

RASTREAMENTO DE ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS
ATRIBUÍVEIS A CLAMÍDIAS EM 30.000 AMOSTRAS
DE ESFREGAÇOS VAGINAIS *

Evandro Pimenta de CAMPOS **
Marina Yoshié Sakamoto MAEDA ***
Lai Wun Song SHIH ***
Genival Reynaldo PACHECO ***
Venâncio Avancini Ferreira ALVES ***

RIALA6/610

CAMPOS, E.P.; MAEDA, M.Y.S.; SHIH, L.W.S.; PACHECO, G.R. & ALVES, V.A.F. — Rastreamento de alterações morfológicas atribuíveis a Clamídias em 30.000 amostras de esfregaços vaginais. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):59-64, 1986.

RESUMO: Descrevem-se alterações morfológicas atribuíveis a Clamídias em 40 esfregaços de materiais de colo uterino num total de 30.000 exames analisados na Divisão de Patologia do Instituto Adolfo Lutz no período de junho de 1983 a junho de 1985. Nossos achados permitem concluir que esfregaços fixados em álcool-éter e corados pelo método de Papanicolaou, no esquema habitualmente utilizado para detecção de câncer ginecológico, são perfeitamente adequados para avaliação dos efeitos associados a Clamídias. As principais alterações são inclusões puntiformes e estruturas vacuolares no citoplasma de células endocervicais, com metaplasia escamosa, e nas ectocervicais intermediárias e parabasais.

DESCRIPTORIOS: doenças da vagina; doenças do colo uterino; *Chlamydia* sp.; esfregaços vaginais; muco cervical, citopatologia; condições pré-cancerosas.

INTRODUÇÃO

Desde que o método de Papanicolaou foi introduzido na rotina diagnóstica do câncer ginecológico, além das alterações citológicas (morfológicas e tintoriais) ligadas ao aparecimento do câncer, foram constatadas outras entidades ligadas a infecções diversas, destacando-se a tricomoníase, micoses, infecções por micoplasma, vírus herpes e papilomavírus, e as relativas às Clamídias.

A infecção por Clamídias é, hoje, considerada como uma das moléstias de transmissão sexual mais comum^{4, 12}. No homem, é responsável por numerosos casos de "uretrite inespecífica", não-gonocócica, epididimite, prostatite e artrites². Na mulher, as bartolinites,

cistites, uretrites e cervicites são mais facilmente diagnosticadas que no homem, conforme assinala TERHO¹⁵. As Clamídias frequentemente se instalam assintomaticamente. A parturiente contaminada pode transmitir ao recém-nascido a infecção durante o trabalho de parto, evidenciada na criança pela conjuntivite, pneumonia e gastroenterite^{4, 16}.

Alguns autores têm recentemente descrito parâmetros morfológicos que permitem a avaliação da presença de Clamídias através de alterações que estas infecções induzem no epitélio ecto e endocervical. Entretanto, como estes parâmetros não têm sido relatados pelos grandes programas de diagnóstico citológico em nosso País nem mesmo pelos principais livros-texto de citopatologia^{7, 14}, resolvemos testar a validade da aplicação destes critérios

* Realizado no Setor de Citologia Oncótica do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Pesquisador Científico do Instituto Adolfo Lutz (aposentado).

*** Do Instituto Adolfo Lutz.

com intenção de permitir, em futuro próximo, sua introdução na rotina dos laboratórios de Saúde Pública.

MATERIAL E MÉTODOS

O material por nós estudado foi constituído de lâminas com esfregaços do colo uterino colhidos em vários ambulatórios da Capital, Interior e Litoral do Estado de São Paulo, fixados em álcool-éter, ou prefixados em "Carbowax" e secos, quando provenientes de locais distantes.

Esses ambulatórios, em quase sua totalidade, eram de entidades beneficentes interessadas em prestar serviços de orientação às famílias de baixa renda, incluindo o de prevenção do câncer ginecológico.

As lâminas obtidas eram enviadas ao laboratório do setor de Citologia Oncótica do Instituto Adolfo Lutz, onde eram coradas pelo método de Papanicolaou, e examinadas.

Em um total de 30.000 exames, do n.º 66.400 ao 96.400, foram identificadas 40

amostras com presença de alterações sugestivas de Clamídias.

Os critérios para a identificação das Clamídias foram os morfológicos: a) grau geral de alterações inflamatórias; b) tipos celulares do infiltrado inflamatório; c) tipo de célula epitelial infectada; d) características nucleares; e) características citoplasmáticas: inclusões e vacúolos.

RESULTADOS

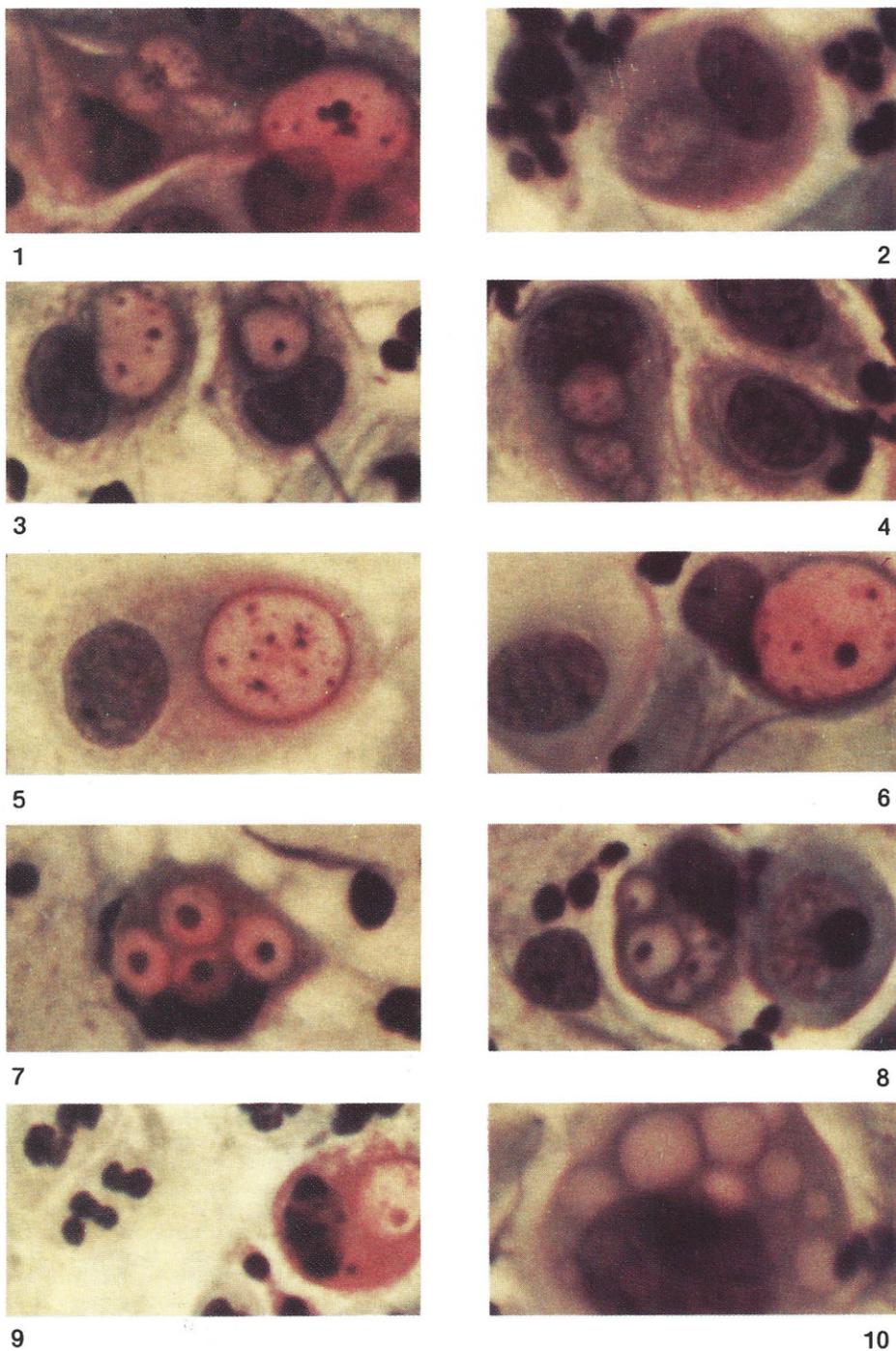
Na tabela 1, são apresentadas as características clínico-epidemiológicas das pacientes infectadas por Clamídias. As pacientes apresentavam idade desde 19 até 60 anos com média de 44 anos e mediana de 37 anos. A menarca ocorreu em média ao redor de 12 anos. O número médio de gestações foi de 6 por paciente, observando-se desde nulíparas até pacientes com 16 gestações. O início da atividade sexual variou dos 12 até os 24 anos, com média de 18 anos.

Na tabela 2, encontra-se a distribuição dos casos segundo graduação citológica proposta por Papanicolaou.

TABELA 1

Distribuição dos dados clínicos de 40 pacientes em relação à positividade para Clamídia sp.

Dados clínicos	Pacientes n.º (%)
Estado civil	
casadas	29 (72,5%)
solteiras	4 (10,0%)
viúvas	5 (12,5%)
sem informação	2 (5,0%)
Cor	
branca	31 (77,5%)
parda	3 (7,5%)
sem informação	6 (15,0%)
Menopausa	16 (40,0%)
Uso de anticoncepcional	
sim	4 (10,0%)
não	34 (85,0%)
sem informação	2 (5,0%)
Abortos	
espontâneos	15 (37,5%)
provocados	1 (2,5%)
sem informação	2 (5,0%)
Leucorréia	20 (50,0%)



FIGURAS 1 a 9 — Alterações de células parabasais e intermediárias do epitélio escamoso ectocervical e células endocervicais metaplásicas nas diferentes fases de infecção por *Chlamydia* sp.

FIGURA 10 — Alterações celulares degenerativas de células do epitélio escamoso ectocervical.

TABELA 2

Distribuição dos 40 casos positivos para Clamídias segundo graduação citológica proposta por Papanicolaou 11

Classe	Casos positivos n.º (%)
0	0 (0,0%)
I	0 (0,0%)
II	38 (95,0%)
III	1 (2,5%)
IV	0 (0,0%)
V	1 (2,5%)

O quadro citológico encontrado foi de células epiteliais parabasais e intermediárias do epitélio escamoso ectocervical e células endocervicais metaplásicas (fig. 1), apresentando um componente inflamatório em grau variável de moderado (++) a muito intenso (++++), constituído principalmente por neutrófilos, muco, bactérias e alguns histiócitos (fig. 2).

As células infectadas pelas Clamídias apresentavam um grau variável de alterações quanto ao seu tamanho, características nucleares, quantidade, volume e afinidade tintorial do citoplasma. Os vacúolos citoplasmáticos variaram desde pequenos e múltiplos a vacúolos bem delimitados com inclusões puntiformes (fig. 3, 4, 5 e 6).

Algumas células apresentavam vários vacúolos bem distintos, de tamanhos variados, sem membrana nítida, porém, com corpúsculo bem evidente e bem corado (fig. 7 e 8). Foram observadas também células parasitadas em processo degenerativo, cujo citoplasma é eosinofílico e o núcleo em cariorrex (fig. 9). Os casos de displasia e carcinoma apresentavam as alterações atribuíveis a Clamídias nas próprias células displásicas e neoplásicas (fig. 7 e 8).

DISCUSSÃO

Vários autores têm chamado a atenção para a presença da Clamídia como agente infeccioso de transmissão sexual de alta incidência 1, 3, 6, 8, 12, 15, destacando suas manifestações clínicas 2, 3 e citopatológicas 5. Nossa finalidade foi mostrar a morfologia das Clamídias e principalmente as alterações que esta infecção acarreta às células epiteliais.

Nas pacientes por nós analisadas a distribuição racial e o estado civil não foram diferentes dos da população geral que é submetida a programas de prevenção do câncer de colo uterino em nosso meio. Saliente-se, entretanto, que 40% destas pacientes eram menopausadas, em contraste com os relatos de

GUPTA 5 onde 136/160 pacientes (85%) encontravam-se em fase reprodutiva, sendo 16 (10%) gestantes.

A frequência de acometimento no presente estudo foi muito similar à descrita em Ribeirão Preto, onde BARBIERI et alii 1 referiram índices variando de 0,03 a 0,3% 1.

Na Venezuela, BORGES et alii 3 relataram achados bastante semelhantes aos encontrados por nós em relação ao exsudato inflamatório, tipos de células parasitadas, cianofilia citoplasmática e aspectos morfológicos das inclusões.

Com vistas à precisão diagnóstica, é fundamental não confundir alterações celulares, puramente degenerativas, como vacúolos vazios de tamanhos variados e sem membrana, não-associados a inclusões citoplasmáticas, com as lesões próprias das infecções por Clamídias (fig. 10).

Na presente análise, sendo puramente citológica nossa metodologia, não pudemos chegar a uma classificação em espécies e, por esta razão, optamos pela denominação genérica *Chlamydia* sp. TERHO 15, entretanto, em uma revisão abrangente, chegou a descrever 15 imunotipos diferentes, subclassificados à imunofluorescência.

É importante reconhecer que os presentes achados não devem refletir a real frequência de infecções por *Chlamydia* sp. em nosso meio, visto não ter sido efetuada a cultura, que é o método de escolha. Utilizando esta última técnica, PAAVONEN 10 encontrou positividade em 9% das mulheres em um ambulatório ginecológico geral em Helsinki, Finlândia, enquanto SCHACHTER 13 obteve 8% de positividade em San Francisco, EUA. Já MACD. BURNS et alii 9, em 1975, não atribuíram padrões citológicos de inflamação própria às Clamídias, mas encontraram positividade de 11,9% de culturas em Londres, Inglaterra. Quando subdividiram a população estudada, os níveis atingiram 21,6% nas pacientes com parceiros sabidamente portadores de *Chlamydia* sp. e até 43,8% das pacientes

com *Neisseria gonorrhoeae*, 13% nas que apresentavam tricomonas, 9,3% nas portadoras de candidíase. Neste estudo, dentre as mulheres sem queixa ginecológica e sem outro agente associado, 3,9% mostravam cultura positiva para Clamídias.

Em futuro próximo, pretendemos aumentar a precisão diagnóstica, submetendo novas amostras dos casos suspeitos a exames imunocitoquímicos e a culturas, com vistas a uma melhor avaliação da frequência deste problema em nosso meio.

CONCLUSÕES

O estudo de esfregaços cérvico-vaginais através do método de Papanicolaou, um exame simples e de baixo custo operacional, permite

evidenciar as características morfológicas de células epiteliais infectadas por Clamídias, que vem se transformando em importante causa de leucorréia e uretrites.

Vacúolos intracitoplasmáticos com inclusões puntiformes centrais são as evidências mais sugestivas da presença de Clamídias, especialmente em células escamosas parabasais ou intermediárias ou em células endocervicais metaplásicas.

O índice de positividade encontrado no presente estudo (0,13%) é ainda inferior ao referido na bibliografia internacional, sendo necessária, no futuro, a comparação com resultados de pesquisas imunocitoquímicas e de culturas, para a avaliação mais precisa da frequência destas infecções em mulheres brasileiras.

RIALA6/610

CAMPOS, E.P.; MAEDA, M.Y.S.; SHIH, L.W.S.; PACHECO, G.R. & ALVES, V.A.F. — Cytological alterations due to chlamydial infection in 30.000 vaginal smears. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):59-64, 1986.

ABSTRACT: Morphological alterations due to chlamydial infection were described in 40 cervical smears selected from a total of 30,000 cervical smears examined at the Pathology Division of Instituto Adolfo Lutz, in the period of July 1983 to June 1985. Our findings lead to the conclusion that smears fixed in ethanol-ether and stained by Papanicolaou method, in the usual schedule for detection of cervical cancer, were quite suitable for detection of Chlamydia-induced changes. The main alterations were inclusion bodies inside vacuolar structures in the cytoplasm of metaplastic endocervical cells and parabasal or intermediate squamous cell.

DESCRIPTORS: vaginal diseases; cervix diseases; *Chlamydia* sp.; vaginal smears; cervix mucus, citopathology; pre-cancerous conditions.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARBIERI, C.M.T.A. & VELLUDO, M.A.S.L. — Investigação citológica de *Chlamydia trachomatis* em 1.000 casos cérvico-vaginais revistos. *Rev. Med HCFMRP-USP CARL*, 16:47-52, 1983.
2. BELDA, W.; MENDES, C.M.F.; CARVALHO, R.P.S.; SIQUEIRA, L.F.G.; FRANCISCO, W. & SANTOS JÚNIOR, U.F.Q. — "Chlamydia trachomatis": estudo comparativo entre o isolamento em cultura de células e o exame direto, no diagnóstico da uretrite masculina. *Rev. paul. Med.*, 103:199-201, 1985.
3. BORGES, R.J.; CARMONA, O.; MACHADO, H. & ESPARZA, J. — Chlamydial infection in Papanicolaou-stained cervical smears. *Acta cytol.*, 28:471-6, 1984.
4. DORMAN, S.A.; DANOS, L.M.; WILSON, D.J.; NOLLER, K.L.; MALKASIAN, G.D.; GOELLNER, J.R. & SMITH, T.F. — Detection of Chlamydial cervicitis by Papanicolaou stained smears and culture. *Am. J. clin. Pathol.*, 79:421-5, 1983.
5. GUPTA, P.K.; LEE, E.F.; EROZAN, Y.S.; FROST, J.K.; GEDDES, S.T. & DONOVAN, P.A. — Cytologic investigations in *Chlamydia* infection. *Acta cytol.*, 23: 315-20, 1979.
6. HALBERSTAEDTER, L. & PROWAZEK, S. — Zur Aetiologie des Trachoms. *Deutsche Med. Wschr.*, 33:1285-7, 1907.
7. KOSS, L.G. — *Diagnostic cytology and its histopathologic basis*. 3rd ed. Philadelphia, Lippincott, 1979. v. 1, p. 223-262.

CAMPOS, E.P.; MAEDA, M.Y.S.; SHIH, L.W.S.; PACHECO, G.R. & ALVES, V.A.F. — Rastreamento de alterações morfológicas atribuíveis a Clamídias em 30.000 amostras de esfregaços vaginais *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):59-64, 1986.

8. LOEWENSTEIN, A. — Trachoma virus and the morphology of inclusion bodies. *Am. J. Ophthalmol.*, 28:282-7, 1945.
9. MACD. BURNS, D.C.; DAROUGAR, S.; THIN, R.N.; LOTHIAN, L. & NICOL, C.S. — Isolation of *Chlamydia* from women attending a clinic for sexually transmitted disease. *Brit. J. vener. Dis.*, 51:314-18, 1975.
10. PAAVONEN, J.; SAIKKU, P.; VESTERINEN, E.; VARTIAINEN, E. & SAKSELA, E. — Genital chlamydial infections in patients attending a gynaecological outpatient clinic. *Brit. J. vener. Dis.*, 54:257-61, 1978.
11. PAPANICOLAOU, G. N. — *Atlas of exfoliative cytology*. Cambridge, Mass., Harvard University Press., 1963. p. 3-34.
12. PUNNONEN, R.; TERHO, P. & KLEML, P. J. — Chlamydial pelvic inflammatory disease with ascites. *Fertil. Steril.*, 37: 270-2, 1982.
13. SCHACHTER, J.; HILL, E.C.; KING, E.B.; COLEMAN, V.R.; JONES, P. & MEYER, K.F. — Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 123:753-7, 1975.
14. TAKAHASHI, M. — *Atlas colorido de citologia do câncer*. 2.^a ed. São Paulo, Manole, 1982. p. 161-242.
15. TERHO, P. — Chlamydia trachomatis and clinical genital infections: a general review. *Infection*, 10(suppl. 1): s5-s59, 1982.
16. THYGESON, P. — The etiology of inclusion blennorrhoea. *Am. J. Ophthalmol.*, 17: 1019-35, 1934.

Recebido para publicação em 13 de fevereiro de 1986.