONTALTO et alii, 1988; BENINI, 1992).

PENFOLD & KEYNES (1970) conduziram um estudo, utilizando três grupos de indivíduos (como controles usaram o *staff* do laboratório onde se realizou o estudo, utilizaram também pacientes com excreção fecal normal de gorduras e pacientes com indícios de alterações na absorção de gorduras). Em todos, dosaram os lipídeos séricos em jejum e após alimentação e a excreção fecal de gordura. O teste de van de Kamer foi realizado com fezes coletadas durante 5 dias. Os resultados podem ser resumidos na tabela 5. Os termos usados nas definições dos grupos (“Normais” e “Anormais”) foram transcritos como no original.

TABELA 5- EXCREÇÃO FECAL DE GORDURA SEGUNDO PENFOLD & KEYNES (1971)

	LIPÍDEOS SÉRICOS			GORDURA FECAL	
	(MG / 100ML)			(G / 24 H.)	
	JEJUM	↑APÓS REFEIÇÃO		VARIAÇÃO	MÉDIA
	VARIAÇÃO	MÉDIA			
GRUPO CONTROLE	255-440	88-250	151	1,6-5,5	3,2
PACIENTES “NORMAIS”	315-515	95-165	139	1,8-4,7	3,4
PACIENTES “ANORMAIS”	180-520	6-45	24	5,9-62	27,0

Com este trabalho, os autores sugerem que um teste de absorção de gorduras poderia substituir o teste de determinação de gordura nas fezes.

Outro teste que poderia ser utilizado como alternativa para a determinação da gordura fecal é o **Teste da alimentação rica em gorduras (“fatty meal test”)** (GOLDSTEIN, BLONDHEIM, LEVY et alii, 1983). Segundo os autores, a determinação dos triglicerídeos séricos, após uma alimentação rica em gorduras, mostrou ser útil como parâmetro de má absorção intestinal de gorduras. O teste consiste em dar ao indivíduo em estudo uma dieta com 50 g de gordura adicionada a 70 ml de água sem açúcar na preparação. Amostras de sangue são retiradas antes da ingestão e a cada hora por até 5 horas após. São dosados os triglicerídeos e quilomicrons. Um aumento nos triglicerídeos menor do que 100 mg/ dl ou menor do que 100% acima dos valores basais e o surgimento de menos do que 7% de quilomocrons é considerado patológico.

O teste de coloração de Sudan numa amostra de fezes foi usado como *screening* de pacientes com suspeita de má absorção de gorduras. Apesar do teste parecer reproduzível, a correlação entre a gordura fecal quantitativa e a coloração é pobre. Seu uso é limitado a pacientes que tenham esteatorréia de moderada a severa, nos quais o teste é quase sempre positivo. A falta de sensibilidade e especificidade em pacientes com um menor grau de esteatorréia, provavelmente, refletem o fato de que o teste de Sudan e a gordura fecal quantitativa dosam diferentes formas de lipídeos fecais (RILEY & TURNBERG, 1993). KHOURI, HUANG & SHIAU (1989) mostraram que o teste de Sudan é específico para triglicerídeos da dieta e metabólitos lipolíticos, enquanto que os testes quantitativos dosam ácidos graxos tanto de origem endógena como exógena. Mesmo com tão pouca

especificidade, alguns autores acreditam no método e citam que pode ser usado tanto no *screening* de esteatorréia como para o diagnóstico de esteatorréia de origem pancreática (pela elevada excreção de gordura) (DRUMMEY, BENSON & JONES, 1961; GOSH, LITTLEWOOD, GODDARD et alli, 1977).

A análise quantitativa da excreção de gordura fecal em um paciente mantido numa dieta com ingestão normal de gordura permanece como o melhor e mais utilizado método de avaliação da absorção de gordura e deveria ser um teste de primeira linha na investigação de pacientes suspeitos de terem má absorção. Infelizmente, os aspectos práticos da coleta e armazenamento das fezes torna o teste pouco popular entre os pacientes, equipe de enfermagem e do laboratório (ROSENBERG & CITRIN, 1981; GOLDSTEIN, BLONDHEIM, LEVY et alii, 1983; THORSGAARD PEDERSEN, 1984; THORSGAARD PEDERSEN, 1987; THORSGAARD PEDERSEN, HALGREEN & WORNING, 1987; RILEY & TURNBERG, 1993). McNEELY (1991) chega mesmo a usar a expressão “natureza repugnante da amostra”, referindo-se à coleta de fezes de 72 horas necessária para a execução do método de van de Kamer. A estimativa da concentração de gordura nas fezes parece dar grandes informações sobre a assimilação de lipídeos e, mais ainda, parece capaz de distinguir entre esteatorréia devida à insuficiência pancreática (má digestão) e esteatorréia devida à disfunção intestinal (má absorção) (THORSGAARD PEDERSEN, HALGREEN & WORNING, 1987). As fezes devem ser coletadas por um período de 72 horas com o paciente consumindo uma dieta com 100 g de gordura por dia.

O método geralmente utilizado para determinação da excreção de gordura fecal é o **teste de van de Kamer** (titrimétrico) (RAFFENSPERGER, D'AGOSTINO, MANFREDO et alii, 1967; WEST, LEVIN, GRIFFIN et alii, 1981; GOLDSTEIN,

BLONDHEIM, LEVY et alii, 1983; THORSGAARD PEDERSEN, HALGREEN & WORNIG, 1987; THORSGAARD PEDERSEN, 1987; KHOURI, HUANG & SHIAU, 1989; RILEY & TURNBERG, 1993). Segundo descrição do próprio van de Kamer, o método pode ser realizado em 30-45 min. e se fundamenta na saponificação das fezes com uma solução concentrada de KOH em álcool, com o que se obtém uma solução que contém os sabões derivados das gorduras neutras, dos ácidos graxos e também os sabões que originalmente estavam presentes nas fezes. Os ácidos graxos liberam-se adicionando-se HCl à solução alcalina. Em seguimento, adiciona-se etanol e se extraem os ácidos graxos com éter de petróleo. A concentração de etanol deve ser tal que, uma vez agitada a mistura, se separem facilmente as camadas de éter de petróleo e etanol ácido; esta separação se acelera adicionando-se uma pequena quantidade de álcool amílico. Aos 10 minutos completou-se a separação. Toma-se uma amostra da camada de éter de petróleo e se dosam os ácidos graxos com um álcali, utilizando o azul de timol como indicador (van de KAMER, 1964). Segundo esta descrição de van de Kamer, seriam necessárias fezes de pelo menos 5 dias consecutivos. Se a investigação metabólica vai se prolongar por semanas ou meses, pode-se utilizar fezes de 3 dias.

A coleta de fezes de 72 horas parece desnecessária, uma vez que a variação dia-a-dia na concentração fecal de gordura é mínima, podendo ser utilizada a coleta de fezes de um dia único sem prejuízo do método (THORSGAARD PEDERSEN, HALGREEN & WORNIG, 1987; GUARINO, TARALLO, GRECO et alii, 1992). No entanto, THORSGAARD PEDERSEN & HALGREEN afirmaram, em estudo de 1984, que devido à irregularidade do hábito intestinal e coleta incompleta das fezes, somente a metade das coletas de três dias teve sucesso após 5 dias de estudo. O mesmo estudo também evidenciou uma dificuldade dos pacientes em manterem uma

dieta para realização do teste e em coletarem as fezes. A controvérsia quanto ao tempo ideal de coleta de fezes é antiga, pois, em 1971, PENFOLD & KEYNES afirmavam que seriam necessários 6 dias de coleta devido à variação diária na excreção fecal de gordura.

ESTEVES, SOARES, HARTMAN et alii (1982) criticam o método de van de Kamer, salientando o fato de que ele fornece resultados satisfatórios para fezes normais. No entanto, surgem problemas quando a dieta inclui triglicerídeos de cadeia média. Propõem, no mesmo artigo, uma modificação do método de van de Kamer, o que resultaria num resultado 10% acima do original. A alteração consiste em diminuir a quantidade de KOH utilizado e utilizar-se álcool absoluto no lugar de etanol a 96%.

O próprio van de Kamer (apud McNEELY, 1990) afirma que com seu método de titulação de ácidos graxos recupera-se somente 60% dos triglicerídeos de cadeia média. McNEELY (1990) observa que van de Kamer expressou seus resultados em gramas de ácidos graxos supondo um peso molecular médio de 265, o que representa ácidos graxos de cadeia muito grande. Os triglicerídeos de cadeia média têm um peso molecular de aproximadamente 175 e como consequência disto são subestimados em 66%. BRADDOCK, FLEISHER & BARBERO (1968) já haviam sugerido alterações ao método original de van de Kamer com a finalidade de corrigir as possíveis distorções dos resultados. Apontam como duas fontes de erro metodológico predominantes as seguintes: 1) a taxa de distribuição ineficiente obtida com o sistema de solventes; e 2) uma interação não favorável entre o óleo hidrolisado e partículas fecais. Parece, apontam os autores, que o primeiro item é o mais importante. A remoção do excesso de álcool por destilação, antes da extração, resolveria estas duas fontes de erro. O método de van de Kamer, modificado pela adição deste passo de destilação, parece recuperar tanto ácidos graxos de cadeia

média como longa com uma precisão quase tão boa quanto a do método original. Com a modificação do método, parece haver um aumento na quantidade de gordura, tanto em fezes normais quanto esteatorrêicas. Os mesmos autores sugerem, quanto aos triglicerídeos de cadeia média, que, para uma eficiência máxima, o conteúdo de água adicionado à mistura de saponificação deve ser reduzido dos 27% empregados a 10% menos, calculado em peso. Determinaram, também, que a eficiência da extração dos triglicerídeos de cadeia média e grande era melhor em um meio com menos de 25% de álcool em lugar de 55% (como no método original).

Um método interessante foi descrito por BENINI, CALIARI, GUIDI et alii (1989), utilizando uma quantidade de fezes pequena (o que resolveria a questão do armazenamento e manipulação). O método consiste na análise da radiação infravermelha próxima ao espectro visível refletida pela superfície do material em estudo. Foram identificados picos específicos para o componente a ser investigado e sua altura relacionada a sua concentração através de análise computadorizada de regressão multilinear. Segundo os autores, a quantificação da gordura fecal poderia ser feita após cada evacuação, sem a necessidade de armazenamento de grandes quantidades de fezes. Ressaltam, também, o alto custo dos “sofisticados instrumentos usados no estudo”. (Isto é extremamente importante em nosso meio).

Um método chamado “**fecalograma espectroscópico**” foi descrito por PEUCHANT, SALLES & JENSEN (1988). Este método está baseado na relação entre a intensidade de reflectância pela superfície da amostra de fezes em um comprimento de onda específico e a composição da amostra. Cada componente a ser determinado na amostra de fezes tem bandas específicas de absorção no espectro infravermelho, assim, a reflectância pode ser relacionada à concentração do componente. Os autores apontam, como vantagens do método, a ausência de

reagentes, extração ou mineralização, o que permite que o método seja realizado em qualquer laboratório. Importante ressaltar que o tempo de realização é menor do que 1 minuto. Este método assemelha-se muito ao descrito por BENINI, CALIARI, GUIDI et alli (1983), como já relatado acima.

As dificuldades técnicas bem como considerações estéticas, levaram à procura de substitutos para a análise da gordura fecal (GOLDSTEIN, BLONDHEIM, LEVY et alii, 1983). Exemplo é o **teste do C-trioleína expirado** que foi utilizado para determinação da absorção de gordura. A trioleína é um triglicerídeo que sofre hidrólise e absorção lipídicas de modo usual. Seguindo-se a absorção, ele é metabolizado liberando dióxido de carbono e, então, a determinação do CO₂ radiomarcado na expiração e após a ingestão de C-glicerol triolato nos dá uma medida da absorção de gordura. Somente ácidos graxos de cadeia longa marcados com C₁₄, tanto incorporados aos triglicerídeos ou como ácidos graxos livres, podem ser usados como traçadores. O teste deve, então, ser feito em duas etapas: a primeira onde todos os pacientes que estão sendo estudados têm dosados a quantidade de CO₂ expirado e uma segunda etapa para a qual só vão os pacientes com teste positivo (nestes pacientes selecionados, a razão triglicerídeos/ácidos graxos discrimina com uma eficiência razoável entre má absorção e má digestão). HOLMES (1988) realizou um estudo com o método e relata uma sensibilidade de 85% e especificidade de 93%. Resultados errôneos podem ocorrer quando há alguma alteração no metabolismo da trioleína (como no diabete melito, obesidade, hiperlipidemia, doenças da tireóide e doença hepática crônica) ou diminuição da excreção de CO₂ (como nas doenças pulmonares) (ROSENBERG & CITRIN, 1981). Prova destas limitações do método pode ser vista no trabalho citado de HOLMES (1988) onde a especificidade sobe de 93% para 100% quando excluídos os

indivíduos obesos. Este teste, também, falha em sensibilidade em pacientes com insuficiência pancreática leve e alterações na excreção, relacionadas à idade, tornam a interpretação difícil (tornando o valor clínico limitado) (RILEY & TURNBERG, 1993). Este método é limitado a poucos centros e de valor somente como um método semiquantitativo de *screening* para má absorção, não sendo um substituto para o teste de van de Kamer como uma medida quantitativa de absorção de gorduras (ROSENBERG & CITRIN, 1981).

WEST, LEVIN, GRIFFIN et alii (1981) sugerem em seu trabalho que o **teste do CO₂ expirado** é um teste simples, de fácil realização e aceitável pelos pacientes e pela equipe médica. Estas vantagens tornam o teste uma alternativa atrativa à coleta de fezes para avaliação inicial de má absorção. Consideram, no entanto, que seria prematuro sugerir que este teste pudesse substituir, completamente, a análise da gordura fecal, mas afirmam que um teste do CO₂ expirado normal é uma boa evidência de absorção normal de gordura e que, nesta circunstância, a coleta de fezes poderia ser evitada.

FALES (1971) já havia proposto a utilização da espectrofotometria na determinação dos lipídios fecais totais. O método descrito consiste na utilização de amostras de fezes em duplicata, um padrão, e um branco, cada um em álcool aquoso ácido e extração com éter de petróleo. Os extratos são analisados pelo método espectrofotométrico de oxidação ácido-dicromato. Ressalta que o método é de execução rápida.

Na tabela 6, a seguir, apresentamos alguns métodos utilizados para a determinação da gordura fecal.

TABELA 6- MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE GORDURA FECAL SEGUNDO McNEELY

MÉTODO	PRINCÍPIO	USO	COMENTÁRIOS
Gravimétrico	Extrai-se a gordura solúvel e, após eliminar-se o solvente, pesa-se o resíduo	Histórico	Não específico; requer o uso de solventes perigosos
Capacitância	Os ácidos graxos presentes em um extrato com solvente de fezes diminuem a capacitância elétrica do solvente	Histórico	Requer equipamento especializado, difícil de estandardizar adequadamente
Redução por dicromato	O dicromato de potássio é reduzido pelos ácidos graxos extraídos, saponificado, formando íons cromosos de cor verde azulado que são medidos por espectrofotometria a 600 nm	Pouco comum	Não específico; há diferença de cor com diferentes ácidos graxos
Cromatográfico a. cromatografia em lâmina delgada b. cromatografia gás-líquido	Os ácidos graxos saponificados extraídos se espalham e são determinados quantitativamente	Somente para investigação	Requer equipamento especializado; os resultados têm um valor clínico limitado
Reação com sulfovanilina	Os ácidos graxos saponificados não saturados, extraídos, reagem com a vanilina, formando um íon carbono complexo com cor cuja absorbância é medida a 525 nm	Pouco comum	A cor depende do número de uniões duplas nos ácidos graxos; boa precisão
Esteatócrito	A amostra de fezes, após homogeneização, é colocada em um capilar e centrifugada. O volume da camada lipídica é expresso como porcentagem do total	Pouco comum	Não específico
Titulação	Os ácidos graxos saponificados, extraídos, são titulados usando o azul de timol como indicador	É mais comum	Pode subestimar os ácidos graxos de cadeia média

Um dos métodos citados na tabela 6 é o da **Reação da sulfovanilina** que, como descrito por TOMASZEWSKI (1975), consiste num micrométodo colorimétrico simples e rápido de determinação dos lipídeos totais em um extrato de éter de petróleo. Este método requer o manuseio de éter de petróleo, solução aquosa de vanilina ou etilvanilina, reagente fosfovanilina e etanol puro. Requer, ainda, a incubação, por três vezes, da solução em banho-maria para posterior leitura a 540 nm no espectrofotômetro. O autor relata que o método pode ser realizado em um tempo total de 1 hora (incluindo os períodos de incubação), manuseando as fezes (0,5g) somente no passo inicial.

Um método interessante e de execução aparentemente simples é o método da **Extração por detergente e análise enzimática para ácidos graxos de cadeia longa, triglicérides e colesterol fecais** (LEE, CROOK, NOEL et alii, 1994). Este método propõe a determinação quantitativa dos compostos citados em amostra de fezes. Consiste na extração, através de detergente (Triton X-100, Brij 30, HCl em soro fisiológico), das gorduras presentes nas fezes e leitura em espectrofotômetro (presente mais uma vez nos métodos de determinação da gordura fecal). Os autores obtiveram excelentes resultados em testes de recuperação de gordura e estudos com fezes de pacientes. No entanto, no que se refere aos pacientes, não citam alguma patologia ou testes prévios. Afirmam ser necessário o uso de solução de preservação das fezes pois o armazenamento pode alterar os resultados.

1.5 O ESTEATÓCRITO

A base para o método descrito por PHUAPRADIT, NARANG, MENDONÇA et alii (1981) pode ter vindo do trabalho de LUCAS, GIBBS, LYSTER et alii, publicado em 1978, onde os autores usaram um método denominado de *creamatocrit* com a finalidade de determinar a quantidade de gordura (*cream*, daí o nome *creamatocrit*) no leite humano através de sua centrifugação após aspirado em um capilar de microhematócrito. Uma das conclusões do trabalho foi de que era um método simples, barato e rápido de estimar a concentração de gordura e a energia do leite humano e que poderia ser utilizado na prática clínica, pesquisa e investigação epidemiológica.

O método descrito por PHUAPRADIT, NARANG, MENDONÇA et alii (1981) é semelhante ao método utilizado por LUCAS, GIBBS, LYSTER et alii (1978) (descrito acima) e consiste no uso de 0,5 g de fezes homogeneizadas com 0,6 g de areia fina e 2 volumes de água, centrifugadas durante 15 minutos, realizando-se a leitura imediatamente após. Há pequenas variações no método, mas todos, em geral, respeitam os padrões acima (IACONO, CARROCCIO, ALONGI et alii, 1990; IACONO, CARROCCIO, MONTALTO et alii, 1991; GUARINO, TARALLO, GRECO et alii, 1992)

COLOMBO, MAIAVACA, RONCHI et alii (1987) estudaram 110 pacientes pediátricos controles (idades de 3 meses a 12 anos) e 107 pacientes com fibrose cística (em 74 dos quais foi também utilizado o método de van de Kamer como comparação). Nos controles, o valor do esteatócrito foi de $0,7 \pm 1,0\%$ (não houve variação nos valores relacionadas à idade). Valores significativamente mais elevados

foram encontrados nos pacientes com fibrose cística e estes valores decresciam com a reposição enzimática. Foi encontrada, também, uma correlação estatisticamente significativa entre o esteatócrito e o método de van de Kamer.

Em 1988, CARROCCIO, PARDO, MONTALTO et alii utilizaram o método na avaliação do uso de suplementos pancreáticos em crianças com fibrose cística. Compararam os valores do esteatócrito com o método de Sobel e com o teste de van de Kamer e obtiveram uma boa correlação. Os autores demonstram, ao mesmo tempo, a correlação significativa entre o esteatócrito e o método de van de Kamer e uma aplicação do método à prática clínica.

No mesmo ano, D'AGOSTINO & ORSI relatam (em carta ao editor) a sua experiência com o método. Estudaram crianças normais (em número de 11) e 33 pacientes com diarreia. Compararam o esteatócrito com o método de van de Kamer e encontraram uma correlação estatisticamente significativa. Fixaram o limite superior do normal para o método em 4% e relataram uma sensibilidade de 100% e especificidade de 87%. Esta especificidade alta indica, segundo os autores, que um resultado normal confirma a ausência de esteatorréia. No entanto, se impõe uma crítica ao trabalho. Os autores não citam as idades dos pacientes nem das crianças normais.

IACONO, CARROCCIO, ALONGI et alii (1990) realizaram um estudo para avaliação da influência dos diferentes tipos de leite na evolução da fase aguda da diarreia e para verificar se o grau de esteatorréia, durante a fase aguda, representa um possível fator de risco para o desenvolvimento de enteropatia por leite de vaca e, a partir daí, usar este dado como guia na escolha do tipo correto de leite a ser dado durante a reintrodução do alimento. Vemos um exemplo de aplicação, na prática clínica, do método.

IACONO, CARROCIO, CAVATAIO et alii (1990) estudaram 60 crianças durante os seus três primeiros meses de vida a fim de estabelecerem os valores normais do esteatócrito para este período da vida. Os autores demonstraram que há esteatorréia durante o primeiro mês de vida e então esta decresce até que aos 45 dias de vida poucas crianças têm esteatorréia. Os valores eram de 25% na primeira semana e 13% na quarta semana. Após o fim do terceiro mês de vida, crianças com valores do esteatócrito maior do que 2% devem ser cuidadosamente observadas. Mostraram também a influência da dieta: crianças amamentadas ao seio materno apresentavam um desaparecimento mais rápido da esteatorréia e valores menores do esteatócrito do que crianças alimentadas total ou parcialmente com fórmulas. Com relação ao método, os autores realizaram determinações do esteatócrito em todas as evacuações de cinco crianças com esteatócrito positivo e cinco crianças com esteatócrito negativo durante um período de 24 horas. Nas crianças com esteatócritos negativos, todos os testes realizados nas 24 horas foram negativos enquanto que nas crianças com valores positivos os coeficientes de variação foram de 6,7 a 32,7% com uma média de 22,3%. Os autores concluem ser este coeficiente de variação muito pequeno.

WALTERS, KELLECHER, GILBERT et alii publicaram um trabalho, em 1990, onde fazem críticas ao método, pois relatam ter encontrado várias dificuldades técnicas na sua realização. A principal delas foi a de conseguir uma clara separação das camadas de água, gordura e demais camadas sólidas após a centrifugação. Não houve, para estes autores, concordância entre os valores encontrados com a utilização do método e as outras técnicas utilizadas (determinação química e microscópica). BROWN & BOOTH (1990) comentaram o artigo em uma carta ao editor e apontam como possível explicação a homogeneização do material, que é de

extrema importância. Estes autores ainda comentam o fato de que WALTERS, KELLECHER, GILBERT et alii (1990) dizem estar usando o método como originalmente descrito e no entanto o atribuem a COLOMBO, MAIVACCA, RONCHI et alii (1988) e não aos seus autores originais (PHUAPRADIT, NARANG, MENDONÇA et alii, 1981). GUARINO, TARALLO, GRECO et alii (1992) também chamam a atenção para os resultados de WALTERS, KELLECHER, GILBERT et alii (1990), mencionando, outra vez, a importância da homogeneização, e para variações no diâmetro interno dos capilares para hematócrito que podem afetar os resultados. Enfatizam que mesmo mínimas variações no método podem afetar profundamente os resultados. LLOYD, RAWASHDEH, BOOTH et alii (1992) também comentam a importância da homogeneização e apontam como possível fator de erro no trabalho de WALTERS, KELLECHER, GILBERT et alii (1990) o fato de que , com as técnicas habituais de homogeneização, parte da gordura de fezes estearorrêicas poderia ficar presa à areia. Como será visto adiante, os autores desta observação sugerem uma alteração na homogeneização para melhoria do método.

IACONO, CARROCCIO, MONTALTO et alii (1991) realizaram novo estudo sobre o método com crianças portadoras de atrofia vilositária total (37 crianças) e crianças com mucosa normal (em número de 79) submetidas a uma dieta hiperlipídica. O esteatócrito, após esta dieta, não detectou falsos positivos ou negativos, enquanto que o teste da D-xilose mostrou dois falsos negativos e quatro falsos positivos e o teste da absorção de triglicérides mostrou dois falsos negativos e 23 resultados falsos positivos. Os autores concluem ser o esteatócrito, após uma dieta com sobrecarga de lipídeos, um método simples, não invasivo e útil no diagnóstico de atrofia vilositária total.

GUARINO, TARALLO, GRECO et alii (1992) estudaram 747 crianças normais e 442 crianças com diarreia e encontraram uma correlação significativa do método com os resultados encontrados com a determinação química da gordura fecal (van de Kamer). Estabeleceram, também, os valores de referência e suas variações. Os resultados encontrados podem ser resumidos da seguinte forma:

1) o esteatócrito e o van de Kamer mostraram uma correlação estatisticamente significativa ($p < 0,001$) e coeficiente de correlação significativo (r) de 0,93;

2) o coeficiente de variação intradia médio do esteatócrito foi de 1,17% (variando de 0-7,4%) e o coeficiente de variação interdia foi de 1,98% (variando de 0-20%), concluindo que se tratam de variações mínimas, indicando uma excreção relativamente constante de gordura fecal e permitindo a determinação da gordura fecal numa única amostra;

3) quanto ao teor de gordura das fezes, os valores máximos foram encontrados em recém-nascidos com a esteatorreia decrescendo rapidamente durante os primeiros meses de vida. Em crianças mais velhas e no segundo ano de vida, os valores caem mais lentamente, atingindo valores constantes e muito próximos ao limite de detecção do método;

4) esteatócrito anormalmente alto foi encontrado em 20% dos pacientes com diarreia aguda e 53% daqueles com diarreia crônica;

5) a utilização de fezes frescas ou congeladas (a -20°C por até 2 meses) não alterou o valor do esteatócrito nas 20 amostras estudadas;

6) o esteatócrito é um método simples, de fácil realização e barato de determinar a excreção de gordura fecal.

LEVIN (1993) cita com entusiasmo o método numa revisão sobre diagnóstico e manejo de doenças do intestino delgado.

CSENDES, SMOK, BURDILLES et alii (1993) realizaram um estudo com pacientes gastrectomizados com o objetivo de determinar as variações que ocorrem em alguns parâmetros índices de absorção intestinal (avaliaram também o aspecto histológico da mucosa intestinal). O esteatócrito foi o método escolhido para a determinação da excreção fecal de gordura. Concluíram que a má absorção de gorduras é um achado comum em pacientes submetidos à gastrectomia total (com reconstrução do trânsito intestinal mediante anastomose esôfago-jejunal término-lateral com alça com Y de Roux). No presente estudo, o esteatócrito foi positivo em 100% dos pacientes, independentemente da presença ou não de diarreia. Ressaltam que esteatorréia macroscópica é um achado raro. A causa principal desta má absorção é de origem intraluminal, produto de uma homogeneização inadequada das secreções biliares e pancreáticas no quimo intestinal devido à reconstrução do trânsito em Y de Roux. Um dado interessante deste trabalho é que o resultado do esteatócrito é expresso em cruces (de + a +++) de acordo com a espessura da camada de gordura. Não definem os critérios usados para a graduação em cruces, citam como referência o trabalho de PHUAPRADIT, NARANG, MENDONÇA et alii (1981) (onde não há este modo de graduação).

Estudos já realizados tanto no exterior como no nosso meio validam o esteatócrito como método de determinação semiquantitativa da gordura fecal tendo como comparação o método de van de Kamer (COLOMBO, MAIAVACCA, RONCHI et alii, 1987; GUARINO, TARALLO, GRECO et alii, 1992; MELLO, 1993). Citamos com especial emoção o trabalho de MELLO (1993), pois trata-se de um trabalho realizado em nosso meio e que abriu caminho para a realização da presente

dissertação. Neste trabalho, temos a comparação do esteatócrito com o método de van de Kamer em 30 pacientes mostrando uma correlação positiva significativa. Foram realizados 247 esteatócritos em crianças normais, com idades dos pacientes variando de 0 a 72 meses (divididos em 3 grupos de acordo com a faixa etária). Os resultados, quanto aos valores obtidos pelo estudo, estão esquematizados na tabela 7 apresentada a seguir:

TABELA 7- VALORES DO ESTEATÓCRITO EM CRIANÇAS NORMAIS SEGUNDO MELLO (1993) (MODIFICADO)

FAIXA ETÁRIA	MÉDIA	DESVIO PADRÃO
0-1 mês	4,04%	4,99%
1-3 meses	1,38%	2,14%
3-72 meses	0,29%	1,64%

Outras conclusões do estudo foram de que a idade influenciou no resultado do esteatócrito nos três primeiros meses de vida (quanto maior a idade em dias, mais baixo o valor do esteatócrito) e que o tipo de dieta não interferiu de forma significativa na excreção fecal de gordura determinada pelo método nos três primeiros meses de vida.

Também em 1993, um grupo de pesquisadores italianos, *The Italian Paediatric Intestinal/HIV study group* (IPISG), utilizou o esteatócrito no estudo de crianças portadoras de SIDA e sintomáticas, utilizando como controles crianças com diarreia mas não portadoras da síndrome, e crianças saudáveis. Foi demonstrado através do estudo que crianças portadoras da síndrome apresentam disfunção intestinal,

consistindo de má absorção de proteínas, carboidratos e gordura. Isto poderia contribuir para o agravamento da doença. Ressalta-se que, apesar das conclusões acima mencionadas, o valor do esteatócrito não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos HIV-infectado e diarreia (conforme mostrado a seguir na tabela 8)

TABELA 8- VALORES DO ESTEATÓCRITO EM CRIANÇAS SADIAS, HIV INFECTADAS E COM DIARRÉIA

	HIV (n=47)	SADIOS (n=48)	DIARRÉIA (N=50)	p*	p#
ESTEATORRÉIA	14(30%)	0	13(26%)	< 0,001	NS
ESTEATÓCRITO					
MÉDIA	3,1±4,1%	1,4± 0,8%	4,2±3,9%	< 0,01	NS
VARIACÃO	1-21,1%	1-41%	1-19%		

* HIV versus sadios

HIV versus diarreia

NS= não significativo

Adaptado de IPISG 1993

SUGAI, SRUR, VASQUEZ et alii (1994), em estudo realizado na Argentina, demonstraram que o limite superior do normal para o esteatócrito é de 2,1%, com sensibilidade de 87%, especificidade de 97%, valores preditivo positivo e negativo de 97 e 87% respectivamente. O estudo abrangeu 124 adultos e 14 crianças, tendo utilizado o método de van de Kamer para comparação.

GAZAL (1995), num trabalho realizado em nosso meio, utilizou o esteatócrito na dosagem da percentagem de gordura nas fezes de crianças com cirrose como parte de um estudo sobre a avaliação nutricional de pacientes pediátricos com cirrose. Verificou que a excreção média é de 5,88% nas crianças cirróticas, com

perclórico. Utilizaram diferentes concentrações do ácido e concluíram que , com a acidificação, há aumento nos valores do esteatócrito, sendo os melhores resultados obtidos nas fezes com menor pH. Este aumento é mais significativo com ácido perclórico 5N e correlaciona-se de modo estatisticamente significativo com o método de van de Kamer. A acidificação traria como vantagem adicional uma maior distinção entre as camadas, facilitando a leitura. Importante mencionar que estes autores relatam que utilizaram o método “clássico” por poucos anos e acharam resultados totalmente negativos em pacientes com esteatorréia comprovada. Neste trabalho, foram estudados pacientes controles e com fibrose cística pelos dois métodos, assim denominados: clássico (técnica original) e esteatócrito ácido (acréscimo de ácido perclórico 5N). Os resultados estão esquematizados na tabela 9, mostrada abaixo.

TABELA 9- VALORES DO ESTEATÓCRITO ÁCIDO E CLÁSSICO SEGUNDO TRAN ,FORGET, VAN DEN NEUCKER et alii (1994)

	ESTEATÓCRITO CLÁSSICO	ESTEATÓCRITO ÁCIDO	n
NORMAIS	1,1± 0,4%	3,8± 1%	6
FIBROSE CÍSTICA	5,4± 1,9%	26± 4,3%	9

Para cada uma das técnicas, foi calculado o coeficiente de correlação (r) e obtidos os seguintes resultados: $r = 0,18$ para o esteatócrito clássico e $r = 0,81$ para o esteatócrito ácido.

Em 1996, TRAN, FORGET, VAN DEN NEUCKER et alii publicam outro estudo sobre o esteatócrito ácido, desta vez determinando o conteúdo de gordura nas camadas lipídica e sólida do esteatócrito (comparando o método clássico com o

ácido). Para tal, após calculado o esteatócrito, os capilares eram cortados no centro das camadas sólida e lipídica. O conteúdo era aspirado, colocado em lâmina para coloração com Sudan III e lido conforme critérios preestabelecidos. Na tabela 10 temos o resumo dos resultados obtidos:

TABELA 10 - COMPARAÇÃO DOS ESTEATÓCRITOS ÁCIDO E CLÁSSICO E TEOR FECAL DE GORDURA SEGUNDO TRAN, FORGET, VAN DEN NEUCKER et alii (1996)

AMOSTRA	GLÓBULOS DE GORDURA				GORDURA		
	CL		CS		EA(%)	EC(%)	GF(g%)
	EA	EC	EA	EC			
1	+++	+	++	++	81,7	5,3	-
2	+++	++	+	+	72,4	2,5	-
3	++	++	+	+++	71,1	5,3	16,3
4	+++	+	+	+++	93,3	28,8	28,5
5	+++	++	+	+++	90,9	26	26,7
6	+	-	+	++	92,6	6,2	28,3
7	++	-	+	++	92,5	3,1	18,7
8	+++	-	+	+	94,2	2,8	26,5
9	+++	+++	+	++	93,7	59,8	24,3
10	++	-	+	+	96,4	6,2	10,3
11	+++	+++	+	+	96	63,9	27,3
12	+++	++	+	+++	94,4	48,7	20,6

onde: CL= camada líquida

CS= camada sólida

EA= esteatócrito ácido

EC= esteatócrito clássico

GF= gordura fecal

Baseados nos dados esquematizados acima, os autores sugerem a utilização do esteatócrito ácido como uma boa alternativa para a determinação química da gordura fecal.

2 JUSTIFICATIVA

2 JUSTIFICATIVA

A avaliação da excreção de gordura nas fezes é utilizada como parâmetro da função absorptiva de todo trato gastrointestinal. Assim, necessitamos de um método que seja ao mesmo tempo acessível a todos os laboratórios, de custo reduzido e de fácil manipulação do material fecal. Alguns testes preenchem parte dos requisitos mencionados. O teste com raio infravermelho próximo do espectro visível utiliza uma pequena quantidade de fezes, no entanto exige equipamento muito especializado para sua realização. Os testes com Carbono (C14) expirado não utilizam material fecal mas também ficam confinados a laboratórios muito bem equipados. O teste apontado como padrão, o método de determinação quantitativo de gordura fecal de van de Kamer, apresenta muitos inconvenientes, como, por exemplo, a necessidade de manipular-se com uma grande quantidade de fezes (o que o torna pouco “simpático” ao paciente, equipe de enfermagem e do laboratório).

O método suscitou várias críticas e houve o surgimento de várias modificações no sentido de aprimorá-lo.

Tendo por base os dados expostos acima, decidimos realizar um estudo sobre um método tido como barato, rápido, de fácil realização e que exige apenas uma amostra de fezes para sua execução, o esteatócrito. Importante mencionar que este método é semi-quantitativo de determinação de gordura fecal.

Outro método que utiliza pequena quantidade de fezes, é de fácil execução e acessível a maioria dos laboratórios é a determinação da concentração de colesterol e triglicerídeos nas fezes. Como vantagem sobre o esteatócrito há o

fato de ser um método quantitativo e separa as frações de gordura excretadas nas fezes.

Pelos motivos expressos acima é que decidimos realizar um estudo sobre o esteatócrito e suas variações e a determinação do colesterol e triglicérides nas fezes. Estes dois métodos possuem em comum o fato de utilizarem apenas uma amostra de fezes para suas execuções.

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

O presente estudo tem por objetivos principais:

- estudar o esteatócrito e as modificações propostas para avaliarmos qual a melhor forma de realizá-lo;
- elaborar uma curva padrão correlacionando o esteatócrito com a quantidade de gordura a partir da melhor técnica;
- avaliar a possibilidade de introdução, na prática diária do laboratório, da técnica da determinação da concentração fecal de colesterol e triglicerídeos.

Como objetivo secundário:

- avaliar as condições de execução de cada método.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRA

4.1.1 Determinação do esteatócrito pelo método clássico (técnica 1) em voluntários:

Os voluntários foram alocados segundo os critérios abaixo definidos:

- critérios de inclusão:

- indivíduo maior de 18 anos, sendo do sexo feminino não pode estar grávida ou amamentando;

- sem história pessoal de etilismo, doenças do trato gastrointestinal (aguda ou crônica), alterações recentes do peso não atribuíveis à dieta calórica; doenças agudas ou crônicas de qualquer natureza, uso recente (menos de uma semana) de drogas;

-exame físico normal;

- provas laboratoriais (hemograma, TGO, TGP, bilirrubinas, cálcio, amilase, lipase, albumina) dentro dos limites da normalidade.

- critérios de exclusão:

-alterações nas provas laboratoriais;

-surgimento de patologia de qualquer natureza entre a coleta dos dados, realização dos exames laboratoriais e coleta de fezes;

- negativa de entrar no estudo.

4.2 TÉCNICAS DO ESTEATÓCRITO

4.2.1 Técnica 1

Técnica descrita por IACONO, CARROCCIO, ALONGI et alii (1990). Usada neste trabalho com meios validados por MELLO (1993) no Laboratório de Pesquisas Biomédicas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Também denominada “técnica clássica”. Realizada como se segue:

- 1) homogeneização da amostra de fezes;
- 2) pesagem de 0,5 g do homogeneizado em balança analítica;
- 3) acréscimo ao frasco com as fezes de 2,5 ml de água e 0,06 g de areia fina (segundo medidor previamente calibrado);
- 4) homogeneização do material;
- 5) homogeneização no vortex por 1 minuto;
- 6) aspiração para capilar de micro-hematócrito;
- 7) centrifugação por 15 minutos em centrífuga de micro-hematócrito;
- 8) posicionamento vertical dos tubos imediatamente após serem retirados da centrífuga;
- 9) leitura em régua milimetrada; e
- 10) cálculo do valor do esteatócrito.

4.2.2 Técnica 2

Técnica de IACONO, CARROCCIO, ALONGI et alii (1990) modificada:

Esta técnica é realizada como a técnica 1, difere apenas no passo número 5 (as fezes são homogeneizadas por 1 minuto no vortex). Na técnica, 2 as fezes são homogeneizadas no vortex por 2 minutos.

4.2.3 Técnica 3

Técnica de LLOYD, RAWASHDEH, BOOTH et alii (1992) modificada:

Realizada como a técnica 1. Aqui as fezes são colocadas em banho-maria a 37° C por 24 horas ao invés de realizar-se o teste à temperatura ambiente como na técnica clássica. O material é colocado em banho-maria após homogeneização com água e areia (passo 4 da técnica clássica). Após, realiza-se a técnica como já descrito.

4.2.4 Técnica 4

Técnica de LLOYD, RAWASHDEH, BOOTH et alii (1992) modificada:

Realizada como a técnica 2 (técnica clássica mas com homogeneização por 2 minutos no vortex) e com a mesma alteração descrita para a técnica 3, ou seja, banho-maria por 24 horas a 37° C após o passo 4.

4.2.5 Técnica 5

Técnica de TRAN, FORGET, VAN DEN NEUCKER et alii (1994):

Realizada como a técnica 2 (técnica clássica mas com homogeneização em vortex por 2 minutos) e acrescentando-se ao homogeneizado de fezes o corante lipídico (10µl de "Fat red") e 20µl de ácido perclórico a 1N.

4.2.6 Técnica 6

Técnica de LLOYD, RAWASHDEH, BOOTH et alii (1992):

Realizada como a técnica 2. Difere desta quanto à temperatura do material. Aqui, após homogeneização com água e areia (passo 4), coloca-se o material em banho-maria em banho-maria a 75°C por 10 minutos. Também há a adição de ácido perclórico a 1N e corante "Fat red" nas quantidades já definidas acima.

As técnicas estão resumidas na tabela 11 e identificadas pelos números como acima descritas.

TABELA 11- TÉCNICA DO ESTEATÓCRITO E SUAS VARIAÇÕES ESTUDADAS

TÉCNICA	VORTEX	TEMPERATURA	ÁCIDO+CORANTE
1	1 minuto	ambiente	não
2	2 minutos	ambiente	não
3	1 minuto	banho-maria a 37°C por 24 horas	não
4	2 minutos	banho-maria a 37°C por 24 horas	não
5	2 minutos	ambiente	sim
6	2 minutos	banho-maria a 75°C por 10 minutos	sim

4.3 VARIAÇÕES DA TÉCNICA CLÁSSICA

4.3.1 Banho-maria- LLOYD, RAEASHDEH, BOOTH et alii (1992) propuseram o aquecimento do homogeneizado de fezes em banho-maria a 75°C por 10 minutos como forma de aprimorar os resultados do esteatócrito. Os autores, em seu trabalho, não justificam a escolha da temperatura ou do tempo. Optamos por realizarmos os testes como sugerido pelos autores acima e também a uma temperatura de 37°C por um período de 24 horas. A temperatura foi escolhida por estar muito próxima da temperatura corporal normal. O tempo de 24 horas baseou-se no fato de que, se tomarmos como parâmetro 1 evacuação diária, o bolo fecal ficaria várias horas no reto.

4.3.2 Corante lipídico- LLOYD, RAWASHDEH, BOOTH et alii (1992) propuseram o uso de um corante lipídico. No artigo original foi utilizado o corante Rhodamine 6G. Utilizamos neste trabalho o corante "Fat red" por não dispormos do primeiro e a compra de reagentes nem sempre é simples.

4.3.3 Acidificação- proposto por TRAN, FORGET, VAN DEN NEUCKER et alii (1994). No trabalho original os autores utilizaram ácido perclórico em diversas concentrações. Concluíram ser o ácido perclórico 5N o mais adequado para acidificação do esteatócrito. No presente estudo, utilizamos ácido perclórico 1N. A

aquisição deste ácido, além das dificuldades normais de compra e importação de reagentes, torna-se difícil pelo fato deste material ser utilizado na fabricação de bombas. Isto torna a compra deste reagente muito complexa, inclusive com intervenção policial. Assim, optamos por utilizarmos o ácido perclórico na apresentação disponível no laboratório.

4.4 CÁLCULO DO ESTEATÓCRITO

Este cálculo é igual para todas as técnicas.

O valor do esteatócrito foi calculado pela seguinte fórmula:

$$E = \frac{G}{G + S} \times 100\%$$

onde: E= esteatócrito

G= camada de gordura

S= camada sólida (resíduos fecais descontando-se a areia)

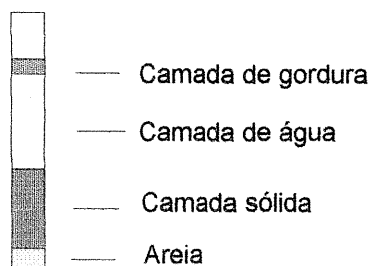


FIGURA 4- Esquema de um capilar de microhematócrito após centrifugação.

4.5 AVALIAÇÃO DA PROPORCIONALIDADE ENTRE A QUANTIDADE DE GORDURA ACRESCENTADA E O ESTEATÓCRITO

Para a realização desta avaliação foram utilizadas amostras de fezes de 1,0 g de peso. A estas amostras foram acrescentadas quantidades variáveis e crescentes de gordura (0,025 g; 0,05 g; 0,10 g; 0,15 g; 0,20 g; 0,25 g; 0,30 g; 0,35 g; 0,40 g e 0,45 g). Isto foi realizado para avaliarmos se, em diferentes quantidades de gordura adicionada, haveria discrepâncias nos resultados.

O primeiro momento do estudo foi a realização do esteatócrito pela técnica clássica com 4 diferentes tipos de gordura (manteiga, margarina vegetal, óleo de sementes e óleo de canola) com o fim de estabelecer ou não uma correlação do tipo de gordura com os valores do esteatócrito.

4.6 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COLESTEROL E TRIGLICERÍDEOS NAS FEZES

Realizamos a técnica da determinação da concentração de colesterol e triglicerídeos nas fezes conforme os passos abaixo descritos e de acordo com LEE, CROOK, NOEL et alii (1994):

- 1) homogeneização da amostra de fezes,
- 2) pesagem de aproximadamente 0,10 g de fezes,
- 3) homogeneização do material com 100 μ l do calibrador e também adição da solução de preservação;
- 4) adição de 1,5 ml de extrator ao material e homogeneização;
- 5) agitação durante 2 minutos;
- 6) centrifugação do material durante 15 minutos a 5000 rpm;
- 7) o sobrenadante é separado do resíduo fecal;
- 8) doseamento enzimático de colesterol e triglicerídeos no sobrenadante e
- 9) leitura em espectrofotômetro a 510 nm.

Previamente ao início do trabalho, elaboramos as soluções utilizadas:

1) Extrator- solução de Brij 35, Triton X-100 e HCl em solução fisiológica (utilizamos Brij 35 e não Brij 30 como no original, explicado adiante). O Brij 35 é o polioxietileno 4 lauril-éter e o Brij 30 o 23 lauril éter.

2) Solução de preservação- solução de formalina em HCl 0,1 mol / L.

4.6.1 Reagentes enzimáticos para a determinação de colesterol e triglicerídeos:

- colesterol- kit marca Merck

- triglicerídeos- kit marca Merck

4.6.2 Calibrador utilizado: Precipath -U cujas concentrações de colesterol e triglicerídeos eram as seguintes:

-colesterol- 103-139 (121) mg / dl

- triglicerídeos- 106-144 (125) mg / dl

4.7- DELINEAMENTO

Estudo do tipo quase- experimento.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

4.8.1 Esteatócrito

O coeficiente de correlação de Spearman (r_s) foi calculado para analisar a relação entre o esteatócrito e a concentração de gordura acrescentada às fezes.

Foram também calculados os coeficientes de variação (CV) intra-ensaio e interensaio de cada uma das técnicas estudadas.

4.8.2 Determinação da concentração de colesterol e triglicerídeos nas fezes

Foram calculadas a percentagem da recuperação e o coeficiente de variação.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 Valores do esteatócrito pelo método clássico (técnica 1) em 22 voluntários

Inicialmente, foi conduzido um estudo no sentido de avaliar-se o esteatócrito em indivíduos adultos sadios normais. Paralelamente à coleta de fezes e determinação do esteatócrito, era solicitado aos voluntários que preenchessem um diário alimentar de três dias (domingo, segunda e terças-feiras), coletando uma amostra da primeira evacuação após estes dias. Os resultados desta fase do trabalho estão resumidos nas tabela 12.

Os resultados das Kcal / dia expressam a média das calorias ingeridas nos três dias em estudo, assim como os lipídeos (expressos em porcentagem das calorias ingeridas). Foram avaliados 17 diários alimentares de um total de 22 esteatócritos realizados com sucesso. Obtivemos uma devolução de 77,27% dos diários alimentares.

TABELA 12- RESULTADOS DO ESTEATÓCRITO, KCAL E PERCENTAGEM DE LIPÍDEOS DOS VOLUNTÁRIOS ESTUDADOS

VOLUNTÁRIO	ESTEATÓCRITO	Kcal	% LIPÍDEOS
1	0	2107,76	40,90
2	4,44	1759,94	37,33
3	0	2303,33	44,03
4	0	1324,34	39,11
5	0	1457,02	32,98
6	3,49	1839,67	38,31
7	0	1800,76	27,91
8	0	1995,66	29,86
9	0	2178,34	41,71
10	0	1608,61	40,05
11	0	2090,00	33,15
12	0	-	-
13	0	2303,57	35,43
14	5,15	-	-
15	1,78	1088,00	40,53
16	2,08	-	-
17	6,90 /2,92*	-	-
18	2,74	-	-
19	0	1992,66	27,09
20	0	1979,00	27,19
21	0	1081,00	25,80
22	0	1672,00	32,11

Os voluntários 12, 14, 16, 17 e 18 não entregaram seus diários alimentares.

Nesta tabela, há dois resultados diferentes para o voluntário 17, isto porque, no primeiro teste, a leitura do capilar foi extremamente difícil pois a separação das camadas não era nítida o suficiente para permitir uma leitura sem problemas. Como tentativa de solução foi realizada uma centrifugação maior do material e realizada nova leitura (segundo resultado expresso na mesma tabela).

Em apenas um teste (não colocado na tabela) não foi possível a leitura do capilar por total impossibilidade de separação das camadas.

As dificuldades de leitura em alguns testes e a modificação do valor do esteatócrito com modificação do tempo de centrifugação motivou questionamentos sobre a técnica. O surgimento de artigos sobre variações na execução do esteatócrito também levaram a uma modificação no enfoque do estudo.

Desta fase, ressalta-se, além dos resultados obtidos, a dificuldade de alocar-se voluntários. Parte desta dificuldade deveu-se à necessidade de coleta de sangue (os voluntários deviam preencher os critérios de inclusão já expostos) e à natureza do material em estudo.

5.2 Estudo das diferentes técnicas do esteatócrito

Devido a artigos criticando o método clássico e publicações controvertidas, resolvemos avaliar as diferentes técnicas para realização do esteatócrito.

Para avaliarmos a proporcionalidade entre o esteatócrito e a gordura contida nas fezes adicionamos quantidades conhecidas de gordura ao material em estudo.

5.2.1 Escolha da gordura a ser acrescentada às fezes

Uma vez decidido avaliar-se os diferentes métodos de determinação do esteatócrito tomamos por base o trabalho de IACONO, CARROCCIO, ALONGI et alii (1990) que utilizou manteiga acrescida às fezes para estudo dos valores do esteatócrito obtidos com acréscimos de quantidades conhecidas de gordura. Para verificar se tipos diferentes de gordura poderiam interferir nos resultados do teste, estudamos 4 (quatro) diferentes tipos de gorduras, a saber: 2 (duas) gorduras sólidas (manteiga e margarina vegetal) e 2 (duas) líquidas (óleo de canola e óleo de sementes). Foram realizados testes com os homogeneizados de fezes pela técnica 1. Os resultados destes testes estão demonstrados nas figuras 5 a 8 e na tabela 13. Nas figuras, cada ponto representa a média de três valores.

O esteatócrito das fezes usadas no estudo era 0 (zero) de acordo com a técnica de IACONO, CARROCCIO, ALONGI et alii (1990) (técnica 1) e com os métodos validados por MELLO (1993).

Observamos que, conforme aumentava o teor de gordura acrescida às fezes, surgiam grumos no homogeneizado de fezes após homogeneização no vortex. Estes grumos surgiam a partir de 30 g de gordura / 100 g de fezes e tornavam-se cada vez maiores, chegando mesmo a formar um sobrenadante constituído por um único grumo.

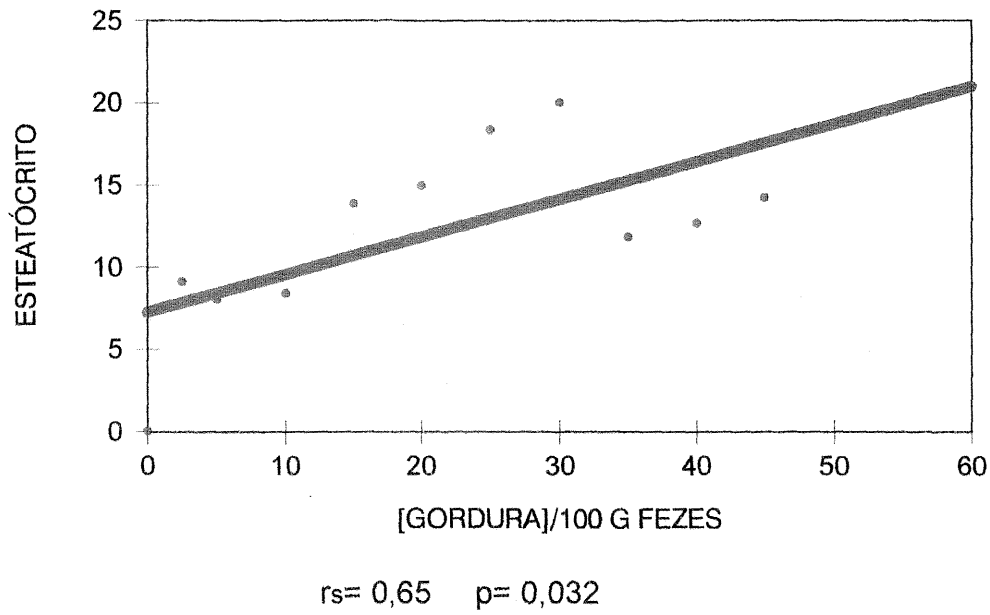


FIGURA 5- Relação entre o esteatócrito e a adição de quantidades crescentes de manteiga às fezes (técnica 1).

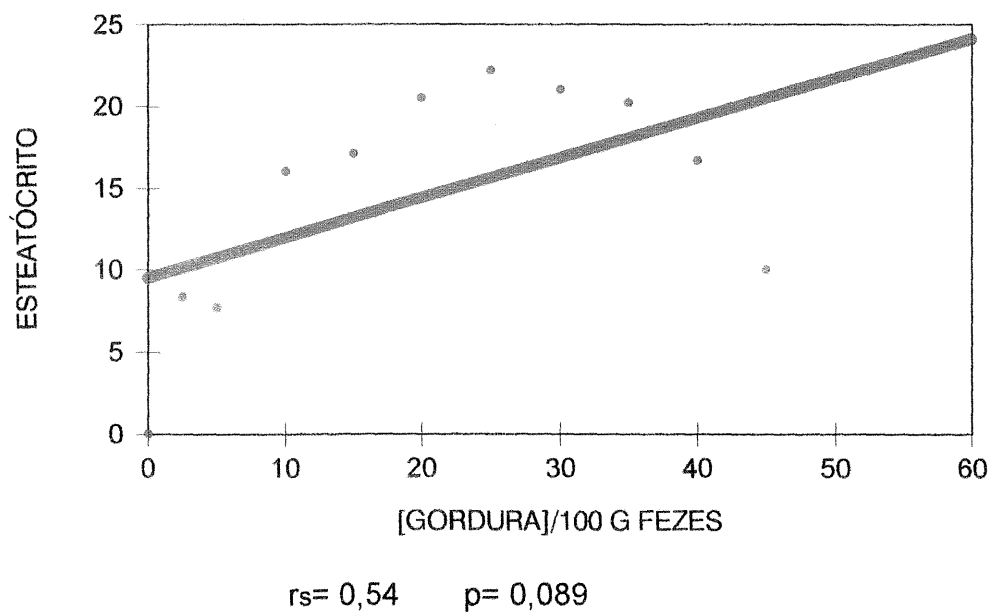
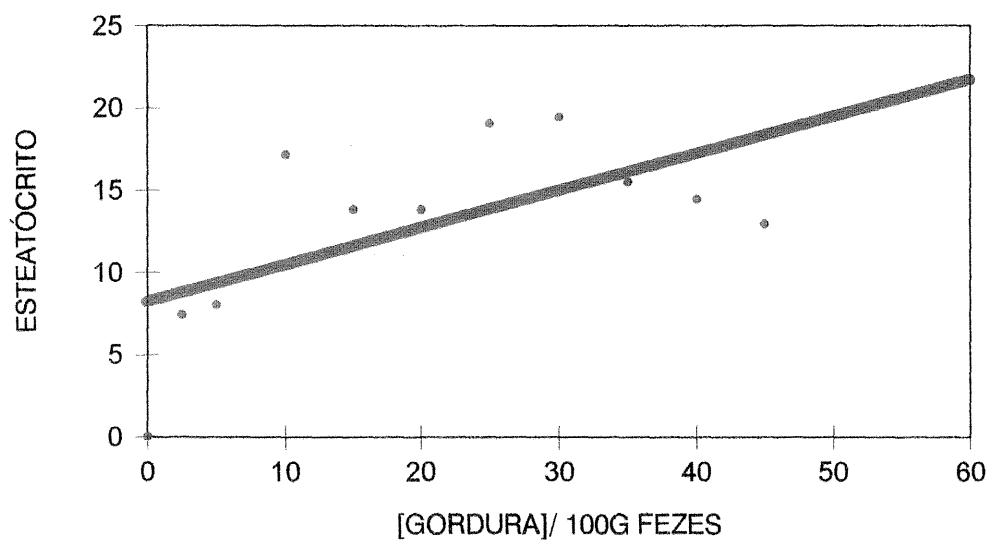
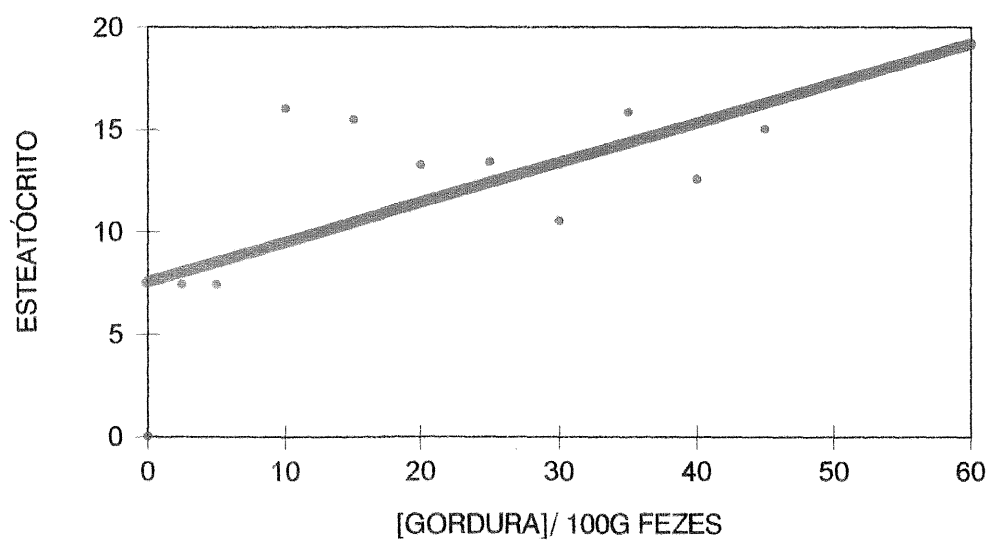


FIGURA 6- Relação entre o esteatócrito e a adição de quantidades crescentes de margarina vegetal (técnica 1).



$$r_s = 0,53 \quad p = 0,091$$

FIGURA 7- Relação entre o esteatócrito e a adição de quantidades crescentes de óleo de sementes às fezes (técnica 1).



$$r_s = 0,47 \quad p = 0,145$$

FIGURA 8- Relação entre a adição de quantidades crescentes de óleo de canola às fezes (técnica 1).

Os resultados dos gráficos acima expostos foram retirados da tabela 13 mostrada a seguir.

Importante notar nos dados demonstrados que há uma queda nos valores do esteatócrito a partir da concentração de 30 g de gordura / 100 g de fezes. Há uma exceção a esta queda, o óleo de canola.

TABELA 13- VALORES DO ESTEATÓCRITO PELA TÉCNICA 1- COMPARATIVO DOS 4 (QUATRO) TIPOS DE GORDURA

[GORDURA]	ESTEATÓCRITO (%)			
[GORDURA]ADICIONADA (G)/100G DE FEZES	MANTEIGA	MARGARINA VEGETAL	ÓLEO SEMENTES	DE ÓLEO DE CANOLA
2,50	9,09	8,33	7,41	7,41
5,00	8,01	7,69	8,01	7,41
10,00	8,37	16,0	17,14	16,02
15,00	13,85	17,09	13,80	15,47
20,00	14,96	20,50	13,80	13,24
25,00	18,35	22,20	19,04	13,39
30,00	20,00	21,00	19,44	10,53
35,00	11,80	20,20	15,47	15,83
40,00	12,65	16,66	14,42	12,55
45,00	14,20	10,00	12,91	14,99

A gordura escolhida para o seguimento do trabalho foi a manteiga pois foi esta a gordura que apresentou o melhor coeficiente de correlação ($r= 0,65$). Os coeficientes de correlação das demais gorduras foram:

- margarina vegetal- $r= 0,54$

-óleo de sementes- $r= 0,53$

-óleo de canola- $r= 0,47$

Observamos que para os duas gorduras líquidas o coeficiente de correlação (coeficiente de correlação de Pearson) foi o mesmo.

A manteiga foi a gordura utilizada por IACONO, CARROCCIO, ALONGI et alii (1990).

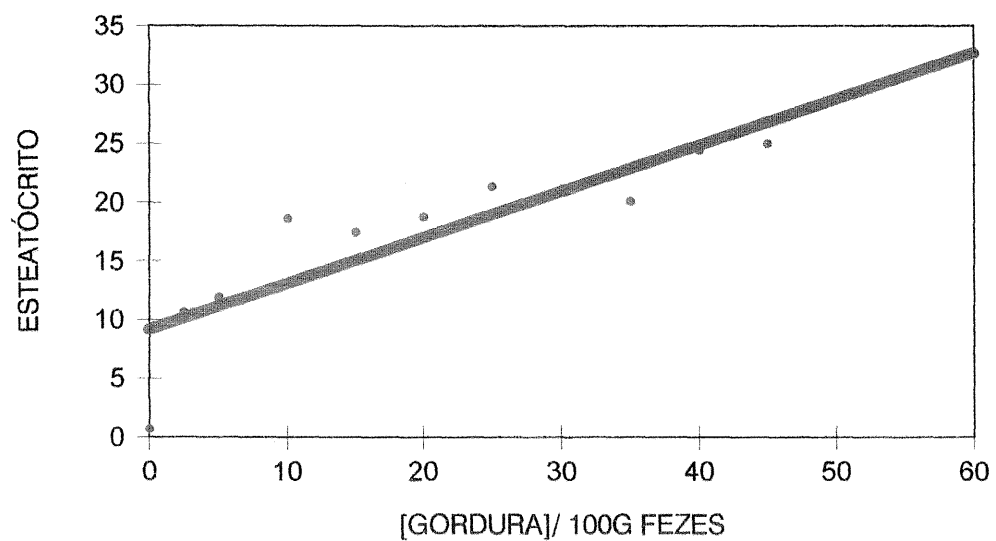
5.2.2 Avaliação da proporcionalidade entre a taxa de gordura acrescentada e as diferentes técnicas do esteatócrito

De posse dos resultados anteriormente expressos e tendo escolhido a manteiga como gordura para seguimento do estudo, realizamos o esteatócrito pelas seis técnicas já descritas anteriormente. Os resultados obtidos estão demonstrados na tabela 14.

TABELA 14- RESULTADOS DO ESTEATÓCRITO NAS 6(SEIS) DIFERENTES TÉCNICAS ESTUDADAS

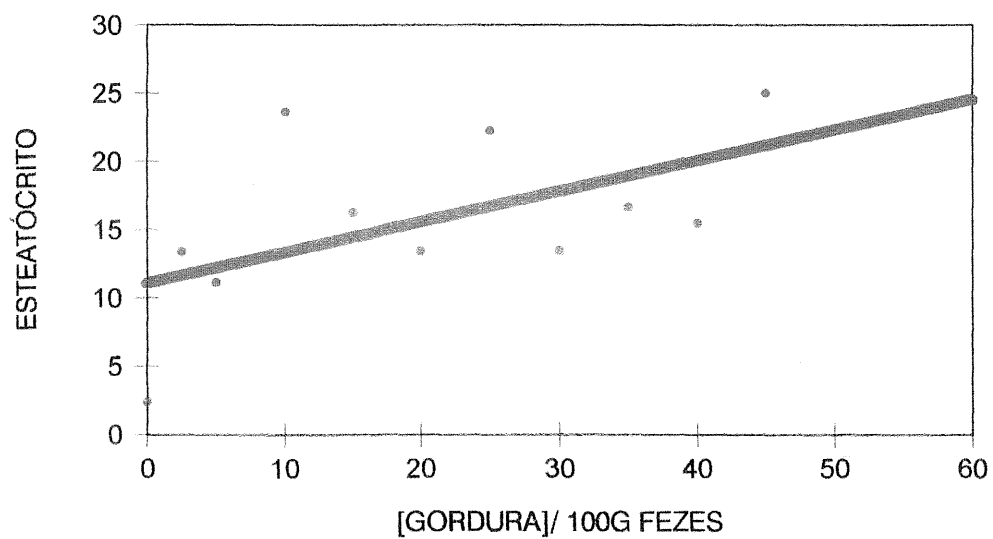
GORDURA [GORDURA]ADICIONADA (G)/100G FEZES	ESTEATÓCRITO (%)					
	TÉCNICA 1	TÉCNICA 2	TÉCNICA 3	TÉCNICA 4	TÉCNICA 5	TÉCNICA 6
0	0	0,63	2,35	1,06	7,29	1,41
2,50	9,09	10,60	13,35	18,18	19,92	36,24
5,00	8,01	11,87	11,10	15,50	25,99	40,33
10,00	8,37	18,56	23,60	23,98	43,68	38,39
15,00	13,85	17,39	16,23	29,75	34,69	40,42
20,00	14,96	18,71	13,39	30,00	32,56	36,51
25,00	18,35	21,30	22,22	40,40	41,02	41,98
30,00	20,00	21,05	13,39	53,02	46,12	50,71
35,00	11,80	20,04	16,60	43,88	47,57	40,05
40,00	12,65	24,40	15,44	44,11	43,24	47,80
45,00	14,20	24,93	24,95	31,92	42,54	41,44

Os dados numéricos expostos acima estão representados nas figuras 9 a 13 (onde cada ponto representa a média de três valores).



$$r_s=0,94 \quad p < 0,001$$

FIGURA 9- Relação entre o esteatócrito e a adição de quantidades crescentes de manteiga pela técnica 2.



$$r_s= 0,65 \quad p= 0,031$$

FIGURA 10- Relação entre o esteatócrito e quantidades crescentes de manteiga adicionada às fezes pela técnica 3.

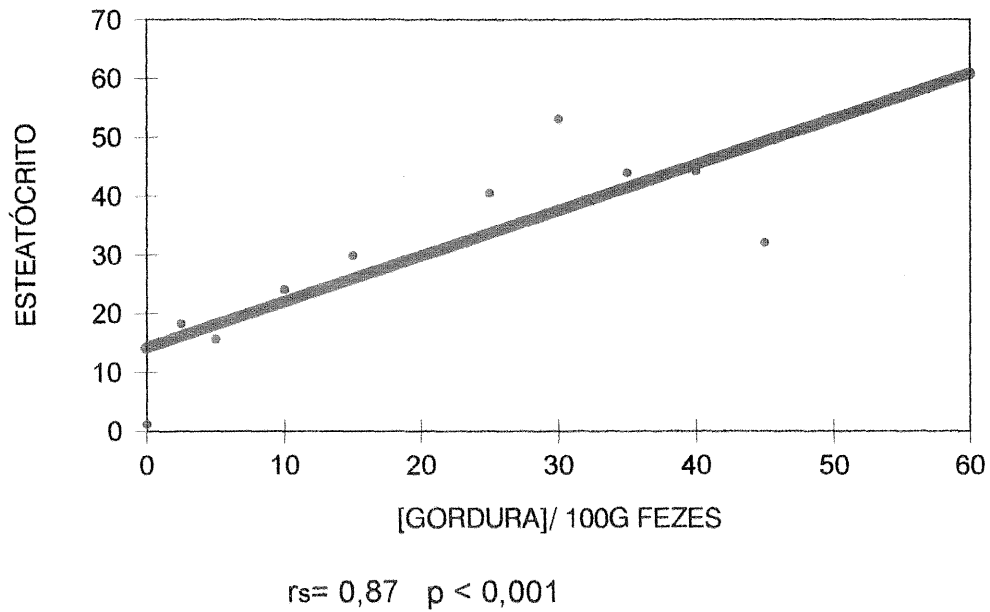


FIGURA 11- Relação entre o esteatócrito e quantidades crescentes de manteiga adicionada às fezes pela técnica 4.

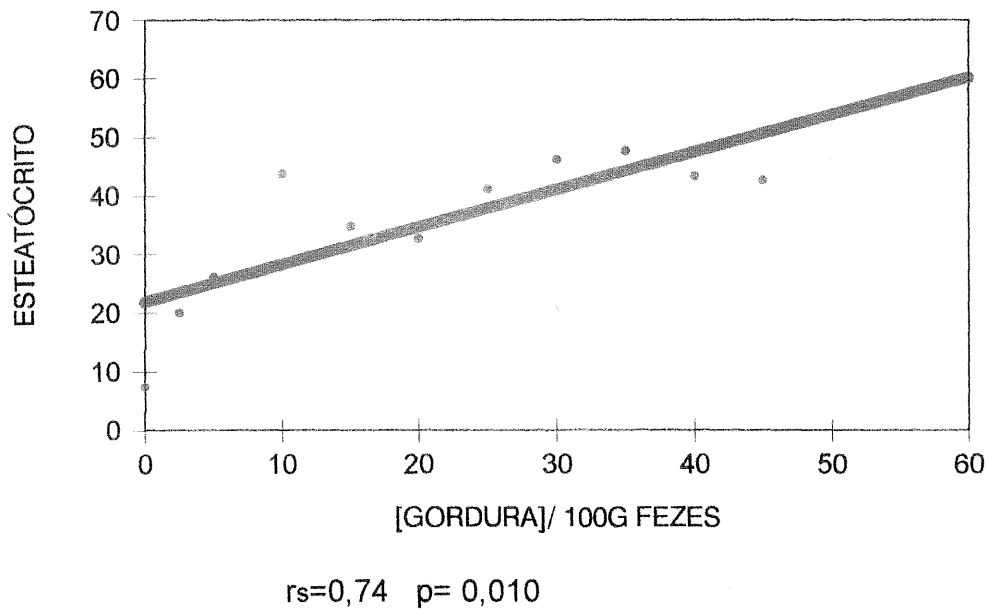
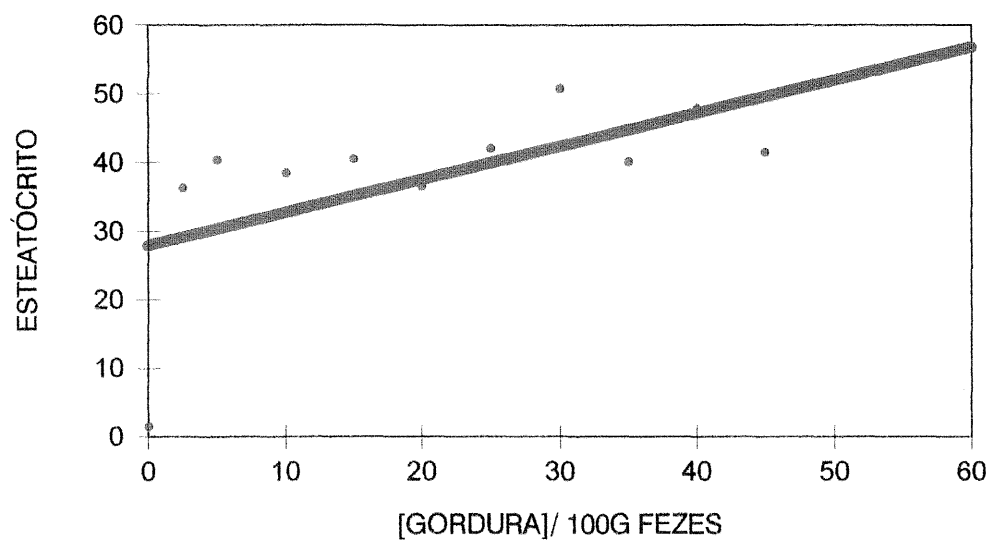


FIGURA 12- Relação entre o esteatócrito e quantidades crescentes de manteiga adicionada às fezes pela técnica 5.



$$r_s = 0,73 \quad p = 0,11$$

FIGURA 13- Relação entre o esteatócrito e quantidades crescentes de manteiga adicionada às fezes pela técnica 6

Para os dados expostos anteriormente, obtivemos os seguintes coeficientes de correlação "rs" (Coeficiente de correlação de Spearman).

TABELA 15-COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE SPEARMAN PARA AS DIFERENTES TÉCNICAS DO ESTEATÓCRITO

TÉCNICA	rs	p
1	0,65	0,032
2	0,94	< 0,001
3	0,65	0,031
4	0,87	< 0,001
5	0,74	0,010
6	0,73	0,011

Podemos observar que pelos dados até aqui demonstrados, a técnica 2 parece ser a melhor.

5.2.3 Determinação da variação intra-ensaio e interensaio

Tomando-se o valor de acréscimo de gordura de 25 g / 100 g de fezes, foram realizados testes do esteatócrito com o intuito de determinar as variações intra-ensaio e interensaio para cada técnica. Escolhemos esta concentração de gordura pois, conforme já mencionado anteriormente, a partir de 30 g de gordura / 100 g de fezes há uma queda (de modo geral) no valor do esteatócrito.

5.2.3.1 Determinação da variação intra-ensaio

Os testes para uma mesma técnica eram realizados em um mesmo dia, com 20 testes para cada técnica. Os resultados estão expressos na tabela 16.

Com os resultados obtidos, foram calculadas a média, o desvio padrão e, a partir destes, o coeficiente de variação para cada técnica.

5.2.3.2 Determinação da variação interensaio

Com os mesmos frascos utilizados para a realização dos testes intra-ensaio, foram realizados testes para a variação interensaio. O esteatócrito foi determinado num prazo de 5 a 7 dias após os primeiros testes. Realizaram-se, também, 20 determinações para cada técnica. Resultados também demonstrados na tabela 16.

Como no item 5.2.3.1, foram calculadas a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação.

Observamos que há um aumento progressivo no valor do esteatócrito da técnica 1 a técnica 5, exceção à técnica 6 (onde há um decréscimo, ficando o valor inferior ao da técnica 1). Paralelamente ao aumento do esteatócrito, há um aumento no valor dos desvios padrão e, conseqüentemente, nos coeficientes de variação. Esta última observação é válida para a variação intra-ensaio, já que, na interensaio, o valor do desvio padrão mantém-se relativamente constante. Quanto ao coeficiente de variação há também uma variabilidade pequena, exceção à técnica 3, cujo

coeficiente de variação apresenta-se bastante elevado. Estes resultados podem ser vistos na tabela 16, a seguir.

TABELA 16- VALORES DA MÉDIA, DESVIO PADRÃO E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO INTRA-ENSAIO E INTERENSAIO

VARIAÇÃO	TÉCNICA 1	TÉCNICA 2	TÉCNICA 3	TÉCNICA 4	TÉCNICA 5	TÉCNICA 6
I						
N	M=25,65	M=26,71	M=31,18	M=31,23	M=35,31	M=25,00
T	DP=1,96	DP=2,52	DP=3,29	DP=4,29	DP=3,85	DP=5,68
R	CV=7,67%	CV=9,45%	CV=10,57%	CV=13,73%	CV=10,90%	CV=22,74%
A						
I						
N	M=25,26	M=25,83	M=24,47	M=28,82	M=40,73	M=33,67
T	DP=4,47	DP=4,30	DP=7,80	DP=5,57	DP=5,51	DP=4,36
E	CV=17,71%	CV=16,67%	CV=31,88%	CV=19,34%	CV=13,53%	CV=12,95%
R						

onde: M= média

DP= desvio padrão

CV= coeficiente de variação

Para a variação intra-ensaio obtivemos $p= 0,6068$ e para a intraensaio $p= 0,7644$.

5.3 Determinação da concentração de colesterol e triglicerídeos nas fezes

Como já mencionado no item Material e Método, elaboramos o primeiro extrator (solução de extração) com o Brij 35 por não dispormos do Brij 30.

Procedemos a execução da técnica como recomendado na literatura.

5.3.1 Testes de recuperação com Brij 35

Elaborado o extrator com o Brij 35, realizamos teste de extração/recuperação para avaliarmos se o novo extrator era capaz de extrair o colesterol e os triglicerídeos acrescentados às fezes na forma de calibrados Precipath-U. Os resultados do uso deste extrator estão expressos na tabela 17.

TABELA 17- RESULTADO DAS EXTRAÇÕES DE COLESTEROL E TRIGLICERÍDEOS COM BRIJ 35

TESTE	FEZES(G)	CALIBRADOR(μ l)	(%) DE RECUPERAÇÃO COLESTEROL	(%) DE RECUPERAÇÃO TRIGLICERÍDEOS
1	0,10	200	2,00	38,00
2	0,10	300	7,80	74,00
3	0,10	400	0	41,00

A média da extração do colesterol foi de 3,20% e dos triglicerídeos de 63,60%.

5.3.2 Testes de recuperação com Brij 30

Face aos resultados acima, concluímos que o extrator elaborado com Brij 35 não era capaz de extrair o colesterol e os triglicerídeos adicionados às fezes. Iniciamos o processo de importação do Brij 30. Uma vez concluída esta etapa, foram

iniciados os testes com o novo extrator e obtidos os resultados relacionados nas tabelas 18 e 19.

TABELA 18- RESULTADOS DA EXTRAÇÃO/ RECUPERAÇÃO DE COLESTEROL NAS FEZES COM O USO DO BRIJ 35

CALIBRADOR (μ L)	COLESTEROL (MG/G)		
	ESPERADO	OBTIDO	% RECUPERAÇÃO
100	0,92	0,76	82,60
100	0,96	0,77	80,20
100	0,97	1,06	109,30
100	0,91	0,94	103,30
100	0,91	0,71	78,00
100	0,90	0,61	67,70
100	0,93	0,68	73,10
100	0,99	0,71	71,70
100	0,92	0,73	79,30

A média de recuperação de colesterol foi de $82,80 \pm 14,2\%$.

TABELA 19- RESULTADOS DA EXTRAÇÃO/RECUPERAÇÃO DE TRIGLICERÍDEOS NAS FEZES COM O USO DO BRIJ 30.

CALIBRADOR (μL)	TRIGLICERÍDEOS (MG/G)		
	ESPERADO	OBTIDO	% RECUPERAÇÃO
100	0,93	0,42	45,20
100	0,95	0,61	64,20
100	0,96	1,17	121,90
100	0,92	2,53	275,00
100	0,92	0,44	47,80
100	0,91	0,65	71,40
100	0,93	0,72	77,40
100	1,01	0,67	66,30
100	0,92	2,30	250,00

A média de recuperação de triglicerídeos foi de $113,2 \pm 87,67\%$.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

As dificuldades envolvendo o manuseio de material fecal foi relatado por vários autores (ROSEMBERG & CITRIN, 1981; GOLDSTEIN, BLONDHEIM, LEVY et alii 1983; THORSGAARD PEDERSEN, 1987; IACONO, CARROCCIO, CAVATAIO et alii 1990; IACONO, CARROCCIO, MONTALTO et alii, 1991; McNEELY, 1991; RILEY & TURNBERG, 1993). No presente estudo, tivemos dificuldade na alocação de voluntários. A necessidade de coleta de fezes, mesmo que uma pequena amostra, bem como a coleta de sangue, fazia com que alguns indivíduos se recusassem a entrar no estudo. Temos certeza de que a natureza do material em estudo tornou o trabalho pouco “atrativo” aos possíveis voluntários (não chegamos ao extremo de atribuir isto à natureza repugnante do material, como afirmado por McNELLY (1991)). Não achamos justificativa para a recusa baseada na necessidade da coleta de sangue. A não devolução dos diários alimentares teve como motivo principal o preenchimento incorreto do mesmo.

Tomando como base os dados dos diários alimentares devolvidos, notamos que a média das calorias ingeridas pelos indivíduos estudados foi de 1879,89 kcal. Esta média é menor do que aquela relatada por ANDERSON (1988) para a população americana em 1979, de 3500 kcal. O mesmo é válido para os lipídeos (35,49% neste trabalho e 43,20% segundo ANDERSON, 1988). Não temos dados referentes à forma de coleta dos dados do trabalho de ANDERSON (1988). As dietas estudadas, no presente trabalho, são dietas de indivíduos jovens, mantidos em sua

dieta habitual. Isto significa que nenhuma dieta padrão foi instituída. Relembramos, aqui, a afirmação de CASTRO & RIBEIRO (1976) sobre a dificuldade de conseguirem que indivíduos normais se submetessem a regime dietético rigoroso para realização do trabalho. As dietas aqui estudadas referem-se a dietas de indivíduos de nível sócio- econômico médio a alto. Não podem ser considerados como representativos da população brasileira (mesmo porque o pequeno número de dietas avaliadas não permite tal tipo de conclusão). A média, em gramas, da gordura ingerida na amostra foi de 74,13 g. Situa-se, portanto, dentro da faixa considerada normal para a população brasileira segundo CASTRO & RIBEIRO (1976) e que é de 53-122 g.

Vale ainda mencionar que a maioria das refeições não foi feita na residência dos indivíduos estudados, dificultando o controle da ingestão de gordura.

Caso a quantidade de gordura ingerida se encontrasse dentro da faixa considerada normal, esperar-se-ia que o valor da excreção fecal de gordura também estivesse dentro dos limites da normalidade. Os valores encontrados para o esteatócrito dos indivíduos estudados variou de 0 a 6,90%. Autores como COLOMBO, MAIAVACCA, RONCHI et alii (1987), D'AGOSTINO & ORSI (1988) e MELLO (1993) afirmam que o valor normal do esteatócrito estaria situado entre 1 e 4%. Ressalta-se que nestes trabalhos a população estudada era constituída basicamente de crianças, sendo as maiores com idades entre 6 e 12 anos. Na revisão da literatura realizada, não encontramos trabalho algum abordando o valor normal do esteatócrito em uma amostra de indivíduos adultos saudáveis. SUGAI, SRUR, VASQUEZ et alii (1994) estudaram adultos e crianças juntos. Baseados nisto, tomamos os valores obtidos para as crianças maiores como parâmetro de comparação inicial. Para fins de cálculo, foi excluído o voluntário 17 da tabela 12

(onde não foi possível a leitura e houve alteração no resultado após alteração no tempo de centrifugação). Assim sendo, para os 21 esteatócritos restantes, foram calculadas a média e o desvio padrão. Os resultados obtidos foram determinados os seguintes valores: mediana= 0, valor mínimo= 0 e valor máximo= 5,15.

Se usarmos como referência o valor de 4% (valor normal máximo encontrado na literatura e referido por D'AGOSTINO & ORSI 1988) temos que apenas dois testes (dos voluntários 2 e 14) tiveram seus valores acima deste limite. Isto significa 9,09% de testes acima do normal.

Outro dado que chama a atenção é que as grandes variações nas calorias ingeridas não se refletiram em equivalente variação nos resultados do esteatócrito, uma vez que o resultado da maioria dos testes ficou abaixo de 4%. Isto está de acordo com a literatura quando afirma-se que variações de ingestão dentro de uma determinada faixa não se acompanham de aumento na excreção fecal de gordura.

Em relação aos testes realizados, em apenas dois tivemos problemas com a leitura (por não diferenciação das camadas ou fases, ou por dificuldade na diferenciação das mesmas). WALTERS, KELLECHER, GILBERT et alii (1990) relatam ter sido esta a principal dificuldade técnica na realização do método e não o recomendam. Estes autores receberam críticas de pesquisadores como BROWN & BOOTH (1990) e GUARINO, TARALLO, GRECO et alii (1992) e explicam estes problemas técnicos através da homogeneização do material, que não teria sido adequada. No presente estudo, a dificuldade de leitura foi vista em um pequeno número de testes, não podendo ser atribuída à realização da técnica, mas a problemas inerentes à mesma e à natureza do material.

O percentual de resultados anormais, a dificuldade de leitura de alguns testes e o surgimento de artigos propondo alterações ao método, levou-nos a estudar o

método em si e não mais o esteatócrito de indivíduos adultos saudáveis. Além do artigo de WALTERS, KELLECHER, GILBERT et alii (1990) criticando o método, o trabalho de TRAN, FORGET, VAN DEN NEUCKER et alii (1994) também suscitou questionamentos quanto ao mesmo. Neste artigo sobre a acidificação do esteatócrito como modo de aprimorar os resultados, os autores relatam um coeficiente de correlação para o método clássico de 0,18. Tal resultado torna o método inviável de ser utilizado. Este resultado está totalmente em desacordo com outros dados referidos na literatura e que relatam coeficientes de correlação variando entre 0,70 a 0,9341 (D'AGOSTINO & ORSI, 1988 e GUARINO, TARALLO, GRECO et alii, 1990 respectivamente). Assim, passamos a estudar o método e as modificações propostas na literatura.

O método escolhido para a realização dos primeiros testes (como descrito por IACONO, CARROCCIO, CAVATAIO et alii (1990) e validado por MELLO (1993)) foi definido como "clássico" e suas variações resultaram em seis diferentes modos (denominados técnicas) de realizar-se o esteatócrito (vide tabela 11).

Para iniciarmos este estudo, propusemo-nos a adicionar gorduras às fezes e verificar a proporcionalidade entre a quantidade de gordura adicionada e o valor do esteatócrito, utilizando, para isto, a técnica clássica (técnica 1).

Inicialmente, estudamos a relação entre o tipo de gordura acrescentada às fezes e o esteatócrito com a finalidade de verificarmos se o tipo de gordura teria influência nos resultados dos testes. Observamos diferentes coeficientes de correlação para os diferentes tipos de gorduras. O coeficiente de correlação mais elevado foi obtido com o uso da manteiga ($r = 0,65$). Motivo pelo qual passamos a utilizar esta gordura no seguimento dos testes. Lembramos que a manteiga foi a gordura utilizada por IACONO, CARROCCIO, CAVATAIO et alii (1990). No trabalho

citado, não há menção sobre a utilização de outros tipos de gordura antes ou após o estudo. Durante a escolha da gordura a ser utilizada no estudo, notamos a formação de grumos no homogeneizado de fezes. Relembrando, tais grumos eram progressivamente maiores até que formavam um sobrenadante único. Isto poderia significar a existência de um limiar de saturação de gordura. Observamos, então, uma queda dos valores do esteatócrito a partir da concentração de 30 g de gordura acrescentada / 100 g de fezes. Isto poderia significar, além do limiar de saturação já referido, que o método é útil apenas quando avaliadas baixas concentrações de gordura nas fezes (pois seria incapaz de detectar concentrações mais elevadas). A queda no valor do esteatócrito a partir de 30 g de gordura / 100 g de fezes foi vista com todos os tipos de gordura, porém menos intensa com o óleo de canola. Mesmo com variações nos coeficientes de correlação entre as gorduras, todas comportaram-se de modo semelhante, indicando que a queda verificada não era característica de um tipo especial de gordura mas do método propriamente dito.

O próximo passo, uma vez escolhida a gordura, foi a realização da avaliação da proporcionalidade da quantidade de gordura acrescentada e o esteatócrito pelas seis técnicas já descritas. Cabe aqui comentar alguns pontos referentes ao método e suas modificações.

Conforme dados da tabela 14, vemos que a queda nos valores do esteatócrito a partir de 30 g de gordura / 100 g de fezes vista para a técnica clássica repete-se para as demais técnicas. A exceção a isto é a técnica 2. Nesta técnica a elevação dos valores é mínima. Na técnica 3 há uma queda no esteatócrito a partir de 25 g de gordura / 100 g de fezes a valores semelhantes aqueles vistos quando são acrescentadas quantidades de 2,5 g e 15 g de gordura / 100 g de fezes. Vemos que, para, as modificações o comportamento da técnica é semelhante ao da técnica

clássica, evidenciando um comportamento próprio da técnica e não de um modo especial de realizá-la. Há uma reafirmação da idéia de um limiar de saturação de gordura. Isto quer dizer que nem a melhora da homogeneização, nem o aquecimento ou a acidificação são capazes de mudar o comportamento da técnica quanto a grandes quantidades de gordura. Isto poderia explicar os resultados normais do esteatócrito em indivíduos com esteatorréia, conforme relatado por TRAN et alii (1994).

Em relação às modificações acima descritas, temos que LLOYD, RAWASHDEH, BOOTH et alii (1992) propuseram ao mesmo tempo o aquecimento das fezes em banho-maria a 75° C durante 10 minutos e aumento no tempo de homogeneização. Os autores não justificam a escolha da temperatura nem do tempo. Obtiveram aumento significativo, com relação à técnica clássica, nos valores do esteatócrito. No presente trabalho, utilizamos duas temperaturas diferentes: 37° C e 75° C (técnicas 3, 4 e 6) e obtivemos aumento nos valores do esteatócrito com as mudanças descritas (tabela 14). O aquecimento do material poderia tornar a gordura mais fluída, facilitando sua separação das fezes (auxiliado por aumento no tempo de homogeneização). O aumento no valor do teste acarretou, também, um aumento no coeficiente de variação da técnica, o que é deletério ao método.

Outra modificação proposta foi a acidificação do esteatócrito. Segundo TRAN, FORGET, VAN DEN NEUCKER et alii (1994), a separação das camadas do esteatócrito seria pH dependente. Assim, a acidificação aumentaria os valores dos testes. No presente estudo, obtivemos, efetivamente, um aumento no valor dos resultados em relação as demais técnicas (tabela 14). Observamos, também, um grande aumento no valor Δ de acréscimo de gordura com a acidificação do

esteatócrito à temperatura ambiente (técnica 5). Tal aumento não se repetiu para a combinação acidificação-aquecimento (técnica 6). No entanto, quando colocadas lado a lado as técnicas 5 e 6, temos um aumento importante no coeficiente de variação da técnica 6 (tabela 16).

Procuramos, através do estudo das seis técnicas, estabelecer uma correlação entre a quantidade de gordura acrescida às fezes e o esteatócrito que permitisse a elaboração de uma curva padrão. Isto significa que tentamos estabelecer uma correlação direta entre o valor do esteatócrito e a quantidade de gordura nas fezes. No entanto, os coeficientes de correlação obtidos não permitiram a elaboração da curva por não situarem-se muito próximo a 1. Obtivemos os seguintes coeficientes de correlação entre os valores crescentes de gordura e o esteatócrito: técnica 1= 0,65; técnica 2= 0,94; técnica 3= 0,54; técnica 4= 0,87; técnica 5= 0,74 e técnica 6= 0,73. Os dados estão esquematizados na tabela 15. Há um fato importante e que merece ser discutido. Quando observamos o valor do esteatócrito para uma determinada quantidade de gordura e para cada técnica, notamos que este aumenta da técnica 1 para a técnica 6. Isto poderia significar que as modificações à técnica clássica (técnica 1) realmente poderiam melhorar a sensibilidade do teste. No entanto, quando confrontamos esta elevação no valor dos testes com os coeficientes de correlação das técnicas, notamos que não há uma melhora nestes valores.

Baseados nisto, não foi possível elaborarmos a curva padrão como pretendido, mesmo quando tomada como referência a técnica 2, pois foi esta a técnica que apresentou o melhor coeficiente de correlação.

Para melhor estudarmos as técnicas, avaliamos a reprodutibilidade (precisão) de cada uma delas. Para tanto, adicionamos às fezes 25 g de gordura / 100 g de fezes. Este valor foi o escolhido pois, como já visto, havia uma queda no valor do

esteatócrito a partir da concentração de 30 g de gordura / 100 g de fezes. A reprodutibilidade foi estudada através de testes de variação intra e interensaio. O coeficiente de variação intra-ensaio para cada técnica está relatado a seguir e pode ser visto na tabela 16: técnica 1= 7,67; técnica 2= 9,45; técnica 3= 10,57; técnica 4= 13,73; técnica 5= 10,90 e técnica 6= 22,74. O melhor coeficiente de variação intra-ensaio foi o da técnica clássica (técnica 1). Os resultados da variação interensaio foram os seguintes: técnica 1= 17,71 técnica 2= 16,67; técnica 3= 31,88; técnica 4= 19,34; técnica 5= 13,53 e técnica 6= 12,95. Nesta etapa, obtivemos como o menor coeficiente de variação o da técnica 2. Como não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores para as seis técnicas, optamos por aquela cujo coeficiente de variação era o menor, ou seja, técnica 2. Os dados também estão expressos na tabela 16.

O valor do coeficiente de variação na técnica 5 foi de 10,90% no presente estudo. Este é um valor muito semelhante ao encontrado por LLOYD, RAWASHDEH, BOOTH et alii (1992) e que foi de 13,1%. Isto demonstra uma execução da técnica dentro dos padrões propostos pelo autor original.

Pelos resultados até aqui discutidos, teríamos que a técnica 2 poderia ser considerada como a mais adequada. Esta técnica soma o melhor coeficiente de correlação a um dos menores coeficientes de variação. Como alternativa teríamos a técnica 5, pois esta tem o terceiro melhor coeficiente de correlação e uma das menores variações nos coeficientes de variação intra e interensaio, cujos valores são também dos mais baixos.

Para estudo da variação interensaio as amostras foram preservadas em *freezer* por um período não superior a 10 dias. As amostras eram descongeladas lentamente, por exposição à temperatura ambiente. GUARINO, TARALLO, GRECO

et alii (1992) relatam que o armazenamento das amostras de fezes por um período de até 2 meses, a uma temperatura de 20° C negativos não alteraria os resultados. Concluimos que o armazenamento teve efeitos danosos sobre os testes. A explicação para este fato pode vir do trabalho de LEE, CROOK, NOEL et alii (1994). Estes justificam o uso de solução de preservação das amostras de fezes como forma de estabilizar o material fecal, desnaturar enzimas hidrolíticas e prevenir a hidrólise alcalina de triglicerídeos.

Ao associarmos os dados obtidos, temos que as melhores técnicas são a de número 2 e a de número 5. Entre estas duas técnicas optamos, como primeira escolha, pela de número 2. Ambas técnicas têm execução idêntica, apenas há, na técnica 5, o acréscimo de ácido perclórico e corante lipídico. Em função das questões levantadas no item Material e Métodos envolvendo a aquisição do ácido, é que recomendamos a técnica 2.

Outros pontos que merecem discussão são a execução da técnica e a leitura dos capilares.

Quanto à execução, vemos que esta é simples e não necessita de equipamentos sofisticados como a técnica descrita por BENINI, CALIARI, GUIDI et alii (1989) (uso do infravermelho). Pela sua simplicidade, torna-se de baixo custo e acessível a todos os laboratórios.

O tempo dispendido, na realização dos testes, foi relativamente longo neste trabalho (4 horas). MELLO (1993) relata que a realização de doze exames demorava cerca de 1 hora e vinte minutos. Essa autora utilizou uma medida padrão na separação da alíquota de fezes. No presente estudo, sempre pesamos as amostras provocando um aumento no tempo de execução. Julgamos que, na rotina de

realização dos testes, o uso da medida padrão facilitaria muito, agilizando, como já visto, os trabalhos. Utilizamos-nos da medida padrão somente para a areia.

Uma vez realizados os testes procedíamos imediatamente a leitura dos capilares. Uma medida que facilitou muito a realização dos testes foi a substituição da régua e lupa (como utilizados anteriormente) pela lupa de maior aumento acoplada a uma régua milimetrada (que divide cada milímetro em 10 unidades métricas). Isto evitou leituras duvidosas, onde os limites das camadas situavam-se entre duas marcas da régua. O uso do corante foi, também, muito importante, pois tornou a camada lipídica mais destacada das demais. Segundo LLOYD, RAWASHDEH, BOOTH et alii (1992) isto é particularmente útil quando as fezes contém poucos pigmentos, como em situações de colestase.

De todos os dados vistos, podemos afirmar que o passo mais importante na realização do método é a homogeneização. Na fase inicial, vimos que havia a formação de grumos conforme era aumentada a concentração de gordura nas fezes. Este achado reforça as afirmações de BROWN & BOOTH (1990) e de GUARINO, TARALLO, GRECO et alii (1992) sobre a importância da homogeneização do material. LLOYD, RAWASHDEH, BOOTH et alii (1992) afirmam que uma dispersão fina e uniforme das fezes é essencial para o sucesso do esteatócrito.

No entanto, a simples determinação da quantidade total de gordura não permite o diagnóstico do sítio da alteração. Apesar de valores muito elevados de excreção fecal de gordura sugerirem doença pancreática (BO-LINN & FORDTRAN, 1984; LEMBCKE, GRIMM & LANKISCH, 1987; BAI, ANDRÜSH, MATELO et alii, 1989; MAROTTA & FLOCH, 1989) isto não é um achado patognomônico (BAI, ANDRÜSH, MATELO et alii, 1989). Um método que fosse capaz de quantificar as diferentes formas de gordura nas fezes seria extremamente útil. Exemplificando: um

aumento na excreção fecal de colesterol teria como origem uma alteração na secreção de bile. Já um aumento na quantidade fecal de triglicerídeos teria como causa alterações pancreáticas. Assim poderíamos, em um só teste, termos o diagnóstico de má digestão ou má absorção de gorduras e a possível localização da sua causa.

Pelo exposto acima é que decidimos estudar o método proposto por LEE, CROOK, NOEL et alli (1994) para quantificação de colesterol e triglicerídeos nas fezes com a finalidade de avaliarmos a possibilidade de introdução deste método na prática clínica. O método une três pontos importantes, quais sejam: quantifica as frações de gordura excretada nas fezes, é de execução simples e rápida e utiliza pequena quantidade de fezes. O uso do espectrofotômetro para a leitura dos resultados não limita o método a centros maiores, uma vez que este equipamento está disponível na maioria dos laboratórios.

As vantagens oferecidas pelo método tornaram-no alvo de atenção e estudo.

Uma vez decidido estudar o método, iniciamos pela elaboração das soluções de preservação e extração.

Na elaboração da solução de extração, ou extrator, não dispúnhamos de um dos reagentes recomendados na literatura (Brij 30). Elaboramos a solução com Brij 35.

Para análise inicial do método, realizamos testes de recuperação, ou seja, acrescentamos uma quantidade conhecida de colesterol e triglicerídeos às fezes e vimos quanto foi recuperado após doseamento. Obtivemos pouca recuperação de colesterol e triglicerídeos (tabela 17).

Como podemos observar, os valores para a recuperação são muito baixos. Visualmente, havia diferença de cor entre as amostras com diferentes concentrações

de calibrador. Tal diferença não se refletia no resultado final após leitura no espectrofotômetro. Isto foi atribuído, em parte, à turvação do branco. Procedemos algumas tentativas de solução, como a filtragem do sobrenadante e o aquecimento das amostras já preparadas para leitura. Os resultados permaneciam aquém do esperado. O motivo de tais resultados negativos poderia ser multifatorial: 1) falha do extrator pelo uso do Brij 35 e não do Brij 30; 2) reação entre o calibrador e as fezes; 3) reação entre o extrator e os reagentes de colesterol e triglicerídeos levando a erro de leitura no espectrofotômetro; 4) o filtro poderia reter parte do calibrador.

Os resultados da extração/ recuperação com o Brij 35 estão expressos na tabela 17. Vemos que os resultados são extremamente baixos, 3,20% para colesterol e 63,60% para os triglicerídeos. Concluimos que o Brij 35 não poderia ser usado no extrator. Iniciamos a importação do Brij 30 (processo que demorou seis meses). Com a elaboração do novo extrator, obtivemos melhora significativa da extração/ recuperação de colesterol e triglicerídeos. Os resultados desta etapa do trabalho estão expressos nas tabelas 18 e 19. Para o colesterol, a recuperação foi de $82,8 \pm 14,2\%$. Para os triglicerídeos foi de $113,2 \pm 87,67\%$.

Podemos observar que a recuperação foi boa, tanto para o colesterol como para os triglicerídeos. Ao mesmo tempo, percebemos que a técnica tem uma reprodutibilidade ruim, especialmente quanto aos triglicerídeos. Analisando, separadamente, a extração/ recuperação do colesterol podemos dizer que esta técnica pode ser utilizada na clínica diária. Segundo COPELAND (1986), a variação nos resultados pode ou não ter importância. Isto vai depender se o limite de variação permitir decisões médicas úteis, qual o uso médico dos resultados dos testes. Tomamos, como exemplo, o coeficiente de variação para métodos manuais de

determinação de glicose, cujos coeficientes de variação atingem valores tão elevados quanto 13,1 ou 13,4.

As observações acima não podem ser aplicadas aos triglicerídeos, pois os valores encontrados demonstram uma péssima reprodutibilidade.

Os valores encontrados por LEE, CROOK, NOEL et alii (1994) foram: $107 \pm 3\%$ para a recuperação de colesterol e $117 \pm 12\%$ para a recuperação de triglicerídeos. Observamos que, assim como neste estudo, LEE, CROOK, NOEL et alii (1994) também encontraram valores de recuperação maiores com reprodutibilidade menor para os triglicerídeos do que para o colesterol.

Os valores encontrados neste trabalho para colesterol e triglicerídeos, nas fezes estudadas sem acréscimo de calibrador,, foram de $0,69 \pm 0,28$ mg / g de fezes para o colesterol e $0,75 \pm 0,88$ mg / g de fezes para os triglicerídeos. Estes valores estão de acordo com o trabalho de LEE, CROOK, NOEL et alii (1994) onde são citados como normais, para colesterol e triglicerídeos, valores menores do que 4 mg / g de fezes.

Quanto à realização do método, e aqui traçamos um paralelo com o esteatócrito, este é de execução simples e rápida, com um tempo total de realização de cerca de 2 horas (entre pesagem do material em balança analítica até a leitura no espectrofotômetro).

Não podemos negar o valor que os dois métodos, esteatócrito e determinação da concentração fecal de colesterol e triglicerídeos, têm. Ambos tentam solucionar os problemas de coleta, armazenamento e manuseio de grandes quantidades de fezes (questão comum ao método de van de Kamer). Ambos são de execução simples e relativamente rápida e não requerem equipamentos sofisticados. Tal como

apresentam vantagens e facilidades comuns, também apresentam um problema comum. Este problema seria a grande variabilidade dos resultados obtidos. A execução do esteatócrito pela técnica 2, cujo coeficiente de correlação é de 0,94, minimiza o problema sem resolvê-lo na sua totalidade. Isto não torna a técnica imprópria para a rotina de investigação de pacientes com suspeita de esteatorrêia mas limita sua aplicabilidade. Lembramos, aqui, o relato de TRAN, FORGET, VAN DEN NEUCKEN et alii (1992) de seus resultados negativos em pacientes com esteatorrêia com o uso da técnica clássica.

Apesar da técnica de determinação do colesterol nas fezes apresentar dados que permitam a sua utilização na rotina laboratorial, acreditamos que algumas modificações à técnica original podem melhorá-la, assim como a técnica de doseamento de triglicérides nas fezes, que em nosso entender ainda não pode fazer parte da rotina diagnóstica.

Fazemos nossas as palavras de RILEY & TURNBERG (1993): “ A pesquisa por testes de má absorção de gordura sensíveis e específicos, que não requeiram coleta prolongada de fezes, continua”.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

- 1- O pequeno número de dietas e voluntários estudados não permite conclusões sobre a ingestão de gordura pela população local nem quanto ao valor normal do esteatócrito para uma população de adultos sadios.
- 2- Há um limiar de saturação de gordura para a técnica do esteatócrito, limiar este situado na concentração de 30 g de gordura / 100 g de fezes ou mais.
- 3- O esteatócrito é uma técnica de execução simples e relativamente rápida.
- 4- O aquecimento, acidificação e o maior tempo de homogeneização elevam o valor do esteatócrito ao mesmo tempo que aumentam a variabilidade dos resultados.
- 5- A adição do corante lipídico facilita a leitura.
- 6- A leitura torna-se mais precisa com o uso de uma lupa de grande aumento com régua de divisões a cada 0,01cm.
- 7- As amostras devem ser processadas o mais breve possível, evitando-se o armazenamento.
- 8- Sugere-se a execução do esteatócrito através da técnica 2.
- 9- A técnica da determinação da concentração fecal de colesterol e triglicerídeos é de execução simples e rápida.
- 10- A técnica da determinação da concentração fecal de colesterol demonstra boa recuperação e reprodutibilidade, permitindo seu uso na prática clínica.
- 11- A técnica da determinação da concentração fecal de triglicerídeos apresenta boa recuperação, mas reprodutibilidade ruim, não podendo ser recomendada para uso na prática clínica.

ANEXOS

ANEXO 1- Diário alimentar preenchido pelos voluntários

ANEXO 2- Carta de aceitação do trabalho sobre Esteatócrito e suas modificações para o XXXIV Congresso Brasileiro de Gastroenterologia e X Congresso Brasileiro de Endoscopia Digestiva

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, L.; DIBBLE, M.V., TURKKI, P. R.; MITCHELL, H. S.; RYNBERGEN, H. J. Gorduras e outros lipídeos In: _____. **Nutrição**. 17. ed. 1. ANDERSON, L.; DIBBLE, M. V.; TURKKI, P. R.; MITCHELL, H. S.; Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. p. 31-41.
2. ARORA, S.; KASSARJIAN, Z.; KRASINSKI, S. D.; CROFFEY, B.; KAPLAN, M. M.; RUSSEL, R. M. Effect of age on tests of intestinal and hepatic function in healthy humans. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 96, n. 6, p. 1560-1565, jun., 1989.
3. ASENJO, C. F. Criteria for assessing fat absorption in normal subjects and sprue patients. **Am J Trop Med Hyg**, Mclean, v. 1, p. 344-354, 1952.
4. BAI, J.C.; ANDRÜSH, A.; MATELO, G.; MARTINEZ, C.; VAZQUEZ, H.; BOERR, L.; SAMBUELLI. A. Fecal fat concentration in the differential diagnosis of steatorrhea. **Am J Gastroenterol**, Baltimore, v. 84, n. 1, Jan. 1989.
5. BENINI, L.; CALIARI, S.; GUIDI, G.C.; VAONA, B.; TALAMINI, G.; VANTINI, I.; SCURO, L.A. Near infrared spectrometry for faecal fat measurement: comparison with conventional gravimetric and titrimetric methods. **Gut**, London, v. 30, p. 1344-1347, 1989.

6. BENINI, L.; CALIARI, S.; BONFANTE, F.; BARDELLI, E., CASTELLANI, G.; SEMBENINI, C.; BRENTAGANI, M. T.; VANTINI, I. Fecal fat concentration in the screening of steatorrhea. **Digestion**, Basel, v. 53, p. 94-100, 1992.
7. BLACK, D. D. Intestinal lipoprotein metabolism. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, New York, v. 20, n. 2, p. 125-147, 1995.
8. BO-LINN, G. W.; FORDTRAN, J. S. Fecal fat concentration in patients with steatorrhea. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 87, p. 319-322, 1984.
9. BOOTH, C. C.; ALLDIS, D.; READ, A. E. Studies on the site of fat absorption. **Gut**, London, v. 2, p. 168-174, 1961.
10. BRADDOCK, L. R. I.; FLEISHER D. R.; BARBERO, G. J. A physical chemical study of the van de Kamer method for fecal fat analysis. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.89, n.1, p. 231-233, 1985.
11. BROWN, G. A.; BOOTH, I. W. Clinical monitoring of steatorrhea in cystic fibrosis. **Arch Dis Child**, London, v. 65, n. 8, p. 913, Aug. 1990.
12. CARROCCIO, A.; PARDO, F.; MONTALTO, G.; JAPICHINO, L.; IACONO, G.; COLLURA, M.; NOTARBARTOLO, A. Effectiveness of enteric-coated preparations on nutritional parameters in cystic fibrosis. A long term comparative study. **Digestion**, Basel, v. 41, p. 201-206, 1988.

13. CASTRO, L. P.; RIBEIRO, T. C. Determinação da gordura fecal em indivíduos sem esteatorréia, padronização do teste. **Rev Ass Med Bras**, São Paulo, v. 22, n. 11, p. 404-408, Nov. 1976.
14. CAREY, M. C.; SMALL, D. M.; BLISS, C. M. Lipid digestion and absorption. **Annu Rev Physiol**, California, v. 45, p. 651-677, 1983.
15. COLOMBO, C.; MAIAVACCA, R.; RONCHI, M.; CONSALVO, E.; AMORETTI, M.; GIUNTA, A. The steatocrit: a simple method for monitoring fat malabsorption in patients with cystic fibrosis. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, New York, v. 6, n. 6, p. 926-930, Nov./Dec. 1987.
16. COPELAND, B. E. Control de calidad. In: KAPLAN, L.A.; PESCE, A.J. **Química clínica- técnicas de laboratorio, fisiopatología- métodos de análisis, teoría, análisis y correlación**. Buenos Aires: Ed. Panamericana, 1986. p. 361-391.
17. COTTON, P. B. Non-dietary lipid in the intestinal lumen. **Gut**, London, v. 13, p. 675-681, 1972.
18. CSENDES, A.; SMOK, G.; BURDILLES, P.; ANTEZANA, C.; ESPÍNDOLA, M.; ESPÍNDOLA, L.; CSENDES, P. Estudios de malabsorción intestinal en

pacientes con gastrectomia total. **Rev Med Chile**, Santiago de Chile, v. 121, p. 1416-1421, 1993.

19. D'AGOSTINO, D.; ORSI, M. The steatocrit. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, New York, v. 7, n. 6, 1988.

20. DANI, R.; CASTRO, L. P. Defeitos entéricos da absorção. In: _____. **Gastroenterologia Clínica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. v. 1, p. ????-757.

21. DIMAGNO E. P.; GO V. L. W.; SUMMERSKILL W. H. J. Relations between pancreatic enzyme outputs and malabsorption in severe pancreatic insufficiency. **N Engl J Med**, Boston, v. 288, n. 3, p. 813-815, Apr. 1973.

22. DRUMMEY, G. D.; BENSON, J. A.; JONES, C. M. Microscopical examination of the stool for steatorrhea. **N Engl J Med**, Boston, v. 264, n. 2, p. 85- 87, Jan. 1961.

23. ESTEVES, W.; SOARES, L. A. S.; HARTMAN, L.; PEREIRA, A. S. Determination of lipids, including medium-chain fatty acids, in human feces. **Clin Chem**, Washington, v. 28, n. 4, p. 603-605, 1982.

24. FALES, F. W. Evaluation of a spectrophotometric method for determination of total fecal lipid. **Clin Chem**, Washington, v. 17, n. 11, p. 1103-1108, 1971.

25. FEURLE, G. E. Diagnostic value of fecal fat concentration. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 88, n. 3, p. 857-858, Mar. 1985.
26. GANGL, A.; OCKNER, R. K. Intestinal metabolism of lipids and lipoproteins. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 68, n. 1, p. 167-186, 1975.
27. GAZAL, C. H. A. **O inquérito nutricional, a antropometria e a avaliação da absorção intestinal de proteínas e gorduras pela dosagem de alfa-1 antitripsina fecal e do esteatócrito na avaliação nutricional de crianças com cirrose**. Porto Alegre, 1995. Dissertação (Mestrado em Medicina: Pediatria) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
28. GHOSH, S. K.; LITTLEWOOD, J. M.; GODDARD, D.; STEEL, A. E. Stool microscopy in screening for steatorrhea. **J Clin Path**, London, v. 30, n. 8, p. 749-753, Aug. 1977.
29. GOLDSTEIN, R.; BLONDHEIM, O.; LEVY, E.; STANKIEWICZ, H.; FREIER, S. The fatty meal test: an alternative to stool fat analysis. **Am J Clin Nutr**, Bethesda, v. 38, n. 5, p. 763-768, Nov. 1983.
30. GRAHAM, D. Y. Enzyme replacement therapy of exocrina pancreatic insufficiency in man - relation between in vitro enzyme activities and in vivo potency in

- commercial pancreatic extracts. **N Engl J Med**, Boston, v. 296, n. 23, p. 1314-1317, 1977.
31. GUARINO, A.; TARALLO, L.; GRECO, L.; CESARANO, L.; GUANDALINI, S.; RUBINO, A. Reference values of the steatocrit and its modifications in diarrheal diseases. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, **New York**, v. 14, n. 3, p. 268-274, 1992.
32. HOFMANN, A.F.; MANIER, J.W. Fecal fat concentration: determinants and diagnostic value. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 89, n. 1, p. 231-233, jul., 1985.
33. HOLMES, G. K. T. Do we still need to measure faecal fat? **Br Med J**, London, v. 296, p. 1552-1553, June, 1988.
34. IACONO, G.; CARROCCIO, A.; ALONGI, A.; MONTALTO, G.; CAVATAIO, F.; COMPARETTO, L.; BALSAMO, V.; NOTARBARTOLO, A. The steatocrit test as a guide in the prevention of cow's milk enteropathy following acute infectious enteritis. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, New York, v. 11, n. 1, p. 48-52, 1990.
35. IACONO*, G.; CARROCCIO, A.; CAVATAIO, F.; MONTALTO, G.; MANCUSO, C., BALSAMO, V.; NOTARBARTOLO, A. Steatocrit test: normal

- range and physiological variations in infants. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, New York, v. 11, n. 1, p. 53-57, 1990.
36. IACONO, G.; CARROCCIO, A.; MONTALTO, G.; CAVATAIO, F.; BALSAMO, V.; NOTARBARTOLO, A. Steatocrit test after a standard fatty meal: a new simple and sensitive test to detect malabsorption. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, New York, v. 13, n. 2, p. 161-167, 1991.
37. JACOBSON E. D.; LEVINE, J. S. Digestion and absorption of lipids. In: _____. **Clinical GI Physiology for the Exam Taker**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. p. 83-91.
38. KHOURI, M.R.; HUANG, G.; SHIAU, Y. F. Sudan stain of fecal fat: new insight into an old test. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 96, n. 2, p. 421-427, Feb. 1989.
39. LEE M. J.; CROOK, T.; NOEL, C.; LEVINSON, U. M. Detergent extraction and enzymatic analysis for fecal long-chain fatty acids, tryglicerides and cholesterol. **Clin Chem**, Washington, v. 40, n.12, p. 2230-2234, 1994.
40. LEMBCKE, B.; GRIMM, K.; LANKISCH, P. G. Raised fecal fat concentration is not a valid indicator of pancreatic steatorrhea. **Am J Gastroenterol**, Baltimore, v. 82, n. 6, p. 526-531, June 1987.
41. LEVIN, M. S. Diagnosis and management of diseases of the small intestine.

- Cur Opin Gastroenterol**, London, v. 9, p. 212-221, 1993.
42. LEVY, E.; CHOURAQUI, J. P.; ROY, C. C. Steatorrhea and disorders of chylomicron synthesis and secretion. **Pediatr Clin North Am**, Philadelphia, vol. 35, n. 1, p. 53-67, Feb. 1988.
43. LEVY, P.; BERNADES, P. Utilisation des extraits pancréatiques au cours de la pancréatite chronique. **Rev Prat**, Paris, v. 43, n. 12, p. 1553-1557, 1993.
44. LLOYD, D. R.; RAWASHDEH, M. O.; BOOTH, I. W.; BROWN, G. A. The steatocrit: an improved procedure. **Ann Clin Biochem**, London, v. 29, p. 535-540, 1992.
45. LUCAS, A.; GIBBS, J. A. H.; LYSTER, R. L. J.; BAUM, J. D. Creamatocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. **Brit Med J**, London, v. 1, p. 1018-1030, Apr. 1978.
46. MAHAN, L. K.; ARLIN, M. T. Lipídeos. In: _____. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 8 ed. São Paulo: Roca, 1994, p. 45-56.
47. MAROTTA, R. B.; FLOCH, M. H. Dietary therapy of steatorrhea. **Gastroenterol Clin North Am**, Philadelphia, v. 18, n. 3, p. 485-512, Sep. 1989.

48. McNEELY, M. D. D. Absorción de grasas. In: PESCE, A. J.; KAPLAN, L. A. **Química Clínica: métodos**. Buenos Aires: Panamericana, 1990. p. 845-851.
49. MELLO, E. D. **Esteatócrito: um método semiquantitativo de avaliação da gordura fecal - padronização do teste**. Porto Alegre, 1993. Dissertação (Mestrado em Medicina: Pediatria) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
50. MÉNARD, D.; MONFILS, S.; TREMBLAY, E. Ontogeny of human gastric lipase and pepsin activities. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 108, p. 1650-1656, 1995.
51. MERLI, M.; CASCHERA, M.; PIAT, C.; PINTO, G.; DIOFEBI, M.; RIGGIO, O. The effect of lactulose and lactitol administration on fecal fat excretion in patients with liver cirrhosis. **J Clin Gastroentrol**, New York, v. 15, n. 2, p. 125-127, sep., 1992.
52. PENFOLD, W. A. F.; KEYNES, W. M. Use of a standard fatty meal as a test for fat absorption. **Ann Surg**, Philadelphia, v. 173, n.1, p. 157-163, 1971.
53. PEUCHANT, E.; SALLES, C.; JENSEN, R. Value of a spectroscopic "fecalogram" in determining the etiology of steatorrhea. **Clin Chem**, Washington, v. 34, n. 1, p. 5-8, 1988.

54. PHUAPRADIT, P.; NARANG, A.; MENDONÇA, P.; HARRIS, D. A.; BAUM, J. D.

The steatocrit: a simple method for estimating stool fat content in newborn infants. **Arch Dis Child**, London, v. 56, p. 725-727, 1981.

55. RAFFENSPERGER, E.C.; D'AGOSTINO, F.; MANFREDO, H.; RAMIREZ, M.;

BROOKS, F. P.; O'Neil, F. Fecal fat excretion. An analysis of four years's experience. **Arch Inter Med**, Chicago, v. 119, p. 573-576, June 1967.

56. RILEY, S.A.; TURNBERG, L. A. Maldigestion and malabsorption. In:

SLEISENGER, M. H.; FORDTRAN, J. S. **Gastrointestinal disease: pathophysiology, diagnosis, management**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1993. p. 1009-1027.

57. ROBERTS, I. M.; POTURICH, C.; WALD, A. Utility of fecal fat concentrations as

acreening test in pancreatic insufficiency. **Dig Dis Sci**, New York, v. 31, n. 10, p. 1021-1024, Oct. 1986.

58. ROSENBERG, I. H.; SITRIN, M. D. Screenig for fat malabsorption. **Ann Intern**

Med, Philadelphia, v. 95, n. 6, p. 776-777, Dec. 1981.

59. SANTOS, T. M.; SANTOS, J. E. Lipídeos. In: OLIVEIRA, J. E. D.; SANTOS, A.

C.; WILSON, E. D. **Nutrição básica**. São Paulo: Sarvier, 1982. p. 15-28.

60. SHIAU, Y. F. Lipid digestion and absorption In: JOHNSON, L. **Physiology of the Gastrointestinal Tract**. 2.ed. New York: Raven Press, 1987. v. 2. p. 1527-1556.
61. SUGAI, E.; SRUR, G.; VASQUEZ, H.; BENITO, F.; MAURIÑO, E.; BOERR, K. A.; BAI, J. C. Steatocrit: a reliable semiquantitative method for detection of steatorrhea. **J Clin Gastroenterol**, New York, v. 19, n. 3, p. 206-209, 1994.
62. THE ITALIAN PAEDIATRIC INTESTINAL/HIV STUDY GROUP. Intestinal malabsorption of HIV-infected children: relationship to diarrhoea, failure to thrive, enteric micro-organisms and immune impairment. **AIDS**, v. 7, p. 1435-1440, 1993.
63. THOMPSON, G. R. Lipid related consequences of intestinal malabsorption. **Gut**, London, p. 29-34, 1989.
64. THOMSON, A. B. R.; KEELAN, M.; CLANDININ, M. T. Intestinal aspects of lipid absorption: in review. **Can J Physiol Pharmacol**, Ottawa, v. 67, n. 8, p. 179-191, Mar. 1989.
65. THORSGAARD PEDERSEN, N. & HALGREEN, H. Faecal fat and faecal weight: reproducibility and diagnostic efficiency of various regimens. **Scand J Gastroenterol**, Oslo, v. 19, p. 350-354, 1984.

66. THORSGAARD PEDERSEN*, N. Fat digestion tests. **Digestion, Basel, v. 37, Suppl. 1, p. 25-34, 1987.**
67. THORSGAARD PEDERSEN, N.; HALGREEN, H.; WORNING, H. Estimation of the 3-day faecal fat excretion and fat concentration as a differential test of malabsorption and maldigestion. *Scand J Gastroenterol, Oslo, v. 22, p. 91-96, 1987.*
68. TOMASZEWSKI, L. A new convenient, rapid and accurate method for determination of total lipids in feces. **Clin Chim Acta, Amsterdam, v. 61, p. 113- 120, 1975.**
69. TRAN, M.; FORGET, P.; VAN DEN NEUCKER, A.; STRIK, J.; VAN KREEL, B.; KUIJTEN, R. The acid steatocrit: a much improved method. **J Pediatr Gastroenterol Nutr, New York, v. 19, n. 3, p. 299-303, 1994.**
70. TRAN, M.; FORGET, P.; VAN DEN NEUCKER, A.; VAN KREEL, B. Improved steatocrit results obtained by acidification of fecal homogenates are due to improved fat extraction. **J Pediatr Gastroenterol Nutr, New York, v.22, n. 2, p. 157-160, 1996.**
71. VAN DE KAMER, J. H. Acidos grasos totales en heces. In: SELIGSON, D. **Metodos Seleccionados de Analisis Clinicos. 2. ed. Barcelona: Aguilar, 1964. v. 2. p. 47-55.**

72. VARELA, R. M. Estudo químico-fisiológico dos lipídeos. In: CHAVES, N. **Nutrição Básica e Aplicada**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985. p. 35-70.
73. WALDRAM, R. Mechanisms of lipid loss from the small intestinal mucosa. **Gut**, London, v. 16, p. 118-124, 1975.
74. WALTERS, M. P.; KELLECHER, J.; GILBERT, J.; LITTLEWOOD, J. M. Clinical monitoring of steatorrhea in cystic fibrosis. **Arch Dis Child**, London, v. 65, n. 1, p. 99-102, Jan. 1990.
75. WEST, P. S.; LEVIN, G. E.; GRIFFIN, G. E.; MAXWELL, J. D. Comparison of simple screening tests for fat malabsorption. **Br Med J**, London, v. 282, p. 1501-1503, May 1981.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

1. BARRASS, R. **Os cientistas precisam escrever: guia de redação para cientistas, engenheiros e estudantes.** 2.ed. São Paulo: Quieroz, 1986.
2. ECO, U. **Como se faz uma tese.** São Paulo: Perspectiva, 1983.
3. ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA. **Sistema de Apoio em Nutrição Versão 1.0.** São Paulo, 1986. Centro de Informática em Saúde da Escola Paulista de Medicina.
4. UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Biblioteca Central. **Normas para apresentação de trabalhos.** 2.ed. Curitiba: UFPR/Governo do Estado do Paraná, 1992. v. 2: Teses, Dissertações e Trabalhos Acadêmicos.
5. UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Biblioteca Central. **Normas para apresentação de trabalhos.** 2.ed. Curitiba: UFPR/Governo do Estado do Paraná, 1992. v. 6: Referências Bibliográficas.
6. UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Biblioteca Central. **Normas para apresentação de trabalhos.** 2.ed. Curitiba: UFPR/Governo do Estado do Paraná, 1992. v. 7: Citações e Notas de Rodapé.

7. UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Biblioteca Central. **Normas para apresentação de trabalhos.** 2.ed. Curitiba: UFPR/Governo do Estado do Paraná, 1992. v. 8: Estilo e Orientação para Datilografia e Digitação.