

Revista de Saúde Pública

JOURNAL OF PUBLIC HEALTH

Valores de referência para carboxiemoglobina

Reference values for carboxyhemoglobin

Maria Elisa P. B. de Siqueira, Isarita Martins, Andréia C. Costa, Eronice L. Andrade,
Maria Tereza C. Esteves e Selmo A. Lima

*Departamento de Análises Clínicas da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas.
Alfenas, MG - Brasil (M.E.P.B.S. , M.T.C.E. , S.A.L.)*

SIQUEIRA, Maria Elisa P. B., Valores de referência para carboxiemoglobina
Rev. Saúde Pública, **31** (6): 618-23, 1997.

Valores de referência para carboxiemoglobina*

Reference values for carboxyhemoglobin

Maria Elisa P. B. de Siqueira, Isarita Martins**, Andréia C. Costa**, Eronice L. Andrade**, Maria Tereza C. Esteves e Selmo A. Lima

Departamento de Análises Clínicas da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas. Alfenas, MG - Brasil (M.E.P.B.S. , M.T.C.E. , S.A.L.)

Resumo

Introdução

Os valores de referência de indicadores biológicos são utilizados como parâmetros para interpretação de resultados de valores obtidos em indivíduos expostos ocupacionalmente aos agentes químicos. O Grupo Brasileiro para Estabelecimento dos Valores de Referência tem se dedicado a estas determinações objetivando estabelecer valores de referência para os diferentes bioindicadores em diversas regiões do País. Determinaram-se os valores de referência para a carboxiemoglobina (COHb) no Sul de Minas Gerais.

Material e Método

A COHb foi analisada pelo método espectrofométrico, otimizado no laboratório de análises toxicológicas. Em todas as amostras também foram realizadas análises de alguns parâmetros bioquímicos e hematológicos para atestar o estado de saúde da população, constituída de 200 voluntários não-fumantes e não-expostos, por motivo profissional, ao monóxido de carbono. Cada indivíduo respondeu um questionário para levantamento de dados relevantes à interpretação dos resultados. Os valores de referência foram expressos em termos da média \pm desvio-padrão, intervalo de confiança 95% e valor de referência superior. A distribuição estatística dos resultados obtidos foi realizada para possibilitar sua comparação com grupos de trabalhadores, preferentemente à avaliação individual.

Resultados e Conclusões

O valor médio \pm desvio-padrão para a carboxiemoglobina foi de 1,0 % \pm 0,75; o intervalo de confiança 95%, entre 0,9 e 1,1 % e o valor de referência superior, de 2,5%. Através do teste t de Student ($p < 0,05$) não foi detectada diferença nos valores de acordo com o sexo, idade ou uso de bebidas alcoólicas. Os valores de referência encontrados foram similares aos reportados em outros países.

Carboxiemoglobina. Valores de referência.

Abstract

Introduction

The reference values (RV) of biological indicators are used in the interpretation of the results of such indicators in individuals occupationally exposed to chemical agents. The Brazilian Group for the Establishment of Reference Values has worked on these definitions for the purpose of establishing RVs for several bioindicators in various regions of the country. In the present study, the RV for carboxyhemoglobin (COHb) was determined for the South of Minas Gerais.

*Trabalho apresentado no IX Congresso Brasileiro de Toxicologia, Ribeirão Preto, SP, 1995.

** Bolsistas do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq.
Correspondência para/Correspondence to: Maria Elisa P. B. de Siqueira - Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714 - 37130-000 Alfenas, MG - Brasil. E-mail: siqueira@artefinal.com.br

Recebido em 14.4.1996. Reapresentado em 7.8.1997. Aprovado em 8.9.1997.

Material and Method

The COHb was analyzed by the Beutler and West (1984) spectrophotometric method, optimized in our laboratory. In all the samples, analyses of some biochemical and hematological parameters were made to evaluate the health condition of a population of 200 volunteer non-smokers occupationally not exposed to CO. Each individual answered a questionnaire to obtain data pertinent to the interpretation of the results. The reference values were expressed as mean values \pm standard deviation, with a 95% confidence interval, and an upper reference value. The statistical distribution of the results was made so as to enable comparisons between the results of groups of workers, rather than individual evaluations, to be made.

Results and Conclusions

The mean value \pm standard deviation was 1.0% \pm 0.75; the 95% confidence interval was 0,9 - 1.1% and the upper reference value was 2.5%. By the t Student test ($p \leq 0.05$), no difference was detected between the values related to sex, age or ingestion of alcoholic beverages. The reference values obtained were close to those reported for others countries.

Carboxyhemoglobin. Reference values.

INTRODUÇÃO

Atualmente, no Brasil, cada vez mais os profissionais da área da saúde vêm se conscientizando da importância de implantar programas de monitorização biológica que os auxiliem na tomada de decisões relativas à prevenção de efeitos nocivos decorrentes da exposição às substâncias químicas.

Uma das medidas mais eficazes de se prevenir a ocorrência de intoxicações ocupacionais é a monitorização biológica³. Para possibilitar a interpretação dos resultados da análise dos diversos indicadores biológicos (IB), usados na monitorização, constam da norma regulamentadora do Brasil, os valores máximos permitidos (Índice Biológico Máximo Permitido-IBMP), abaixo dos quais se supõe que a maioria dos trabalhadores não apresentem efeitos nocivos, e também valores de referência destes parâmetros¹³.

Os valores de referência (VR) são quesitos indispensáveis à monitorização biológica, pois o nível dos indicadores biológicos nos indivíduos expostos deve ser comparado com o nível deste mesmo indicador em uma população cuja característica principal é a de não estar exposta ocupacionalmente ou por uma situação ambiental especial aos xenobióticos avaliados⁴.

Tais valores devem ser determinados em cada país e/ou região, pois vários são os fatores que afetam o bioindicador, tais como o tipo de alimentação, o local de moradia e de trabalho, os hábitos próprios do indivíduo, a poluição ambiental, entre outros⁴. Infelizmente, pela não disponibilidade de valores da população brasileira, a maioria dos VR foram compilados da literatura internacional.

Ao se usar valores reportados na literatura, existe o risco de se cotejar dados de populações com características muito diversas. No estabelecimento da validade de valores de referência é necessário: a) conhecer as características relevantes da população usada para o estudo; b) estabelecer a técnica de amostragem; c) estabelecer a técnica de análise do material biológico e o desempenho da aparelhagem usada.

A partir de 1992 foi organizado o Grupo Brasileiro para o Estudo dos Valores de Referência coordenado pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, objetivando a obtenção de dados nacionais.

A Norma vigente que regulamenta a monitorização biológica no Brasil¹³ preconiza o uso da carboxiemoglobina (COHb), como bioindicador da exposição ao monóxido de carbono (CO), sendo seu IBMP de 3,5%.

A escolha de um método analítico a ser usado na monitorização biológica requer, ao lado da exatidão e precisão, praticabilidade, custo não muito elevado, sensibilidade e limite de quantificação que permita seu uso rotineiro na avaliação da exposição ocupacional, bem como na obtenção de valores de referência do bioindicador requerido.

Vários são os métodos propostos para a determinação da COHb. Dentre eles, os espectrofotométricos têm sido os mais utilizados pelo seu baixo custo, rapidez e simplicidade. Beutler e West⁵ (1984) publicaram método espectrofotométrico tendo por base a absorção diferencial da COHb e da hemoglobina reduzida, obtida por tratamento da amostra com ditinonito de sódio, havendo necessidade de serem

estabelecidos previamente os fatores de calibração do espectrofotômetro usado. Este método foi posteriormente validado por Malheiro e Siqueira¹¹ (1991) e foi o escolhido na realização do presente trabalho.

Assim, a determinação dos valores de referência da carboxiemoglobina, usando para o estudo amostras provenientes de indivíduos não-expostos ocupacionalmente ao monóxido de carbono e não-fumantes, foi objetivo deste trabalho.

MATERIAL E MÉTODO

Foram avaliados 200 indivíduos não expostos ocupacionalmente ao monóxido de carbono e não-fumantes, da região do Sul de Minas, sendo 77 homens e 123 mulheres de diferentes faixas etárias. O hábito de fumar foi critério de exclusão do voluntário, pois é conhecido o fato deste hábito elevar os níveis de carboxiemoglobina^{2, 6, 16, 17}.

Cada voluntário respondeu a um questionário para obtenção de dados considerados importantes para a caracterização da população e a interpretação dos resultados, tais como: idade, local de trabalho e moradia, uso de bebidas alcoólicas, hábitos alimentares e anamnese patológica.

Para se comprovar o estado de saúde do voluntário foram realizados alguns exames bioquímicos e hematológicos, entre eles, a glicemia, a colesterolemia, as transaminases, o hematócrito e a hemoglobina.

Os voluntários cederam cerca de 20 ml de sangue e 50 ml de urina para os diversos exames toxicológicos, hematológicos e bioquímicos.

A dosagem de carboxiemoglobina foi feita pelo método de Beutler e West⁵, validado por Malheiro e Siqueira¹¹ (1991), e a dos parâmetros hematológicos (hemoglobina, hematócrito e índices hematimétricos) e bioquímicos (glicose, colesterol, triglicerídeos, creatinina, uréia, transaminases e urina tipo I) foram analisados por métodos rotineiramente usados em laboratório de análises clínicas.

Foram feitos estudos relativos à determinação dos fatores de calibração do espectrofotômetro usado: Micronal B493 de duplo feixe, controlado por microcomputador. Os fatores de calibração do espectrofotômetro, calculados a partir de valores médios de absorvância de soluções com 100 % de COHb e com 100 % de Hb reduzida, foram, respectivamente, para o F_1 , F_2 e F_3 de 1,1970; 0,3904 e 1,6317.

A precisão intra - ensaio, realizada em 9 replicatas de sangue contendo valor médio de COHb de 1,7 %, forneceu um CV de 12,2 %. A precisão interensaio, realizada pela análise dia-após-dia, durante 5 dias, de amostra com teor médio de 1,0 % de COHb, revelou CV de 16,7%.

A estabilidade da COHb no sangue armazenado a 4°C foi avaliada por até 3 meses, em amostra contendo 14,5% de COHb, recebida de um programa de controle interlaboratorial - United Kingdom External Quality Assessment Scheme (UKNEQAS, Cardiff, UK). A COHb não sofreu variação significativa no período estudado no

presente trabalho, sendo a variabilidade observada similar à detectada no estudo de precisão intra-ensaio.

A representação dos valores de referência foi expressa em termos de valores médios, desvio-padrão, intervalo de confiança 95% e valor superior de referência (VSR), que é o valor médio + 2 desvios-padrão. O valor superior de referência é melhor entendido e de uso prático entre os profissionais de saúde¹: pessoas não-fumantes com valores de COHb acima do VSR já seriam consideradas expostas ao CO.

Para possibilitar a comparação da carboxiemoglobina de grupos de trabalhadores, preferentemente à exposição individual, também foi realizada a distribuição dos valores de referência de COHb. A análise dos expostos como um grupo tem sido mais indicada ultimamente na monitorização biológica da exposição ocupacional¹.

RESULTADOS

Na Tabela 1 são mostrados os valores médios \pm desvio-padrão, intervalo de confiança 95% e o valor superior de referência de COHb obtidos, bem como os encontrados na população subdividida de acordo com o sexo.

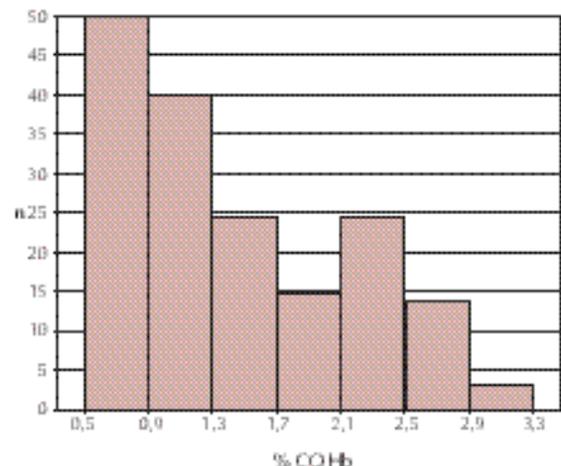


Figura - Distribuição dos valores de carboxiemoglobina na população.

Figure - Distribution of the carboxyhemoglobin values in the population.

A Figura denota a distribuição dos valores de COHb na população avaliada.

Os resultados obtidos distribuídos de acordo com a faixa etária dos voluntários são mostrados na Tabela 2.

As Tabelas 3 e 4 incluem os resultados dos diversos parâmetros bioquímicos e hematológicos analisados.

Tabela 1 - Valores médios (\bar{x}) \pm desvio-padrão (s), intervalo de confiança 95% (IC 95%) e valor superior de referência (VSR) de carboxiemoglobina determinados na população total estudada e subdividida de acordo com o sexo.

Table 1 - Mean carboxyhemoglobin values (\bar{x}) \pm standard deviation (s), 95% confidence interval (CI 95%) and upper reference value (URV) defined for the total study population and subdivided by sex.

% de COHb	n	\bar{x} (\pm s)	IC 95%	VSR*
População total	200	1,00 (\pm 0,75)	0,90-1,10	2,5
Homens	77	0,93 (\pm 0,76)	0,82-1,03	
Mulheres	123	1,04 (\pm 0,73)	0,94-1,14	

* VSR = \bar{x} + 2 s

Tabela 2 - Valores médios (intervalo de confiança 95%) de carboxiemoglobina na população, de acordo com a faixa etária.

Table 2 - Mean carboxyhemoglobin values (95% confidence interval) in the population by age.

Idade	n	%COHb
15 - 25	105	1,12 (0,97 - 1,27)
26 - 35	46	0,78 (0,62 - 0,94)
\geq 36	49	0,90 (0,71 - 1,09)

Tabela 3 - Valores de glicose, colesterol total, creatinina, triglicerídeos, uréia e transaminases na população total (n=200).

Table 3 - Values of glucose, total cholesterol, creatinine, triglycerides, urea and transaminases in the whole population (n=200).

Parâmetro	Valor de referência do método	Média \pm desvio-padrão	Intervalo de confiança 95%
Glicose	70 a 110 mg/dL	93,33 \pm 25,78	85,8 - 94,69
Colesterol total	até 200 mg/dL	170,11 \pm 43,67	161,42 - 174,87
Creatinina	0,4 a 1,3 mg/dL	0,90 \pm 0,23	0,84 - 0,91
Triglicerídeos	10 a 170 mg/dL	95,70 \pm 73,28	88,73 - 110,76
Uréia	10 a 40 mg/dL	24,00 \pm 12,44	22,13 - 25,87
AST*	4 a 36 U/ mL	20,90 \pm 10,27	19,17 - 21,75
ALT**	4 a 32 U/ mL	18,58 \pm 9,79	17,00 - 20,05

*aspartato transaminase

**alanina transaminase

Tabela 4 - Valores de hemoglobina, hematócrito e índices hematimétricos: VGM, HGM, CHGM na população total estudada (n=200).

Table 4 - Values of hemoglobin, hematocrit and hematimetric index: MGv, MGh, MGHC in the whole population studied (n=200).

Parâmetro	Valor de referência do método	Média \pm desvio-padrão	Intervalo de confiança 95%
Hemoglobina	12 a 18 g%	14,04 \pm 1,76	13,77 - 14,70
Hematócrito	40 a 50 %	43,67 \pm 3,72	41,11 - 45,23
VGM*	80 a 90 μ m	90,27 \pm 0,76	90,15 - 90,58
HGM**	27 a 32 pg	29,90 \pm 1,29	29,70 - 30,08
CHGM***	33 a 38 %	34,10 \pm 0,59	34,00 - 34,18

* volume globular médio

** hemoglobina globular média

*** concentração hemoglobínica globular média

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O método espectrofotométrico referido, apesar da simplicidade de execução, precisa ser otimizado para que possa oferecer resultados fidedignos, sendo a discriminação de valores de COHb abaixo de 2,5% muito difícil, qualquer que seja o método usado¹².

No estudo do método, selecionou-se a melhor aparelhagem e vidraria para a execução da técnica tendo-se testado o uso de vários tipos de micropipetas e pipetas de vidro. Foram obtidos resultados mais adequados com o uso de micropipeta automática para a transferência de sangue (100 μ L) e de pipeta de vidro de 200 μ L para a transferência do hemolisado.

Por outro lado, o espectrofotômetro deve estar bem calibrado para que os fatores (F_1 , F_2 e F_3) obtidos possam ser usados na quantificação de COHb.

Apesar dos coeficientes de variação obtidos terem sido superiores a 10%, tanto no estudo da precisão intra-ensaio como no interensaio, isto era de se esperar na determinação de valores baixos de COHb. Estas variações puderam também ser observadas em amostras recebidas do programa de controle interlaboratorial citado anteriormente, não somente quando do uso de métodos espectrofotométricos como também em laboratórios que utilizam o CO-oxímetro, quando as concentrações de COHb são inferiores a 3,0%^{8, 9, 10, 12}.

A população selecionada, aleatoriamente, para o estudo dos valores de referência, mostrou-se adequada aos objetivos do trabalho: os exames bioquímicos e hematológicos não apresentaram maiores alterações, comprovando as informações fornecidas pelos voluntários, no momento da coleta, relativas ao seu estado de saúde. O número de voluntários foi estabelecido com base em discussões entre os pesquisadores brasileiros do grupo de estabelecimento de valores de referência, com consulta ao grupo italiano da *Medicina del Lavoro*. Segundo esse grupo, que trabalha com valores de referência de xenobióticos, são necessários um mínimo de 50 voluntários para cada critério de estratificação da amostragem.

Os diversos dados obtidos dos voluntários — hábito alimentar, uso de bebidas e medicamentos e local de moradia — foram analisados frente aos valores de COHb, não tendo verificado sua interferência nos níveis do bioindicador.

No presente trabalho não foi notada diferença significativa nos teores de COHb nos voluntários dos diferentes sexos, conforme mostrado na Tabela 1. O mesmo foi observado por Hill e col.⁷. Entretanto, Muranaka e col.¹⁴ detectaram níveis significativamente mais elevados de COHb em homens de que em mulheres. Da mesma forma, a faixa etária não influenciou a maior ou menor produção de COHb.

O valor médio do bioindicador encontrado na população estudada, de 1,0%, é comparável aos reportados da literatura, em diferentes populações: de 1,2%⁸, 1,0%¹⁰, 1,03%¹⁵, 0,91%¹⁶, 1,8%¹⁷, 1,34%¹⁸, apesar de variarem os métodos de determinação de carboxiemoglobina. Recentemente, Marshall e col.¹² (1995) relataram grande variabilidade de intervalos de referência de COHb preconizados em 21 laboratórios de Boston, EUA, com valores variando entre 0,4 e 6,0%, em não-fumantes. Tais variações podem ser atribuídas ao uso de métodos não devidamente validados nas condições do laboratório.

Assim, parece não haver diferença significativa nos teores de referência da COHb entre indivíduos de diferentes países, e regiões e os valores determinados no presente trabalho poderiam ser aplicados em todo o País.

AGRADECIMENTOS

Às farmacêuticas-bioquímicas e aos técnicos do Laboratório de Análises Clínicas da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pela colaboração na coleta das amostras e na realização dos exames bioquímicos e hematológicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AITIO, A. Biological monitoring today and tomorrow. *Scan. J. Environ. Health*, **20**: 46-58, 1994.
2. AKER, J. et al. Carboxyhemoglobin levels in banked blood: a comparison of cigarette smokers and non-smokers. *J. Am. Ass. Nurse Anesth.*, **55**: 421-6, 1987.
3. BERLIN, A. et al. International Seminar on the Assessment of Toxic Agents at the Workplace: roles of ambient and biological monitoring. *Int. Arch. Environm. Health.*, **50**: 197-207, 1982.
4. BERTAZZI, P. A. et al. *Monitoraggio biologico negli ambienti di lavoro*. Milano, Franco Angeli, 1988.
5. BEUTLER, E. & WEST, C. Simplified determination of carboxyhemoglobin. *Clin. Chem.*, **30**: 871-4, 1984.
6. CLAUDE, J. R. et al. Étude épidémiologique des variations de la carboxihémoglobémie en rapport avec la consommation de tabac chez 1414 sujets humains de sexe masculin. *Arch. Mal. Prof.*, **39**: 333-7, 1978.
7. HILL, P. et al. Cigarette smoking: carboxyhemoglobin, plasma nicotine, cotinine and thiocyanate as self-reported smoking data and cardiovascular disease. *J. Chron. Dis.*, **36**: 439-49, 1983.
8. KALES, S. N. et al. Pseudoelevation of carboxyhemoglobin levels in firefighters. *J. Occup. Med.*, **36**: 752-6, 1994.
9. KATSUMATA, Y. et al. A simple spectrophotometry determination of carboxyhemoglobin in blood. *JFSCA*, **27**: 928-34, 1982.

10. LANGSTON, P. G. et al. The determination of absorption coefficients measurement of carboxyhemoglobin, oxyhemoglobin, reduced hemoglobin at methemoglobin in sheep using the IL482 CO oximeter. *J. Anal. Toxicol.*, **17**: 278-83, 1983.
11. MALHEIRO, A.C.C.G. & SIQUEIRA, M.E.P.B. Determinação espectrofotométrica de carboxiemoglobina em indivíduos expostos ao monóxido de carbono. São Paulo, 1991. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP].
12. MARSHALL, M. D. et al. Are reference intervals for carboxyhemoglobin appropriate? A survey of Boston area laboratories. *Clin. Chem.*, **41**: 1434 -8, 1995.
13. MINISTÉRIO DO TRABALHO. Secretaria de Segurança do Trabalho. Portaria nº 24 de 29/12/94. *Diário Oficial da União*, Brasília, 30 dez. de 1994. Seção 1, p. 21278.
14. MURANAKA, H. et al. Evaluation of nicotine, cotinine, thiocyanate, carboxyhemoglobin and expired air carbon monoxide as biochemical tobacco uptake parameters. *Int. Arch. Environm. Health.*, **60**: 37-41, 1988.
15. SULOTTO, F. et al. Valori normali di carbossemoglobinemia e di metaemoglobinemia in um campione di militari di leva. *Med Lav.*, **85**: 289-98, 1994.
16. TURNER, J. A. et al. Distribution of carboxyhaemoglobin concentration in smokers and non-smokers. *Thorax*, **41**:25-7, 1986.
17. VANUXEM, D. et al. Tabagisme et carboxyhémoglobine chez les donneurs de sang. *Respiration*, **44**: 171 - 6, 1983.
18. ZWART, A. et al. Determination of hemoglobin derivatives with the IL 282 COoximeter as compared whit a manual spectrophotometric five-wavelength method. *Clin. Chem.*, **27**: 1903-7, 1981.