

CHAMS BICALHO MALUF

**INTERVALOS DE REFERÊNCIA DOS PARÂMETROS DE
VOLUME PLAQUETÁRIO: ESTUDO LONGITUDINAL DE
SAÚDE DO ADULTO – MINAS GERAIS (ELSA-MG)**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
BELO HORIZONTE
2011

Chams Bicalho Maluf

INTERVALOS DE REFERÊNCIA DOS PARÂMETROS DE
VOLUME PLAQUETÁRIO: ESTUDO LONGITUDINAL DE
SAÚDE DO ADULTO – MINAS GERAIS (ELSA-MG)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Propedêutica Complementar

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Pedro Guatimosim Vidigal
Faculdade de Medicina, UFMG

CO-ORIENTADORAS:

Profa. Dra. Sandhi Maria Barreto
Faculdade de Medicina, UFMG
Profa. Dra. Silvana Maria Elói Santos
Faculdade de Medicina, UFMG

Belo Horizonte
2011

Maluf, Chams Bicalho.
M261i Intervalos de referencia dos parâmetros de volume plaquetário
[manuscrito]: Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – Minas
Gerais (ELSA-MG). / Chams Bicalho Maluf. -- Belo Horizonte: 2011.
90f.: il.
Orientador: Pedro Guatimosim Vidigal.
Co-Orientadora: Sandhi Maria Barreto.
Área de concentração: Patologia.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais,
Faculdade de Medicina.

1. Plaquetas. 2. Contagem de Plaquetas. 3. Valores de Referência. 4.
Testes Hematológicos. 5. Coleta de Amostras Sanguíneas. 6. Dissertações
Acadêmicas. I. Vidigal, Pedro Guatimosim. II. Barreto, Sandhi Maria. III.
Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.
NLM: WH 300



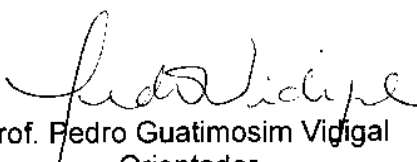
**FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

Av. Prof. Alfredo Balena 190/sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640
cpe@medicina.ufmg.br



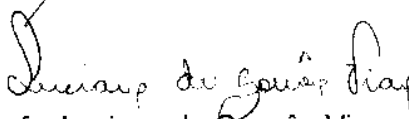
DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, composta pelos professores doutores: Pedro Guatimosim Vidigal, Sandhi Maria Barreto, Sandra Guerra Xavier e Luciana de Gouvêa Viana, aprovou a defesa da dissertação intitulada: **“INTERVALO DE REFERÊNCIA PARA OS PARÂMETROS DE VOLUME PLAQUETÁRIO: ESTUDO LONGITUDINAL DE SAÚDE DO ADULTO (ELSA)-MG”**, apresentada pela mestranda **CHAMS BICALHO MALUF**, para obtenção do título de Mestre em Patologia, pelo Programa de Pós-Graduação em Patologia - Área de Concentração em Propedêutica Complementar, da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 03 de março de 2011.


Prof. Pedro Guatimosim Vidigal
Orientador


Profa. Sandhi Maria Barreto
Coorientadora


Profa. Sandra Guerra Xavier


Profa. Luciana de Gouvêa Viana

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

REITOR: Prof. Dr. Clelio Campolina Diniz

VICE-REITORA: Profa. Dra. Rocksane de Carvalho Norton

PRÓ-REITOR DE PÓS-GRADUAÇÃO: Prof. Dr. Ricardo Santiago Gomez

PRÓ-REITOR DE PESQUISA: Prof. Dr. Renato de Lima Santos

FACULDADE DE MEDICINA

DIRETOR: Prof. Dr. Francisco José Penna

VICE-DIRETOR: Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

COORDENADOR: Prof. Dr. Wagner Luiz Tafuri

SUB-COORDENADOR: Prof. Dr. Geovanni Dantas Cassali

MEMBROS DO COLEGIADO: Prof. Dr. Geovanni Dantas Cassali

Profa. Dra. Helenice Gobbi

Prof. Dr. Marcelo Vidigal Caliari

Profa.Dra. Silvana Maria Elói Santos

Prof. Dr. Wagner Luiz Tafuri

Izabela Ferreira Amorim (representante discente)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Dr. Pedro Guatimosim Vidigal, por sua confiança, dedicação e comprometimento na realização deste trabalho. Minha especial gratidão.

À co-orientadora, Professora Dra. Sandhi Maria Barreto, Pesquisadora e Coordenadora do Centro de Pesquisas ELSA-MG, pela confiança e apoio constante e no exemplo de competência e profissionalismo. A minha eterna admiração.

À Professora Dra. Silvana Maria Elói Santos, pelo exemplo de dedicação à pesquisa, incentivo e co-orientação deste trabalho.

Ao ELSA seus funcionários e estagiários, especialmente Indiyara, Wanessa e Paola por terem compartilhado comigo as dificuldades e as vitórias do dia a dia.

Às alunas de iniciação científica, que trabalharam neste estudo, pelo trabalho fundamental para a conclusão desse projeto.

Ao Setor de Hematologia do Serviço de Medicina Laboratorial do HC-UFMG, especialmente aos funcionários, Dr. Paulo Mourão e Dra. Rosângela Fátima Di Lorenzo Pires, pela contribuição ao desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu marido Leones, o melhor companheiro de todas as horas, pelo incentivo e constante apoio.

Aos meus filhos, Raul e Raquel, por suportarem tão bem, todos os meus momentos de tensão e minha falta de tempo para vocês!

Aos meus pais e irmãos, pelo apoio incondicional.

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para que este trabalho fosse realizado.

RESUMO

Introdução e objetivo: O desenvolvimento de analisadores hematológicos automatizados tornou possível a mensuração de vários parâmetros de volume plaquetário, que determinam, além da contagem plaquetária, parâmetros como volume plaquetário médio (VPM), coeficiente de variação do volume plaquetário (PDW) e porcentagem de macroplaquetas (P-LCR). A presença de trabalhos na literatura que associam o uso de parâmetros de volume plaquetário com estados protrombóticos inicia-se na década de 70, cresce na literatura mundial, especialmente nas publicações nos últimos 2 anos, relacionando os parâmetros plaquetários com doenças cardiovasculares e cerebrovasculares. A padronização dos fatores pré-analíticos, analíticos e a determinação de Intervalos de referência é fundamental para o uso clínico destes parâmetros. Assim, o objetivo do estudo foi determinar o intervalo de referência dos parâmetros de volume plaquetário em participantes do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-MG). **Métodos:** Os 173 indivíduos referência foram selecionados entre os participantes do ELSA-MG, segundo critérios estabelecidos, baseados nas recomendações da *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Toda a padronização dos procedimentos baseou-se nestas mesmas recomendações: Análise de equivalência ou comutatividade dos equipamentos hematológicos utilizados e padronização dos interferentes pré-analíticos (tempo de armazenamento e anticoagulante usado), que precederam a coleta dos dados. A distribuição dos valores encontrados foi analisada, com definição dos limites e intervalos de referência, usando teste não paramétrico. **Resultados:** A análise da comutatividade mostrou que os diferentes equipamentos utilizados no estudo são equivalentes; o uso do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) como anticoagulante mostrou aumento tempo-dependente nos valores dos parâmetros de volume plaquetário; todos os parâmetros apresentaram distribuição normal ou gaussiana. Os intervalos de referência, considerando os percentis 2,5 e 97,5 obtidos foram VPM: 8,9 a 12,2 fL; PDW: 9,4 a 16,0; P-LCR: 15,8 a 41,6. **Conclusões:** Os equipamentos puderam ser usados indistintamente para a realização das medições, sendo necessária a padronização do tempo para análise da amostra colhida em EDTA. Os intervalos de referência para os parâmetros de volume plaquetário determinados poderão ser utilizados no acompanhamento longitudinal dessa população para avaliar possível correlação com eventos aterotrombóticos.

Palavras-chave: Plaquetas, parâmetros de volume plaquetário, intervalo de referência.

ABSTRACT

Introduction and objective: The development of automated hematology analyzers made possible the automatic measurement of various parameters of platelet volume, such as mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW) and platelet large cell ratio (P-LCR). Since these parameters had become available in the 70s, many studies to define its utility and significance had been published. Over the past two years, there was an increasing number of literatures that correlates the platelet parameters to cardiovascular and cerebrovascular diseases. The standardization of preanalytical and analytical factors and determination of reference intervals is essential for the clinical use of these parameters. Thus, the aim of this study was to determine the reference range of parameters of platelet volume in participants from the Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-MG). **Methods:** 173 subjects were selected among ELSA-MG according to established criteria based on the recommendations of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). All procedures were standardized based on these recommendations: analysis of equivalence or reciprocal of equipments used and hematological interfering preanalytical factors (storage time and used anticoagulant) prior to data collection. The values distribution of all parameters were analyzed and the limits and reference intervals were defined using non parametric test. **Results:** The analysis showed that the results from different equipments used in the study were equivalent, the use of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) as anticoagulant showed time-dependent increase in the values of the parameters of platelet volume. The distribution of results was a normal or Gaussian distribution, and reference interval obtained was: MPV 8,9 a 12,2 fL; PDW 9,4 a 16,0; P-LCR 15,8 a 41,6 **Conclusions:** Analysis of the tests showed that equipments could be used interchangeably, and the time for the analysis of specimens collected in EDTA were standardized. The reference intervals for the parameters of platelet volume were defined, and can be used to follow-up ELSA-MG participants to assess possible correlation with subsequent atherothrombotic events. **Key words:** Platelets, parameters of platelet volume, reference intervals

LISTA DE FIGURAS, GRÁFICOS E QUADROS

Figura 1	Representação ilustrativa de receptores plaquetários.....	13
Figura 2	Possível modelo para captura de plaquetas na placa aterosclerótica.....	14
Figura 3	Micrografia eletrônica da plaqueta ativada.....	15
Figura 4	Plaquetas e alguns moduladores proinflatórios.....	15
Figura 5	Microscopia eletrônica plaquetas com EDTA.....	19
Figura 6	Esquema básico para determinação de intervalos de referência.....	28
Figura 7	População utilizada no estudo.....	32
Figura 8	Histograma da distribuição do tamanho plaquetário.....	35
Gráfico 1	Gráfico das diferenças média das plaquetas entre analisadores hematológicos U e A.....	41
Gráfico 2	Gráfico das diferenças média do VPM entre analisadores hematológicos U e A	41
Gráfico 3	Gráfico das diferenças média da contagem plaquetária entre analisadores hematológicos B e A.....	42
Gráfico 4	Gráfico das diferenças média do VPM entre analisadores hematológicos B e A.....	43
Gráfico 5	Correlação entre VPM e PDW	46
Gráfico 6	Correlação entre VPM e contagem plaquetária.....	47
Gráfico 7	Distribuição da contagem plaquetária em 173 amostras.....	47
Gráfico 8	Distribuição do VPM em 173 amostras.....	47
Gráfico 9	Distribuição do PDW em 173 amostras.....	48
Gráfico 10	Distribuição do P-LCR em 173 amostras.....	48
Quadro 1	Métodos empregados para avaliação da função plaquetária.....	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Componentes da variação biológica e especificações da qualidade Analítica.....	38
Tabela 2	Correlação entre analisadores hematológicos U e A.....	40
Tabela 3	Correlação entre analisadores hematológicos B e A.....	42
Tabela 4	Valores mínimos e máximos dos parâmetros de volume plaquetário nos tempos 1 e 2	43
Tabela 5	Média dos parâmetros plaquetários em análises realizadas, nos tempos 1 e 2 após coleta de sangue em EDTA.....	44
Tabela 6	Diferença relativa e absoluta dos valores das medidas dos parâmetros plaquetários nos tempos 1 e 2.....	44
Tabela 7	Características demográficas dos 173 indivíduos selecionados para o presente estudo.....	45
Tabela 8	Média e mediana da contagem plaquetária e dos parâmetros de volume plaquetário em homens e mulheres.....	46
Tabela 9	Intervalo de referência para os parâmetros plaquetários	49
Tabela 10	Intervalos de referência para os parâmetros plaquetários, em amostras em EDTA, de diferentes estudos.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	Adenosina difosfato
AHA	Analizador Hematológico A
AHB	Analizador Hematológico B
AHU	Analizador Hematológico U
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Adenosina trifosfato
AVC	Acidente vascular cerebral
CAP	Colégio Americano de Patologia
CD	Cluster of differentiation
CEFET	Centro Federal de Educação Tecnológica
CI	Centro de Investigação
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CONEP	Conselho Nacional de Ética em Pesquisa
Cva	Coeficiente de variação analítica
CVg	Varição biológica intragrupo
CVi	Varição biológica intraindividual
CVI	Doença cerebrovascular isquêmica
DAC	Doença arterial coronariana
DP	Desvio Padrão
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ELSA	Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto
ET	Erro total
FA	Fibrilação atrial
FIOCRUZ-RJ	Fundação Oswaldo Cruz-Rio de Janeiro
fL	Fentolitro
FvW	Fator de von Willenbrand
GDP	Guanosina difosfato
Gp	Glicoproteína
HC	Hospital das Clínicas
Hg	Hemoglobina
HIV	Vírus da imunodeficiência Humana
IAM	Infarto Agudo do Miocardio
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry
IL	Interleucina
IR	Intervalo de referência
ISO	International Organization of Standardization
µL	Microlitro
PALC	Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos
PELM	Proficiência em ensaios laboratoriais

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS (cont.)

PDW	Coeficiente de variação do volume plaquetário
PGDF	Fator de crescimento derivado das plaquetas
PF4	Fator plaquetário 4
P-LCR	Porcentagem de macroplaquetas
SBPC/ML	Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFMG	Universidade Federal do Estado de Minas Gerais
UFPML	Unidade Funcional Patologia Medicina Laboratorial
VPM	Volume Plaquetário Médio
\bar{x}	Média

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Plaquetas.....	13
1.2	Plaquetas na aterosclerose	15
1.3	Medidas da função plaquetária	17
1.4	Parâmetros de volume plaquetário	19
1.5	Importância clínica dos parâmetros de volume plaquetário.....	20
1.5.1	<i>Parâmetros de volume plaquetário e doenças cardiovasculares</i>	21
1.5.2	<i>Parâmetros de volume plaquetário e doenças cerebrovasculares</i>	24
1.5.3	<i>Parâmetros de volume plaquetário e diabetes</i>	24
1.5.4	<i>Parâmetros de volume plaquetário e dislipidemia</i>	25
1.5.5	<i>Parâmetros de volume plaquetário e doenças hematológicas</i>	25
1.6	Intervalo de referência.....	26
1.7	Projeto ELSA.....	30
2	OBJETIVOS	32
2.1	Geral.....	32
2.2	Específicos	32
3.1	População de estudo.....	33
3.2	Amostras	34
3.3	Análise automatizada	35
3.3.1	<i>Ensaio de Comutatividade</i>	37
3.3.2	<i>Avaliação do impacto do tempo na determinação dos parâmetros plaquetários: VPM, PDW, P-LCR</i>	38
3.3.3	<i>Intervalo de referência para o VPM, PDW e P-LCR</i>	38
3.3.4	Análise estatística:.....	39
4.1	Avaliação da comutatividade.....	41
4.2	O impacto do tempo entre a coleta da amostra e a realização do teste na determinação dos parâmetros plaquetários	44
4.3	Intervalos de referência.....	45
6	CONCLUSÕES	60
	APÊNDICE	71
	ANEXOS.....	79
	Anexo A - Resumos apresentados em eventos	79
	Anexo B - Manuscrito submetido ao Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.....	83
	Anexo C - Ata da defesa de dissertação de mestrado	94

1 INTRODUÇÃO

1.1 Plaquetas

As plaquetas são pequenos fragmentos citoplasmáticos derivados do megacariócito. Apesar de anucleadas exibem notável complexidade. Medem entre 1,5 e 3,5 μm de diâmetro, mas podem ser maiores em algumas situações. Circulam em média por 7-10 dias sem significativa interação com o endotélio vascular normal (JENNINGS, 2009).

A membrana das plaquetas é dupla, constituída de fosfolípidos, colesterol, glicolípidos e pelo menos nove glicoproteínas (Gp) I-IX, sítio de interação com o plasma e a parede do vaso lesado. A parte interna é formada por microtúbulos e microfilamentos arredondados que mantêm a forma discóide da plaqueta e despolimerizam quando a agregação começa. O citoplasma apresenta três tipos de grânulos plaquetários: (1) grânulos densos, contendo: adenosina trifosfato (ATP) adenosina difosfato (ADP), guanosina difosfato (GDP), cálcio, serotonina e pirofosfato; (2) grânulos alfa, contendo: fibrinogênio, fibronectina, fator VIII, fator de von Willebrand (FvW), fator plaquetário quatro (PF4) e β -tromboglobulina; e (3) grânulos lisossomais, contendo: galactosidases, glucoronidase e hexosaminidase (FIG. 1). Existe ainda um sistema tubular denso e canalicular de membrana que comunica com o exterior (DACIE; LEWIS; 1995, p.298).

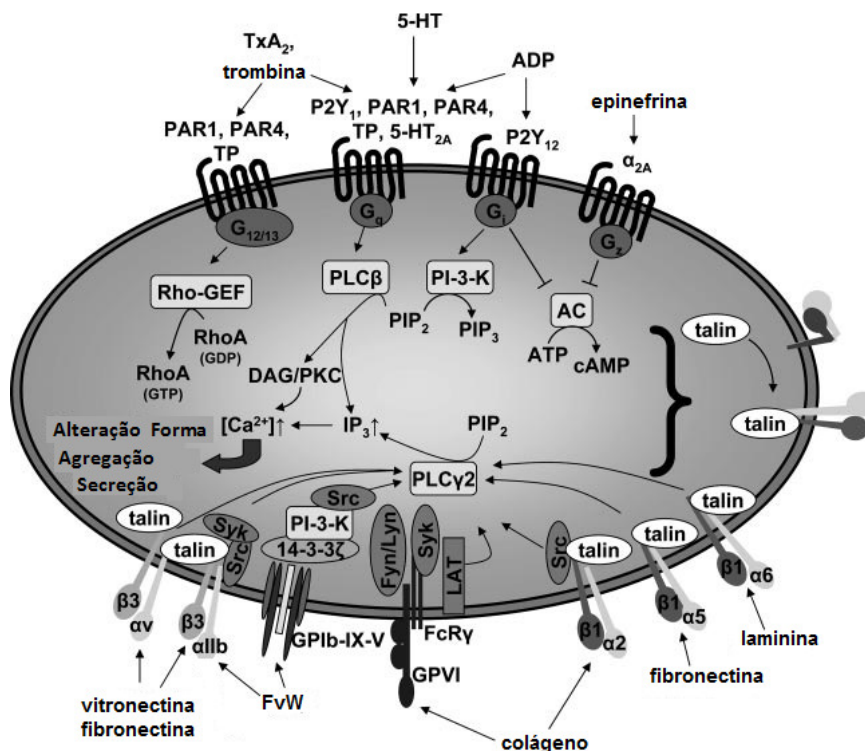


FIGURA 1- Representação ilustrativa de receptores plaquetários: 5-hidroxytriptamina (5-HT), adenilciclase (AC), adenosina difosfato (ADP), adenosina monofosfato cíclico (AMPc), adenosina trifosfato (ATP), diacilglicerol (DAG), guanosina difosfato (GDP), glicoproteína (GP), guanosina trifosfato (GTP), inositol-1, 4,5-trifosfato (IP₃), receptor para célula T ativada (LAT), receptor para protease ativada (PAR), fosfoinositol 3-quinase (PI-3-K), fosfotidilinositol-4,5-bifosfato (PIP₂), fosfotidilinositol-3, 4,5-trifosfato (PIP₃), proteínaquinase C (PKC), fosfolipase C (PLC), Fator específico de troca guanina nucleotídeo (Rho-GEF), tromboxano (TP), tromboxano A2 (TxA₂), fator de von Willebrand (FvW)

Fonte: modificado de VARGA-SZABO; PLEINES; NIESWANDT, 2008

Quando ocorre dano na parede vascular, estruturas subendoteliais, em especial o colágeno, são expostas ativando as plaquetas. A aderência plaquetária decorre principalmente da interação entre o FvW e o colágeno. O FvW atua como uma ponte de aderência entre o colágeno e o receptor GpIb plaquetário. A secreção do conteúdo granular é desencadeada pela ligação de agonistas aos receptores de superfície das plaquetas e libera fatores como: ADP e cálcio. A agregação plaquetária favorecida pelo ADP e pelo tromboxano A₂ (sintetizado com a ativação plaquetária) leva à formação do tampão hemostático primário (PIEDADE et al., 2003). Este mesmo processo fisiológico quando em contato com lesões ateroscleróticas pode levar à oclusão vascular pelo trombo plaquetário e complicações cardiovasculares (HUO; LEY, 2004; RUGGERI, 2002; STEINHUBL et al., 2005).

1.2 Plaquetas na aterotrombose

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica, e a contribuição das plaquetas para o processo aterosclerótico não está clara (MAY et al., 2008). Na fase inicial da aterosclerose, a ativação da plaqueta pode ser atribuída à redução das propriedades antitrombóticas do endotélio, como produção de óxido nítrico, prostaciclina e CD39 e uma ecto-ADPase que degrada ADP; e ao aumento nos mediadores protrombóticos e pró-inflamatórios, incluindo fator tissular e citocinas circulantes. Adicionalmente, após lesão da parede vascular, a ativação plaquetária pode ser iniciada pela ligação da GPIb com o receptor endotelial P-selectina e o FvW (FIG. 2) (HUO; LEY, 2004; JENNINGS, 2009; RUGGERI, 2002).

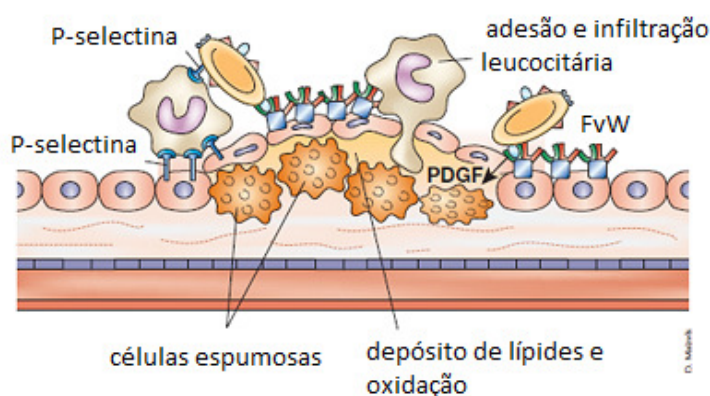


FIGURA 2 - Possível modelo para captura de plaquetas na placa aterosclerótica. O endotélio lesado expõe receptores específicos (por exemplo: Fator de Von Willebrand (fvW) e P-selectina, promovendo a adesão plaquetária. A plaqueta aderida facilita a adesão de leucócitos, que interage diretamente com as células endoteliais e expressa P-selectina. Plaquetas aderidas liberam fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), que estimula o crescimento plaquetário e influencia o metabolismo das lipoproteínas de baixa densidade (C-LDL, do inglês *low-density-lipoproteins*)

Fonte: RUGGERI, 2002.

A plaqueta tem sido apontada como uma importante mediadora do processo inflamatório (LINDEN; JACKSON, 2010). Porém, o mecanismo molecular da ativação plaquetária implicado na aterosclerose não está totalmente esclarecido (HUO; LEY, 2004).

A plaqueta ativada interage com monócitos, neutrófilos e células endoteliais, o que resulta em numerosas reações plaquetárias como mudança na forma e secreção de

vários fatores inflamatórios. As plaquetas quando ativadas mudam seu formato discóide para esférica com numerosas projeções (FIG. 3) (MAY et al., 2008) .

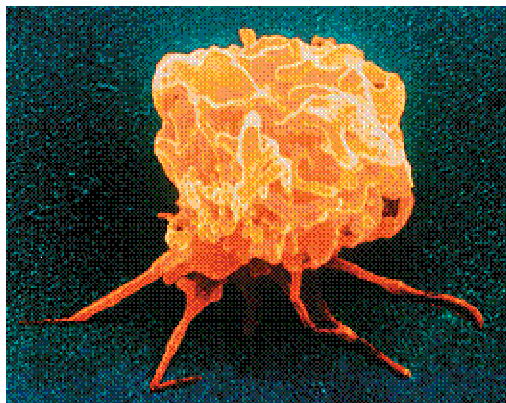


FIGURA 3- Micrografia eletrônica da plaqueta ativada
Fonte: RUGGERI, 2002

A ativação plaquetária resulta em uma liberação local de mais de 300 proteínas, uma grande proporção delas são conhecidos mediadores inflamatórios (FIG. 4) (COPPINGER et al., 2004).

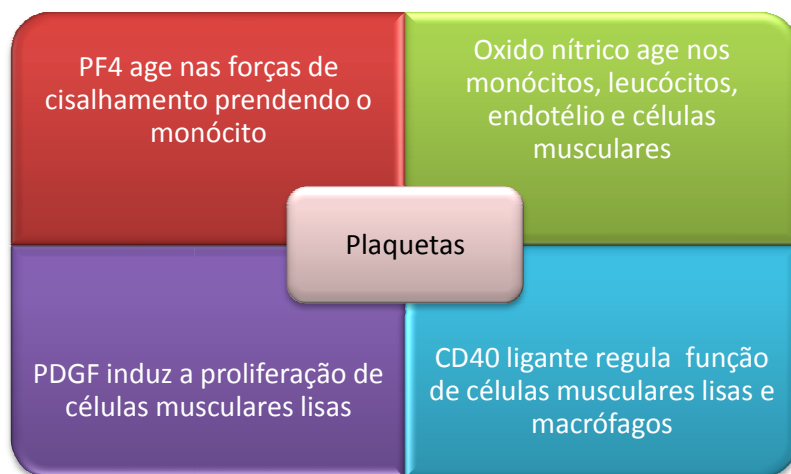


FIGURA 4- Plaquetas e alguns moduladores proinflamatórios
PF4: Fator plaquetário 4; PDGF: Fator de crescimento derivado das plaquetas; CD: *Cluster* de diferenciação.
Fonte: modificado de STEINHUBL et al., 2005

A aterotrombose é um dos principais determinantes das manifestações clínicas da aterosclerose: doença vascular oclusiva como infarto agudo do miocárdio (IAM), acidente vascular cerebral (AVC) e doenças arteriais periféricas (RUGGERI, 2002; STEINHUBL et al., 2005; YILMAZ et al., 2008). A plaqueta tem um papel central no desenvolvimento da maioria dos eventos vasculares isquêmicos (BRAY, 2007). Nesse sentido, os índices que avaliam a atividade plaquetária são marcadores potenciais para estratificação de risco das doenças cardiovasculares (MICHELSON, 2009).

O tamanho plaquetário parece ser determinado durante a megacariocitopoiese, não sendo a heterogeneidade de tamanho plaquetário influenciado por sua maturação na circulação. Embora tamanho e idade plaquetária sejam determinantes da função plaquetária, não existe correlação entre idade e tamanho na trombopoiese em estado regular (THOMPSON et al., 1983, 1984). Citocinas, como as interleucinas (IL) 3 e 6, influenciam a ploidia do megacariócito e podem levar à produção de plaquetas maiores e mais reativas, explicando como estados proinflamatórios podem aumentar o volume plaquetário médio (VPM) e criar condições protrombóticas (DASTJERDI, et al., 2006). Plaquetas com volume aumentado, também chamadas de megatrombócitos ou macroplaquetas, são metabólicamente e enzimaticamente mais ativas, pois contêm mais grânulos densos e produzem mais tromboxane A2 (ENDLER et al., 2002; GREISENGGER et al., 2004; KHANDEKAR et al., 2006). Também apresentam maior expressão de GP Ib e GP receptores II-b e III-a (YILMAZ et al., 2008).

1.3 Medidas da função plaquetária

Vários parâmetros podem ser avaliados para medida da função plaquetária (Quadro 1). A agregação plaquetária por turbidimetria em plasma rico em plaquetas, considerado o método de referência, exige grande volume de amostra com preparo demorado e trabalhoso, (MICHELSON, 2009) sendo metodologicamente complexa e de alto custo. Já as medidas da atividade plaquetária como dosagem dos metabólitos derivados das plaquetas ativadas (P-selectina, GPIIb/IIIa e agregados

plaqueta-leucócito), avaliados por citometria de fluxo, requerem equipamentos de custo elevado e profissionais capacitados.

QUADRO 1
Métodos empregados para avaliação da função plaquetária

Teste	Tecnologia	Vantagem	Desvantagem
Agregação por turbidimetria	Agregação plaquetária em resposta a um agonista	Considerado o método de referência	Preparo do plasma rico em plaquetas, com consumo de grande volume de amostra e tempo
Agregação por impedância	Agregação plaquetária em resposta a um agonista	Utiliza sangue total	Necessita grande volume e tempo no preparo da amostra
P-selectina e GPIIb/IIIa da superfície plaquetária e agregados leucócito-plaqueta	Mudanças na superfície plaquetária dependentes da ativação	Utiliza sangue total em pequeno volume	Requer um citômetro de fluxo e profissional capacitado
Tromboelastografia	Mede a contribuição da plaqueta na resistência do coágulo	Utiliza sangue total e usa teste laboratorial remoto*	Há poucos estudos publicados e avalia em conjunto: função plaquetária e cascata da coagulação

*Teste laboratorial remoto ou *point-of-care*.
Fonte: modificado de MICHELSON, 2009.

Há estudos que correlacionam função plaquetária com volume plaquetário. Karpatkin (1978) realizou medidas da velocidade de agregação plaquetária e observou que a velocidade de agregação induzida por ADP, colágeno ou epinefrina era diretamente proporcional ao volume plaquetário e apresentava melhor correlação com megatrombócito. Porém outros estudos não encontraram esta correlação (BEYAN et.; 2006).

1.4 Parâmetros de volume plaquetário

Analisadores hematológicos automatizados, desenvolvidos desde o final da década de 60, tornaram possível a mensuração automática de vários parâmetros de volume plaquetário (BRUMMITT; BARKER, 2000). Esses instrumentos são capazes de determinar, além da contagem plaquetária, os parâmetros VPM, coeficiente de variação do volume plaquetário (PDW, do inglês, *platelet distribution width*) e porcentagem de macroplaquetas (P-LCR, do inglês, *platelet large cell ratio*).

Atualmente, existem duas tecnologias principais usadas para avaliação do tamanho plaquetário: 1) Impedância elétrica, onde as células em uma suspensão são contadas ao passar por um orifício, gerando um pulso elétrico que é proporcional em intensidade ao volume da célula. 2) Método óptico de dispersão ou absorção da luz, utiliza um sistema com sinal laser, que mede a intensidade e o ângulo da luz dispersa quando incide numa suspensão celular, quantificando e determinando o tamanho das células. Estudo avaliando as medidas do volume plaquetário, em dois instrumentos com diferentes tecnologias (impedância elétrica versus método óptico) mostrou diferença de até 40% entre os dois sistemas (JACKSON; CARTER, 1993).

Alguns contadores podem ainda analisar simultaneamente a contagem plaquetária pelas duas metodologias independentes, óptica e impedância. O método óptico tem melhor precisão e exatidão para trombocitopenias severas, já a impedância reconhece interferentes celulares e plasmáticos (JOHANNESSEN; HAUGEN; SCOTT, 2001).

Mais recentemente, a citometria de fluxo com uso de anticorpos monoclonais anti-proteínas específicas expressas na superfície das plaquetas, também passou a ser aplicada na determinação do número e avaliação das características específicas das células trombocíticas (MICHELSON, 2009). Alguns analisadores já podem utilizar os três princípios.

A avaliação da contagem e dos parâmetros de volume das plaquetas feita por meio dos analisadores hematológicos automatizados é de fácil execução, baixo custo e disponível na maioria dos laboratórios clínicos. Embora seja uma metodologia de

baixa complexidade, a padronização deste procedimento, considerando as fases preanalítica e analítica, é essencial para que ele se torne útil na rotina clínica. Estudos têm mostrado que fatores pré-analíticos, como tipo de amostra biológica, tempo e temperatura de armazenamento, anticoagulante usado, e o método de análise interferem significativamente no VPM (WEDLAND et al., 2009; DIAZ-RICART et al., 2010, WYNN et al., 1995).

O anticoagulante padrão para o hemograma, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), mantém condições ótimas para contagem celular e diferencial de leucócitos, mas não preserva a ultra-estrutura e a capacidade funcional das plaquetas. Na presença de EDTA, o VPM aumenta em um padrão tempo-dependente (BATH; BUTTERWORTH, 1996; DASTJERDI et al., 2006; DIAZ-RICART et al., 2010; THREATTE et al., 1984). A exposição da plaqueta ao EDTA por períodos prolongados resulta em distorção de sua morfologia, (FROJMOVIC; MILTON, 1982) incluindo dilatação do sistema canalicular, progressiva tendência a mudança de forma e aglutinação plaquetária. Todas estas transformações externas são compatíveis com ativação plaquetária (FIG. 5) (WHITE, 1968, apud DIAZ-RICART et al., 2010).

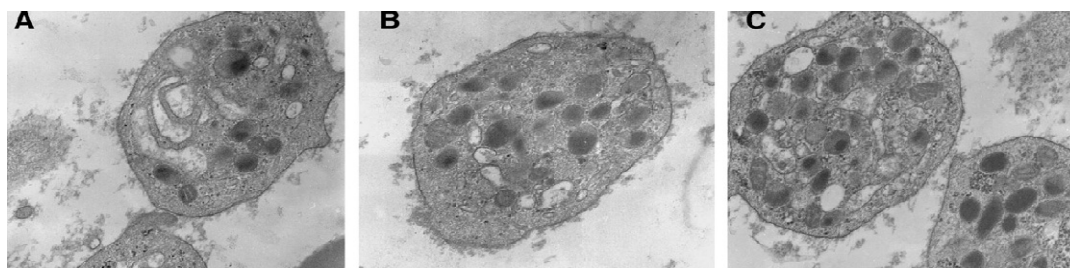


FIGURA 5- Microscopia eletrônica plaquetas com EDTA (A) sem EDTA (B) e (C). As plaquetas em (A) mostram dilatação do sistema canalicular, diminuição de organelas internas e mudança de forma.

Fonte: DIAZ-RICART et al., 2010.

1.5 Importância clínica dos parâmetros de volume plaquetário

Embora várias questões metodológicas relacionadas às medições dos parâmetros de volume plaquetário ainda estejam por serem resolvidas, diversos estudos que

relacionam tanto doenças hematológicas quanto não hematológicas com estes parâmetros encontram-se disponíveis.

A presença de trabalhos na literatura que associam o uso de parâmetros de volume plaquetário com estados protrombóticos passou a ser observada na década de 70 (ENDLER et al., 2002; GREISENEGGER et al., 2004; HUCZEK et al., 2005 JACKSON; CARTER, 1993; KARPATKIN, 1978; VAN DER LOO, 1997). Nos últimos dois anos, percebe-se um crescimento importante das publicações, relacionando os parâmetros plaquetários com doenças cardiovasculares e cerebrovasculares (CELIK et al., 2010; DE LUCA et al., 2009; DIAZ-RICART et al., 2010; ESTEVEZ-LOUREIRO et al., 2009; HUCZEK et al., 2010; JENNINGS, 2009; KAYA et al., 2010; LIPPI et al., 2009; MUSCARI et al., 2009; PIKIJA et al., 2009; WEDLAND et al., 2009; YAZICI et al., 2009; YETKIN et al, 2010). Apesar do interesse da comunidade científica, estes parâmetros plaquetários não são utilizados de forma rotineira pelos médicos assistentes, muitas vezes sendo omitidos no laudo dos resultados dos exames. Isto pode ser atribuído, pelo menos em parte, à falta de padronização do método pelos laboratórios, incluindo a ausência de valores de referência populacionais.

1.5.1 Parâmetros de volume plaquetário e doenças cardiovasculares

ENDLER et al. (2002) avaliaram o VPM como um fator de risco para IAM e mostraram que pacientes com doença coronariana prévia e VPM $\geq 11,6$ fL apresentavam risco significativamente mais alto de IAM em comparação aos pacientes com VPM baixo.

YILMAZ et al. (2004) compararam os valores do VPM em 2 grupos (controle e pacientes com sinais positivos de doença obstrutiva coronariana) antes e após serem submetidos ao teste ergométrico. As médias do VPM antes do teste foram semelhantes nos 2 grupos. Após o mesmo, o grupo de pacientes apresentou valores de VPM maiores que o grupo controle.

KHANDEKAR et al. (2005) estudaram 3 grupos de pacientes, sem doença coronariana, com doença coronariana estável e com IAM ou angina instável, em

relação ao VPM, PDW E P-LCR e verificaram que estes parâmetros eram significativamente maiores no grupo com IAM ou angina instável em comparação aos outros 2 grupos.

Estudo avaliando o valor prognóstico do VPM para reperfusão angiográfica tendo como desfechos a mortalidade de pacientes com IAM com elevação do segmento ST, mostrou que o VPM prediz de forma independente a mortalidade na população estudada (HUCZEK et al., 2005).

Outro estudo que avaliou o VPM como marcador de reestenose depois da angioplastia em pacientes com angina instável e estável, encontrou valores de VPM significativamente maiores no grupo com angina instável e verificou que o valor de VPM tinha um impacto tempo-dependente na incidência de reestenose (YANG; PIZZULLI; LUDERITZ, 2006). Resultados semelhantes foram encontrados por MADEN et al. (2007).

A relação entre índices plaquetários (VPM, PDW E P-LCR) e fatores hemostáticos também foi avaliada em pacientes com doença isquêmica cardíaca (IHARA et al, 2006a). O estudo demonstrou que os níveis de dímero-D e o complexo trombina-antitrombina III foram significativamente mais elevados nos pacientes quando comparados com os controles, entretanto não foi observada nenhuma diferença nos índices plaquetários entre os pacientes e o grupo controle.

Choudhury et al. (2007) avaliaram o VPM e outros índices de função plaquetária como P-selectina, CD62P e CD63 na fibrilação atrial (FA). Os autores compararam três grupos: um com FA, outro com doença cardiovascular e ritmo normal e um grupo de indivíduos saudáveis. Os dois primeiros grupos apresentaram altos níveis de CD62P, CD63 e P-selectina comparados com o grupo de saudáveis. Pacientes com FA crônica mostraram altos níveis de P-selectina e VPM, quando comparados ao grupo de FA paroxística.

Outro estudo demonstrou que o VPM foi significativamente mais alto em pacientes com ectasia da artéria coronariana, quando comparado com grupo de indivíduos com angiografia coronariana normal (SEN et al., 2007).

Um grande estudo prospectivo avaliou 1411 pacientes submetidos à angiografia coronariana. Os pacientes foram divididos em 3 grupos de acordo com o VPM (percentil 1: VPM $\leq 10,5$ fL; percentil 2: VPM entre 10,5-11,3 fL e percentil 3: VPM $> 11,3$) e avaliados em relação a diversas variáveis. Valor de VPM $> 11,3$ apresentou correlação com: idade, diabetes, hipertensão, doença arterial coronariana (DAC) prévia; angina estável; história familiar de DAC ; uso de estatina, uso de diurético, glicemia basal e número de hemácias. Nesse estudo também foi realizada agregação plaquetária em 50 pacientes e não foi observada relação entre VPM e agregação plaquetária (DE LUCA et al., 2009).

Lippi et al. (2009) avaliaram o VPM nos pacientes com síndrome coronariana aguda, diagnosticada pelos níveis elevados de troponina e alterações eletrocardiográficas, demonstrando um VPM significativamente mais alto, quando comparados ao grupo de pacientes com troponina normal, sugerindo sua utilidade como marcador na estratificação de risco cardiovascular nas emergências. Vários outros estudos também têm observado correlação entre os parâmetros de volume plaquetário com doenças coronarianas e síndromes coronarianas agudas (ALTEMEMI; HAMED, 2009; ESTEVEZ-LOUREIRO et al., 2009; GUTHIKONDA et al., 2008; HUCZEK et al., 2010; LIPPI et al., 2009).

Em pacientes hipertensos, espera-se na variação circadiana uma redução em torno de 10% das pressões sistólica e diastólica durante o sono. Pacientes que não apresentam esta redução parecem ter risco aumentado de lesão em órgão alvo e eventos ateroscleróticos. Foi descrito que o VPM é mais elevado nesses pacientes, quando comparados com indivíduos normotensos e hipertensos que apresentam redução noturna dos níveis pressóricos (KAYA et al., 2010).

Por outro lado, Ihara et al. (2006b), avaliaram a relação dos índices plaquetários com os achados da coronariografia em pacientes com doenças cardíacas isquêmicas e encontraram valores de P-LCR, VPM e PDW maiores no grupo controle que no grupo com coronariografia alterada.

1.5.2 Parâmetros de volume plaquetário e doenças cerebrovasculares

McCabe et al. (2004) identificaram uma correlação positiva entre VPM e percentual de plaquetas reticuladas na fase inicial e tardia de pacientes com doença cerebrovascular isquêmica (CVI).

Greisenegger et al. (2004), observaram pior prognóstico na evolução da CVI em pacientes com VPM elevado, independente de outros parâmetros clínicos. Resultado semelhante foi descrito por Pikija et al. (2009), sendo o VPM associado com extensão da área infartada, risco aumentado de morte até 7 dias e após 3 meses (depois do CVI). Ou seja, o VPM foi importante marcador da gravidade de evolução do CVI.

1.5.3 Parâmetros de volume plaquetário e diabetes

Watala et al. (1999) sugeriram que a heterogeneidade plaquetária em pacientes com diabetes se deve a uma diminuição da meia vida plaquetária, o que aumentaria o *turnover* plaquetário com liberação de plaquetas jovens, maiores e hiperreativas.

Em pacientes com diabetes mellitus tipo 2, o VPM foi significativamente mais elevado quando comparado com o grupo de não diabéticos. No grupo de diabéticos, o VPM foi maior naqueles com complicações microvasculares (PAPANAS et al., 2004). E no estudo de Demirtunc et al. (2009), o VPM foi significativamente mais alto no paciente com diabetes tipo 2 e glicohemoglobina > 7%, quando comparados com o grupo de melhor controle glicêmico pela glicohemoglobina < 7%. Outro estudo comparou 3 grupos: diabéticos, intolerantes à glicose e não diabéticos, em relação à contagem plaquetária e ao VPM. O VPM foi maior no grupo de diabéticos e menor nos não diabéticos, enquanto o grupo de intolerantes apresentou valores de VPM intermediários (ZUBERI, AKHTAR, AFSAR, 2008).

Bozkurt et al. (2006), compararam a contagem plaquetária e o VPM em mulheres grávidas com diagnóstico de diabetes gestacional e gestantes saudáveis. Nenhuma

diferença estatística foi observada nos dois grupos em relação a contagem plaquetária, porém o VPM foi significativamente mais alto nas mulheres com diabetes gestacional quando comparado com o das gestantes saudáveis.

1.5.4 Parâmetros de volume plaquetário e dislipidemia

Um estudo brasileiro descreveu que o P-LCR em pacientes com hipercolesterolemia e/ou hipertrigliceridemia foi significativamente maior quando comparado ao grupo controle (GROTTO; NORONHA, 2004). Coban e Afacan (2008) encontraram VPM significativamente maior em pacientes com dislipidemia quando comparado com grupo controle de indivíduos saudáveis. Além disso, observaram que os níveis do VPM diminuem significativamente depois do tratamento com rosuvastatina. As mudanças nos níveis do VPM com o uso desse medicamento não foram correlacionadas com redução no nível dos lípidos, indicando possivelmente uma ação de inibição da ativação plaquetária da rosuvastatina.

1.5.5 Parâmetros de volume plaquetário e doenças hematológicas

Kaito et al. (2004) investigaram o significado dos índices de volume plaquetário (VPM, PDW E P-LCR) no diagnóstico de trombocitopenia, comparando pacientes com anemia aplástica e trombocitopenia imune. Todos os índices foram significativamente mais elevados nos pacientes com trombocitopenia imune, sugerindo que esses índices forneçam informação clínica útil.

Muitas síndromes hereditárias associadas com trombocitopenia como a Síndrome de Bernard-Soulier, anomalia de May-Hegglin, Síndrome de Epstein, Síndrome de Fechtner e a Síndrome da Plaqueta Cinzenta também apresentam aumentos no VPM (THOMPSON; JAKUBOWSKI, 1988)

O PDW foi descrito como índice útil no diagnóstico diferencial da trombocitose em estudo que avaliou um novo parâmetro denominado $PDW_{residual}$. O $PDW_{residual}$ é

obtido pela subtração do PDW_{medido} pelo PDW_{esperado} , sendo este último determinado através de uma equação de regressão. O PDW_{residual} foi menor na trombocitose reativa do que na trombocitose autônoma, na qual a produção plaquetária perde o processo regulatório normal, como ocorre nas doenças mieloproliferativas (OSSELAER; JAMART; SCHEIFF, 1997).

1.5.6 Parâmetros de volume plaquetário e outras condições clínicas

Alguns estudos têm demonstrado a importância do VPM em outras condições clínicas. Esse parâmetro parece estar associado com retinopatia hipertensiva (COBAN; ADANIR; BILGIN, 2008). Já na doença de Crohn, tem sido avaliada a sua utilização como marcador de atividade da doença (SHEN et al., 2008).

Apesar deste grande número de possíveis aplicações clínicas para os parâmetros de volume plaquetário, eles não são utilizados de forma rotineira. Conhecer melhor estes índices ou parâmetros de volume plaquetário, definindo seu intervalo de referência em uma população brasileira, pode levar a uma melhor compreensão e maior utilização desses parâmetros na prática clínica.

1.6 Intervalo de referência

Resultados de exames laboratoriais são comumente comparados a intervalos de referência (IR) ou valores de referência, (FERRÉ-MASFERRER et al., 1999; FRIEDBERG et al., 2007), os quais são essenciais para a interpretação clínica, a tomada de decisão e o acompanhamento dos pacientes (JUNG; ADELI, 2009). Estima-se que cerca de 80% das decisões médicas são baseadas nas informações dos exames laboratoriais (KATAYEV; BALCIZA; SECCOMBE; 2010).

O IR é obtido através da análise da média de valores de uma população referência "saudável" (JUNG; ADELI, 2009). A análise estatística aplicada para sua determinação pode ser baseada na curva de Gauss, para variáveis que têm

distribuição simétrica, com a média (\bar{x}) e desvio padrão (DP), sendo o IR definido como $\bar{x} \pm 1,96$ DP, que engloba aproximadamente 95% dos valores presentes na distribuição. Outra maneira para se determinar o IR é baseada nos percentis, mais recomendada, por se aplicar a qualquer tipo de distribuição. Neste caso, o limite inferior corresponde ao percentil 2,5% e o limite superior ao percentil 97,5%. Nos dois modelos de análise, 5% dos resultados situam-se fora da faixa de referência.

Assim, por definição, 5% de todos os resultados encontrados em uma população "saudável" estão fora do IR, sendo por isso considerados "anormais". Por esta razão, as terminologias intervalo de referência, valores ou faixas de referência, tem sido utilizadas em lugar de valores normais, pois estes limites nem sempre definem "anormalidade".

Recomendações com critérios para obtenção dos valores de referência e a análise estatística dos dados são propostas pela *Internacional Federation of Clinical Chemistry* (IFCC) e pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (CLSI, 2008). De acordo com essas recomendações, a população de referência na qual se baseia o estudo deve ser apropriadamente selecionada, segundo critérios que podem influenciar os resultados como sexo, idade, presença de fatores de risco (obesidade, hipertensão, etc), estados fisiológicos específicos (gravidez, exercício físico, stress), uso de drogas e outros fatores (raça, nível socioeconômico) (FIG. 6).

Os interferentes préanalíticos, como preparo do participante, cuidados com a coleta e cuidados com transporte e armazenamento da amostra, devem ser cuidadosamente definidos e aplicados em todos os indivíduos da população de referência e suas amostras. As características do método analítico utilizado devem ser descritas em detalhes, devendo ser estabelecidas sua precisão e exatidão e definidos os limites de detecção, linearidade e interferentes. Além disso, se a análise for realizada por mais de um método, sistema ou instrumento, requer a avaliação da equivalência, comutabilidade ou comutatividade dos seus resultados.

O termo comutabilidade foi inicialmente usado para definir a capacidade de se possuir propriedades interensaios comparáveis em materiais de referência, de calibração ou de controle, demonstradas por amostras clínicas autênticas, quando medidas por mais de um sistema analítico (Rej, 1993; RICOS et al 1997).

Documentos da *Internacional Standardization Organization* (ISO) expandiram este conceito, descrevendo *comutabilidade* como a equivalência das relações matemáticas entre os resultados de diferentes sistemas analíticos de medida, para um material de referência e para amostras representativas de indivíduos saudáveis ou doentes para um determinado analito (MILLER et al 2009). No glossário do Manual do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC), 2007, comutatividade foi definida como a capacidade demonstrável estatisticamente ou de outra forma de que dois ou mais sistemas analíticos geram, para as mesmas amostras de pacientes, resultados clinicamente equivalentes. Na versão 2010 da norma PALC este conceito passa a ser atribuído ao termo equivalência. Assim a nomenclatura comutatividade, comutabilidade (do inglês *commutability*) ou equivalência de sistemas analíticos parece não estar normalizada, no presente trabalho o termo preferencialmente usado foi comutatividade.

Na comutatividade, o objetivo é verificar se os resultados entre os diferentes sistemas analíticos são concordantes ou equivalentes, assim os resultados dos *sistemas, métodos ou instrumentos testes* não devem se desviar dos resultados do *sistema, método ou instrumento referência* mais que os valores definidos pelo controle da qualidade analítica para erro aleatório (precisão), erro sistemático (bias ou exatidão) e erro total (ET). A precisão do sistema analítico é a capacidade de, em determinações repetidas de uma mesma amostra, fornecer resultados próximos entre si; a exatidão é a capacidade de apresentar resultados próximos do valor verdadeiro; já o ET representa a soma dos erros aleatório e sistemático (CLSI 2001). Os erros aleatório, sistemático e total aceitáveis de um sistema analítico podem ser especificados com base na variação biológica, que é definida como a flutuação fisiológica dos constituintes dos fluidos orgânicos em torno de seus pontos homeostáticos (RICOS et al 1997). Para diversos ensaios já existem especificações desses parâmetros que permitem avaliar o nível de desempenho de sistemas analíticos (KLEE, 1997).

Os programas de acreditação de serviços de Medicina Laboratorial, internacionais ou nacionais, como o PALC da SBPC/ML, solicitam a avaliação de comutatividade em seus requisitos. Essa verificação deve ser realizada periodicamente, de acordo com as características do procedimento ou sistema. Assim, ações de controle da qualidade dos laboratórios clínicos devem contemplar a realização dessas

avaliações, sua periodicidade e as especificações da qualidade analítica. O mesmo é válido para a determinação de intervalos de referência. Caso a determinação de IR de um determinado parâmetro laboratorial seja realizada por mais de um método, sistema ou instrumento, o CLSI (2008) recomenda avaliar a equivalência dos resultados obtidos com os diferentes métodos, sistemas ou instrumentos.

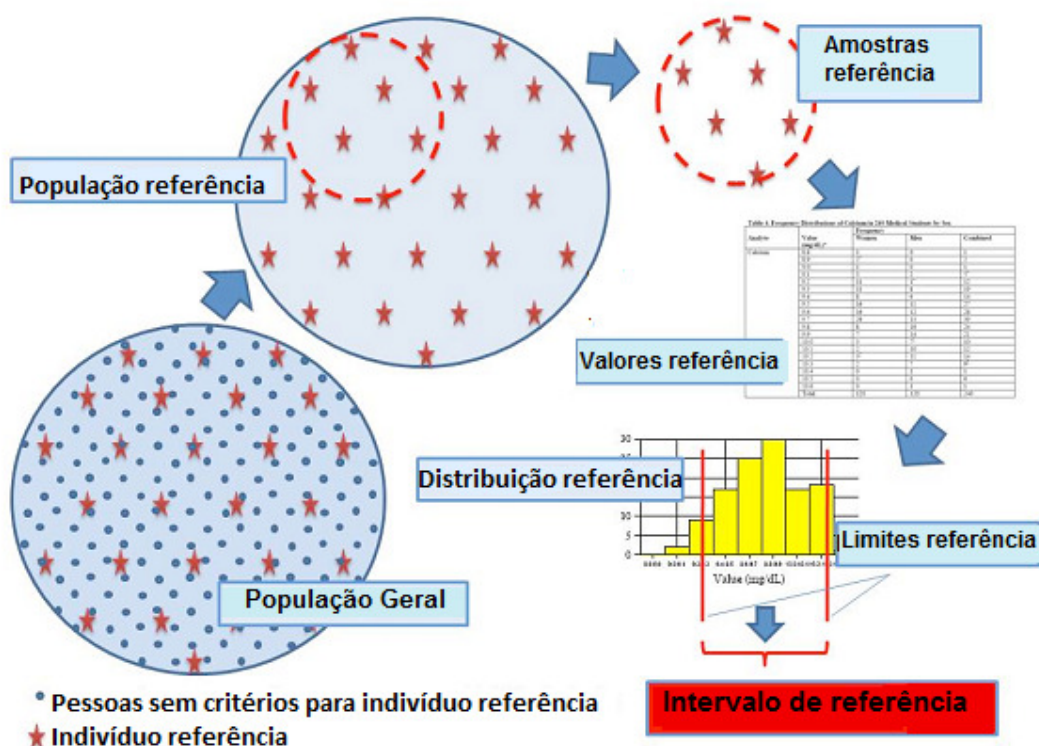


FIGURA 6 - Esquema básico para determinação de intervalos de referência
 Fonte: modificado de AYTEKIN; EMERK, 2008

Estabelecer o IR próprio da população brasileira, selecionando adequadamente os indivíduos identificados como referência, com avaliação das variáveis biológicas que podem interferir nos parâmetros laboratoriais, fornece informações que são pouco encontradas na literatura. A determinação de uma referência local (regional ou nacional) possibilita uma interpretação mais adequada dos resultados, evitando o uso de referências obtidas de outras populações, que podem não refletir as mesmas características da população brasileira.

1.7 Projeto ELSA

O Estudo Longitudinal de Saúde do adulto, reúne pesquisadores de seis instituições públicas de ensino e pesquisa do país – Universidade Federal da Bahia, Universidade Federal do Espírito Santo, Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade de São Paulo e a Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro (FIOCRUZ-RJ) - e tem por objetivo seguir uma coorte multicêntrica com 15102 funcionários dessas instituições para investigar fatores de risco, proteção e prognósticos para o desenvolvimento e evolução de doenças crônicas, principalmente cardiovasculares e o diabetes. O estudo é coordenado por um Comitê Diretivo e foi aprovado pelos conselhos de ética em cada instituição e pelo Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). Todos os participantes admitidos no estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A linha de base do estudo iniciou em 2008 e foi concluída em novembro de 2010. Nos Centros de Investigação ELSA, os participantes foram entrevistados e examinados de acordo com protocolos padronizados e rigorosamente seguidos no estudo. As medidas foram aferidas por pessoas treinadas e certificadas pelo projeto; os exames realizados por profissionais de saúde treinados e certificados. Uma breve descrição do Projeto ELSA é apresentada no Apêndice A.

Novas entrevistas, medidas e exames estão previstos para ocorrer a cada três anos e o estudo tem previsão de durar pelo menos 10 anos. Em 2011, será iniciada a segunda onda para investigar mudanças no perfil de exposição e incidência de eventos clínicos e subclínicos de interesse do estudo.

O Centro de Investigação de Minas Gerais (CI-ELSA-MG) fica situado no Campus Saúde da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), no Anexo Borges da Costa do Hospital das Clínicas (HC) da UFMG. O CI-ELSA-MG acompanha uma subamostra do coorte, composta por 3110 participantes voluntários, funcionários da UFMG e do CEFET-MG, com idade entre 35 e 74 anos. Esses indivíduos foram selecionados e amostrados em função de sexo e categoria funcional (professores, servidores técnico-administrativos, servidores de apoio).

O presente estudo se insere no ELSA-MG e tem como finalidade avaliar a distribuição dos parâmetros de volume plaquetário em uma subamostra da coorte e definir um IR, baseado em população brasileira. Informações com estes dados são escassos no país, pois os valores que atualmente consideramos como referência são derivados quase exclusivamente de populações de referência européia ou americana.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Definir o intervalo de referência dos parâmetros de volume plaquetário em participantes do ELSA-MG.

2.2 Específicos

1-Avaliar a comutatividade entre os equipamentos hematológicos automatizados utilizados para a medição dos parâmetros de volume plaquetário.

2-Avaliar o impacto do tempo entre a coleta da amostra e a análise dos parâmetros de volume plaquetário.

3-Avaliar a distribuição dos valores dos parâmetros de volume plaquetário em uma subamostra de participantes do ELSA – MG, definindo os intervalos de referência.

4-Introduzir parâmetros de volume plaquetário: VPM, PDW e P-LCR, como novos elementos na linha de base do estudo ELSA-MG: visando a investigação prospectiva do valor prognóstico independente dessas medidas para eventos adversos aterotrombóticos durante o seguimento do coorte.

3 METODOLOGIA

3.1 População de estudo

Os 3110 participantes do ELSA-MG compõem a população referência deste estudo; a partir dela, 173 indivíduos referência foram identificados. Na avaliação da fase preanalítica e da comutatividade, um menor número de amostras foram necessárias como demonstrado na FIG. 7.



FIGURA 7- População utilizada no estudo

3.2 Amostras

No presente estudo, foram seguidas as recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina laboratorial-SBPC/ ML (2005) para coleta de sangue venoso.

O participante foi orientado (verbalmente e por escrito) a seguir as seguintes instruções:

- Durante 24 horas que antecedem a prova, suspender o uso de polivitamínicos e vitamina C.
- Realizar jejum de 12 horas antes da coleta, não ultrapassando 14 horas. Durante este período, não ingerir bebidas alcoólicas e não realizar esforço físico.
- Não suspender uso de medicamentos prescritos.

A coleta foi realizada pela manhã, com o paciente assentado em poltronas próprias, após responder ao formulário de coleta para confirmação de jejum entre 12 e 14 horas, uso de medicamentos e presença de doenças selecionadas.

A venopunção foi realizada utilizando escalpes para coletas múltiplas de sangue a vácuo, com aplicação de torniquete por no máximo 1 min. Os tubos de coleta foram identificados com código de barra, permitindo o sigilo no estudo, a segurança para o participante e a garantia da rastreabilidade. Além do tubo a vácuo contendo EDTA utilizado em nosso estudo, foi coletado maior volume de sangue em outros tubos destinados às diversas dosagens laboratoriais previstas no projeto ELSA, conforme descrito no APÊNDICE A – Projeto ELSA – Brasil: Breve descrição.

As amostras de sangue, utilizadas no presente estudo, foram colhidas em EDTA, sendo o tubo homogeneizado por inversão (de 8 a 10 vezes) imediatamente após a coleta.

Para a avaliação do impacto do tempo entre a coleta e a realização do teste, as amostras foram analisadas 1 hora e 6 horas após a coleta. Para a avaliação da

comutatividade e para a determinação do IR foi definido o tempo inferior a 2 horas após a coleta para a realização dos testes (DASTJERDI et al., 2006; WEDLAND et al., 2009).

As amostras foram mantidas à temperatura ambiente até o momento da análise, sendo transportadas até os setores de hematologia e urgência do serviço de Medicina Laboratorial da Unidade Funcional de Patologia e Medicina Laboratorial (UFPML) do HC-UFMG acondicionadas em caixas térmicas sem refrigeração. Todas foram processadas rigorosamente dentro do tempo, sendo este um dos critérios de rejeição neste estudo.

3.3 Análise automatizada

As determinações foram realizadas no Setor de Hematologia da UFPML-HC-UFMG em analisadores hematológicos SYSMEX XE 2100 D (Sysmex, Kobe, Japão) com capacidade para avaliar os parâmetros de volume plaquetários, VPM, PDW e P-LCR. Os analisadores hematológicos utilizados aplicam unicamente o método da impedância elétrica (corrente direta) para a contagem plaquetária. Nesse método, as plaquetas, em uma suspensão, são contadas ao passar por um orifício, gerando um pulso elétrico que é proporcional em intensidade ao tamanho e volume da célula. Um histograma com os dados é construído, apresentando uma curva de distribuição log-normal (JACKSON; CARTER;1993) (FIG. 8).

Todas as partículas detectadas com o tamanho entre 2 a 30 fL são contadas como plaquetas. A partir destes dados os parâmetros de volume plaquetário são calculados: $VPM (fL) = (\text{plaquetócrito}/\text{contagem plaquetária})$, sendo o plaquetócrito a razão do volume das plaquetas em todo o volume do sangue total. O PDW e P-LCR são analisados a partir do histograma de distribuição do tamanho plaquetário. A largura da distribuição até o nível de 20% é definido como PDW, e o percentual de plaquetas maior que 12 fL definido como P-LCR (FIG. 8).

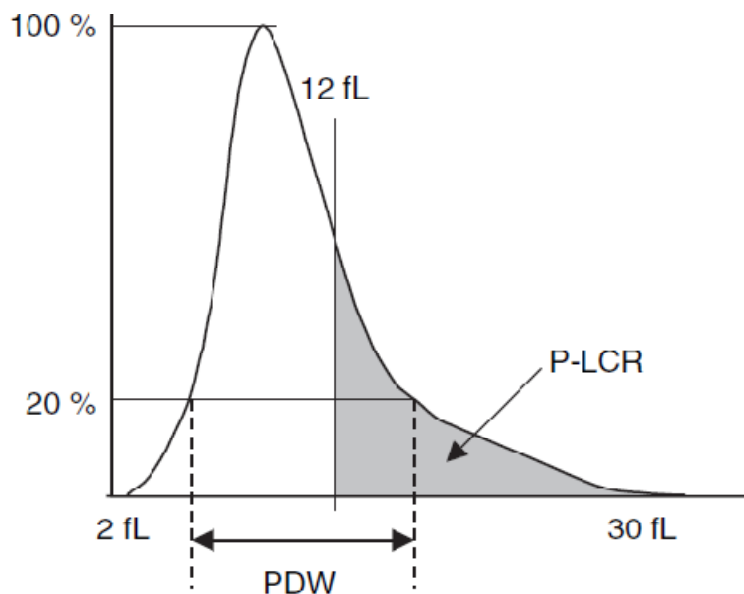


FIGURA 8- Histograma da distribuição do tamanho plaquetário e a definição de PDW (distribuição até o nível de 20%) e P-LCR (porcentagem de plaquetas com mais de 12fL).

O Setor de Hematologia da UFPML – HC - UFMG, onde foi realizado o estudo, além da manutenção periódica dos equipamentos, utiliza como controle interno da qualidade: amostras controle comerciais em 3 níveis, com valores conhecidos, medidos simultaneamente com amostras dos pacientes. Após 20 corridas analíticas, a média e o desvio padrão dos valores obtidos são avaliados de acordo com os critérios de aceitabilidade, seguindo as regras múltiplas de controle da qualidade analítica propostas por Westgard (2009a). O uso dessas amostras na rotina diária do laboratório permite a verificação da variabilidade das medições do equipamento monitorando assim, a sua precisão. O laboratório participa do Programa de Proficiência em Ensaio Laboratoriais (PELM/Control-Lab)¹, gerenciado pela SBPC/ML, e do programa de proficiência gerenciado pelo *College of American Pathologists* (CAP)². Apresenta desempenho *Adequado* desde o início deste estudo.

Nesses programas, também denominados no Brasil como Controle Externo da Qualidade, amostras com valores não conhecidos são enviadas periodicamente para os laboratórios que, após fazerem a medição dos parâmetros laboratoriais,

¹ <http://www.control-lab.com.br/>.

² <http://www.cap.org/apps/cap.portal>

encaminham os resultados para os órgãos gestores. Os resultados de todos os laboratórios participantes do programa são, então, analisados e comparados entre si. O controle externo da qualidade permite avaliar e monitorar a exatidão das medições de um determinado sistema.

3.3.1 Ensaio de Comutatividade

Foram utilizados os três analisadores hematológicos automatizados disponíveis, sendo dois desses instalados no Setor de Hematologia e o terceiro no Setor de Urgência. Todos os instrumentos possuem a mesma metodologia de medição e utilizam calibradores, controles e insumos do mesmo fabricante. Visando garantir a comparabilidade dos resultados dos exames, a comutatividade dos contadores hematológicos utilizados para determinar os valores dos parâmetros de volume plaquetário foi avaliada. No presente estudo, um dos instrumentos localizados no setor de Hematologia – Analisador Hematológico A (AHA), foi definido como *instrumento comparativo* com o qual os demais, denominados Analisador Hematológico B (AHB) e Analisador Hematológico U (AHU), foram comparados (*instrumentos teste*).

Seguindo as recomendações do documento EP9-A2 *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples*, proposto pelo CLSI (2002), foram analisadas 24 amostras de sangue periférico coletadas em tubos contendo EDTA. As amostras foram selecionadas visando obter valores próximos dos diferentes níveis de decisão terapêutica (Westgard 2009b). Foram processadas seis amostras por dia, durante quatro dias, em duplicata nos três aparelhos, utilizando o modo fechado³, totalizando 48 replicatas em cada instrumento. Foi avaliada a correlação entre os resultados da contagem plaquetária e do VPM, obtidos com os três instrumentos e estimados os erros sistemáticos (bias) e totais, considerando as especificações oriundas da

³ Modo fechado ou automático: os tubos primários, fechados, são colocados em *racks* em ordem sequencial, e são homogeneizados automaticamente. O sangue (200 µL) é aspirado diretamente dos tubos pelo equipamento, necessitando um volume de amostra mínimo de 2 mL. No modo manual, o volume mínimo necessário é de 1 mL, sendo aspirado 130 µL para realização da análise. Nesse modo o operador manipula cada amostra individualmente, homogeneizando-a e abrindo o tubo primário para aspiração.

variação biológica como limite máximo aceitável (*Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular*, 2010).

3.3.2 Avaliação do impacto do tempo na determinação dos parâmetros plaquetários: VPM, PDW, P-LCR

Foram selecionadas, aleatoriamente, 22 amostras de participantes do estudo ELSA-MG, colhidas em EDTA, e armazenadas em temperatura ambiente. O hemograma foi realizado no intervalo máximo de 1 hora e 11 minutos (média 34min; DP: 15min) após a coleta (Tempo 1) e repetido no intervalo máximo de 7 horas e 39 minutos (média; 6 h e 32 min.; DP: 30 min.) (Tempo 2).

3.3.3 Intervalo de referência para o VPM, PDW e P-LCR

O presente estudo seguiu as recomendações do documento consensual, *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory* proposto pelo IFCC e CLSI (2008). A população de referência incluiu os 3110 participantes do ELSA-MG, cujas amostras foram coletadas de acordo com os critérios estabelecidos e rigorosamente controlados. Dessa população, foi selecionada uma subamostra de conveniência composta de 173 indivíduos, que foram definidos como indivíduos referência.

Os seguintes critérios de exclusão foram utilizados: gravidez, tabagismo, diabetes, hipertensão arterial, dislipidemia, uso de drogas prescritas como antiagregantes plaquetários, anticoagulantes e estatinas. Todos os indivíduos da subamostra referiram sua própria saúde como boa ou muito boa. Foram também excluídos participantes com contagem plaquetária e níveis de hemoglobina (Hb) fora do IR. Os intervalos considerados foram: plaquetas: 150 - 400 x 10⁹/L; Hb: homens: 15,0 ± 2,0 g/dl; mulheres: 13,5 ± 1,5 g/dl (DACIE; LEWIS; 1995, p.12).

3.3.4 Análise estatística:

3.3.4.1 Na avaliação da comutatividade

A avaliação da comutatividade tem o objetivo de verificar se os resultados entre os dois sistemas são concordantes ou equivalentes. Os resultados do *método teste* não devem se desviar dos resultados do *método comparativo* mais do que o definido pelas especificações da qualidade. Portanto, para que os resultados obtidos nos diferentes equipamentos sejam considerados equivalentes, a diferença das médias entre os resultados do instrumento AHA (comparativo) e dos instrumentos AHB e AHU (testes) tem que ser próxima a zero. A análise foi feita utilizando o programa Excel (Microsoft, 2003, EUA).

As especificações da qualidade analítica utilizadas foram oriundas dos componentes da Variação Biológica para Imprecisão, Bias e Erro Total conforme apresentado na TAB. 1

TABELA 1
Componentes da Variação Biológica e Especificações da Qualidade Analítica

Analito	CVi	CVg	CVa	Bias (%)	ET (%)
Plaquetas	9,1	21,9	4,6	5,9	13,4
VPM	4,3	8,1	3,2	3,4	8,8

ET: Erro Total; CVi: Variação biológica intra individual; CVg: Variação biológica intragrupo; CVa: coeficiente de variação analítica; VPM: Volume plaquetário médio.

Fonte: *Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular*, 2010

3.3.4.2 Avaliação do impacto do tempo na determinação dos parâmetros de volume plaquetário

Para avaliação de possíveis desvios da normalidade nas distribuições dos parâmetros de volume plaquetário foi aplicado o teste de Kolmogorov-Smirnov. O Teste t de *Student* com amostras pareadas foi utilizado para comparação das

médias. Definiu-se o nível de significância de 5% para todos os testes. A análise foi feita utilizando o pacote estatístico SPSS 13.0 (*Windows College Station, Texas, EUA*).

3.3.4.3 Avaliação da distribuição e definição dos intervalos de referência dos parâmetros plaquetários

Para avaliar se os valores dos parâmetros de volume plaquetário apresentam uma distribuição normal ou gaussiana, foram aplicados os testes: Skewness, Kurtosis e de Kolmogorov-Smirnov. O método não paramétrico foi utilizado para a determinação do IR, sendo calculado a partir dos percentis 2,5 e 97,5, dentro de 95% do intervalo de confiança. A análise foi feita utilizando o pacote estatístico STATA 9.0. As diferenças entre subgrupos definidos por características sócio-demográficas foi verificada pelo teste não paramétrico de Mann Whitney, com valor de significância de 0,05.

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação da comutatividade

Na análise das amostras para essa avaliação, o tempo entre a coleta e a realização das medições foi inferior a 120 min. (média 56 min.; DP: 22 min.). A TAB. 2 apresenta a correlação dos resultados da contagem plaquetária e do VPM e os erros sistemáticos e totais obtidos no analisador hematológico AHU (teste) comparado com o instrumento AHA (comparativo).

TABELA 2
Correlação entre os analisadores hematológicos U e A

Parâmetros	Coefficiente de Correlação (r)	Bias médio encontrado (%)	Bias permitido (%)	Erro total encontrado (%)	Erro total permitido (%)
Plaquetas	0,999	3,18	5,90	10,42	13,40
VPM	0,989	2,57	3,40	5,19	8,80

VPM: Volume plaquetário médio.

Os GRAF.1 e 2 apresentam a diferença média entre o instrumento AHU (teste) e o comparativo (AHA) para contagem plaquetária e VPM, respectivamente.

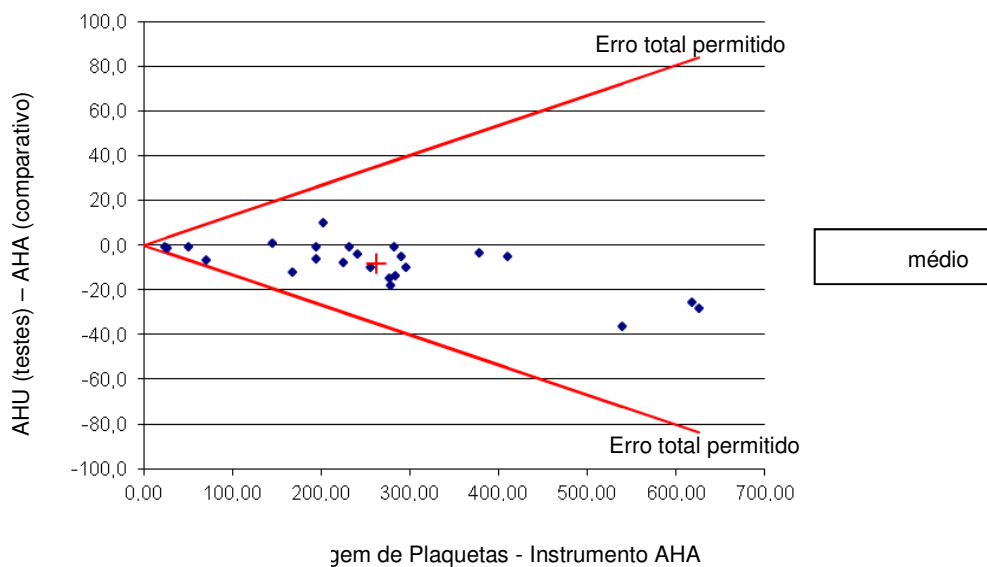


GRÁFICO 1 – Diferença das médias da contagem plaquetária entre analisadores hematológicos U (AHU) e A (AHA).

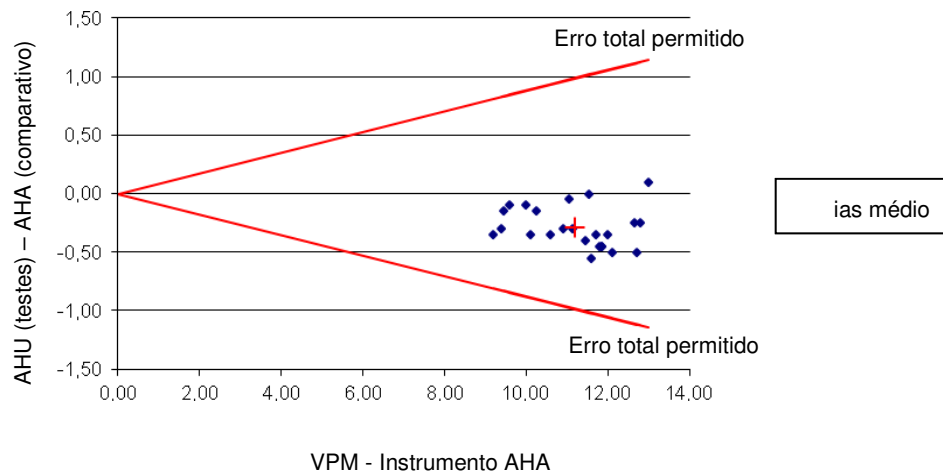


GRÁFICO 2 – Diferença das médias do VPM entre analisadores hematológicos U (AHU) e A (AHA).

A TAB. 3 apresenta a correlação dos resultados da contagem plaquetária e do VPM e os erros sistemáticos e totais obtidos no analisador hematológico AHB (teste) comparado com o instrumento AHA (comparativo).

TABELA 3
Correlação entre os analisadores hematológicos B e A

Parâmetros	Coefficiente de Correlação (r)	Bias médio encontrado (%)	Bias Permitido (%)	Erro total encontrado (%)	Erro total permitido (%)
Plaquetas	0,999	1,06	5,90	11,89	13,40
VPM	0,984	1,75	3,40	3,09	8,80

VPM: Volume plaquetário médio

Os GRAF. 3 e 4 apresentam a diferença média entre o instrumento AHB (teste) e o comparativo (AHA) para contagem plaquetária e VPM, respectivamente.

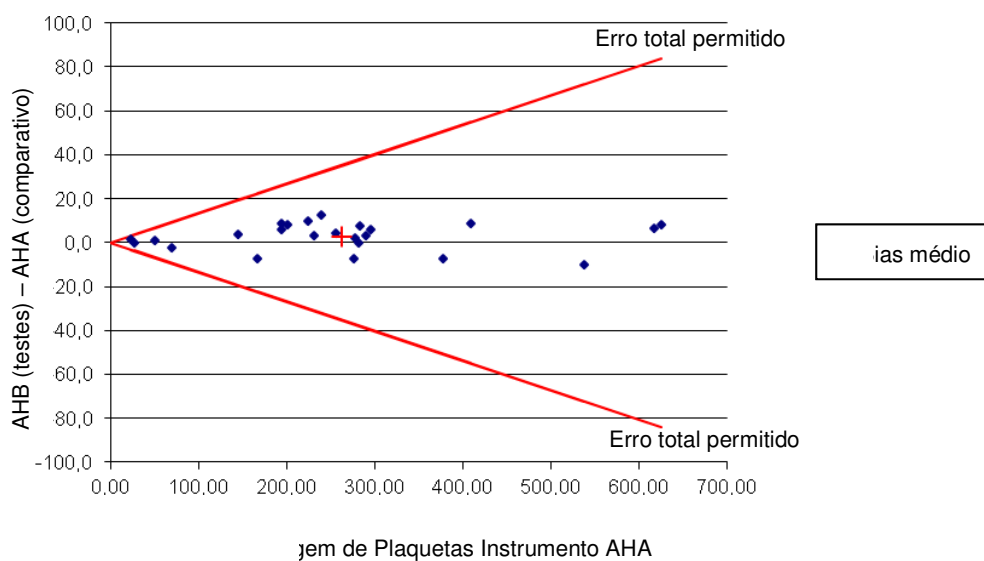


GRÁFICO 3 – Diferença das médias da contagem plaquetária entre analisadores hematológicos B (AHB) e A (AHA).

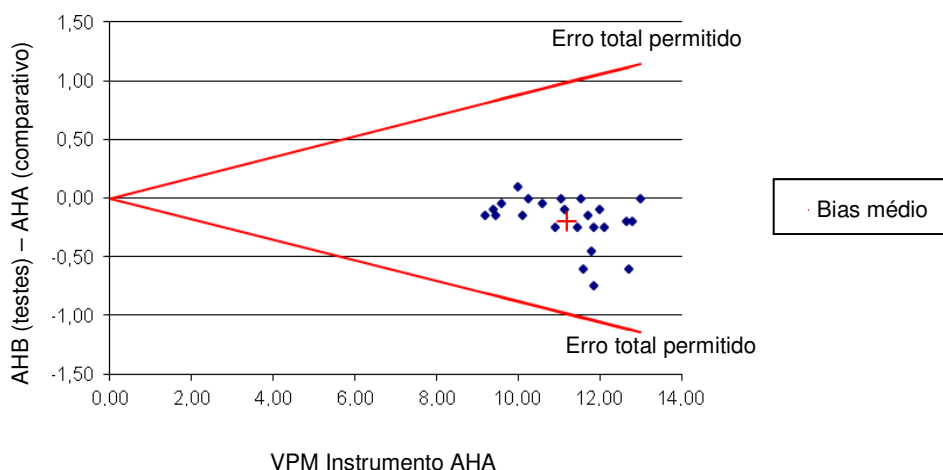


GRÁFICO 4 – Diferença das médias do VPM entre analisadores hematológicos B (AHB) e A (AHA).

4.2 O impacto do tempo entre a coleta da amostra e a realização do teste na determinação dos parâmetros plaquetários

Valores máximos e mínimos dos parâmetros de volume plaquetário (VPM, PDW e P-LCR) obtidos em 22 amostras analisadas no Sysmex XE 2100 nos Tempos 1 e 2 após a coleta de sangue em EDTA encontram-se na TAB. 4.

TABELA 4
Valores mínimos e máximos dos parâmetros de volume plaquetário nos Tempos 1 e 2

Parâmetro	Tempo 1		Tempo 2	
	Min	Max	Min	Max
VPM (fL)	9,7	12,2	10,1	13,2
PDW	11,2	16,6	13,2	16,6
P-LCR (%)	22,2	42,6	24,2	51,4

VPM: Volume plaquetário médio, PDW: distribuição da população plaquetária, P-LCR: percentual de macroplaquetas

Os valores dos parâmetros de volume plaquetário, na primeira e segunda determinações, apresentaram distribuição normal, de acordo com o teste de Kolmogorov-Smirnov.

A TAB. 5 apresenta as médias dos parâmetros plaquetários nos Tempos 1 e 2 após a coleta de sangue em EDTA. Todos os valores no tempo 2 foram significativamente mais elevados do que no tempo 1.

TABELA 5
Média dos parâmetros plaquetários em análises realizadas nos Tempos 1 e 2 após a coleta de sangue em EDTA.

Parâmetro	Tempo 1	Tempo 2	Valor p
VPM (fL)	10,76	11,42	<0,001
PDW	13,02	14,11	<0,001
P-LCR %	31,06	36,80	<0,001

VPM: Volume plaquetário médio, PDW: distribuição da população plaquetária, P-LCR: percentual de macroplaquetas

A TAB. 6 apresenta as diferenças entre os valores dos parâmetros plaquetários obtidos nos tempos 1 e 2 e as especificações da variação biológica disponíveis para esses parâmetros.

TABELA 6
Diferença relativa e absoluta entre os valores das medidas dos parâmetros plaquetários nos Tempos 1 e 2

Parâmetro	Diferença Tempo 2 – Tempo 1		Bias permitido
	Absoluta	Relativa (%)	
VPM	0,66 fL	6,1	3,4%
PDW	1,09	8,3	...
P-LCR	5,74%	18,5	...

VPM: Volume plaquetário médio, PDW: distribuição da população plaquetária, P-LCR: percentual de macroplaquetas

4.3 Intervalos de referência

O grupo de indivíduos referência incluiu 93 homens e 80 mulheres, com idades médias de 50,9 (37-73) e 50,8 (35-73) anos, respectivamente. Dos 173 participantes, 147 tinham idade entre 35-60 anos (85%) e 26 tinham 60 anos ou mais (15%).

A TAB. 7 apresenta outras características da população avaliadas no presente estudo.

TABELA 7
Características demográficas dos 173 indivíduos referência

Características	Frequência	
	n	%
Sexo		
Feminino	80	46,2
Masculino	93	53,8
Idade		
35 – 59 anos	147	85,0
≥ 60 anos	26	15,0
Raça/cor auto declarada		
Branca	82	47,4
Parda	57	32,9
Preta	17	9,8
Outros	17	9,8
Escolaridade		
Primeiro grau completo	6	3,47
Primeiro grau incompleto	4	2,31
Segundo grau completo	28	16,18
Segundo grau incompleto	5	2,89
Universitário completo	25	14,45
Universitário incompleto	15	8,67
Pós-graduação	90	52,02

Na análise das amostras para essa avaliação, o tempo entre a coleta e a realização das medições foi inferior a 120 min. (média 56 min.; DP: 22 min.).

Na distribuição de valores para os parâmetros de volume plaquetário, não houve diferença estatística entre os grupos masculino e feminino. Já a contagem plaquetária mostrou uma diferença significativa entre estes dois grupos ($p \leq 0,001$)

TAB. 8.

TABELA 8
Médias da contagem Plaquetária e dos Parâmetros de volume Plaquetário em homens e mulheres

Parâmetro	População total Média (DP)	Mulheres Média (DP)	Homens Média (DP)	<i>p</i>
Plaquetas ($\times 10^9/L$)	228 (45,6)	246 (47,1)	213 (38,3)	0,000
VPM (fL)	10,26 (0,80)	10,27 (0,80)	10,26 (0,80)	0,902
PDW	12,02 (1,62)	11,96 (1,55)	2,07 (1,69)	0,641
P-LCR (%)	26,99 (6,61)	27,03 (6,51)	26,96 (6,68)	0,943

VPM: Volume plaquetário médio; PDW: distribuição da população plaquetaria; P-LCR: porcentagem de macroplaquetas; DP: desvio padrão. P-valor obtido pelo teste de Kruskal-wallis para distribuições não paramétricas

Quando se compararam indivíduos na faixa etária entre 35 a 59 anos e maiores ou igual a 60 anos, não se observou diferença significativa nas distribuições dos valores de contagem de plaquetas ($p=0,571$), VPM ($p=0,512$), PDW ($p=0,375$) e P-LCR ($p=0,482$).

Os GRAF. 5 e 6 apresentam as correlações entre VPM x PDW e VPM x Contagem de Plaquetas, respectivamente.

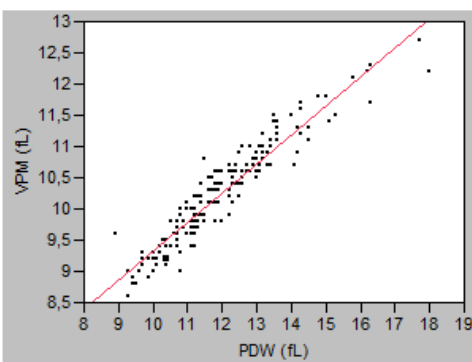


GRÁFICO 5: Correlação entre VPM e PDW

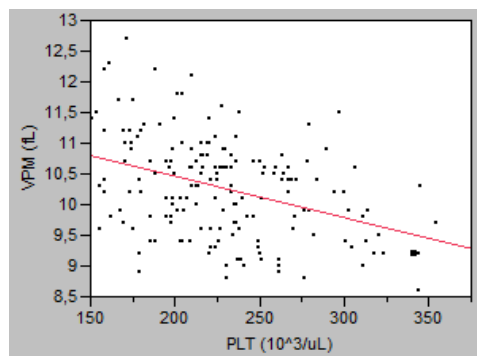


GRÁFICO 6: Correlação entre VPM e Contagem de Plaquetas.

Os histogramas com valores das 173 amostras para contagem plaquetária, VPM, PDW e P-LCR, são demonstrados, abaixo nos GRAF. 7, 8, 9 e 10.

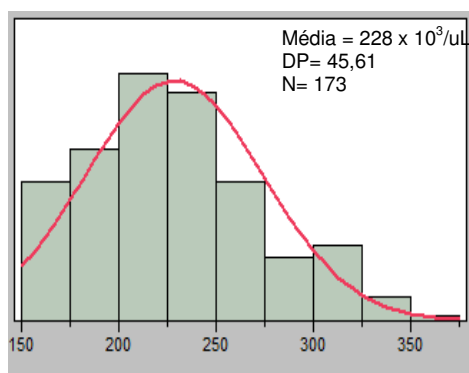


GRÁFICO 7- Distribuição da contagem plaquetária em 173 amostras

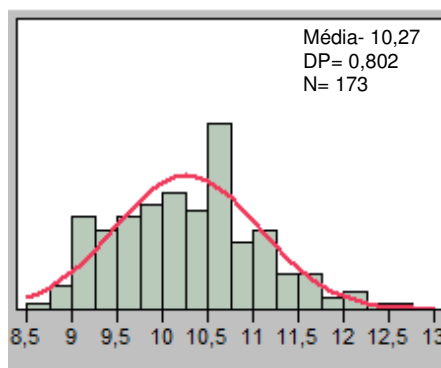


GRÁFICO 8- Distribuição do VPM em 173 amostras

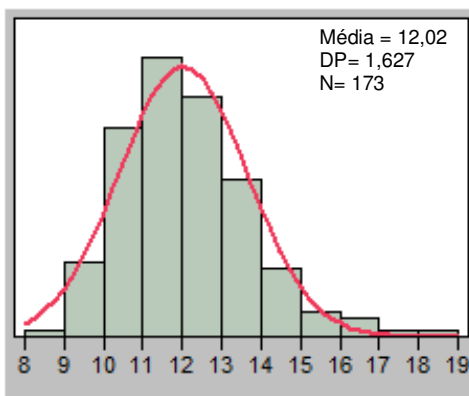


GRÁFICO 9- Distribuição do PDW em 173 amostras

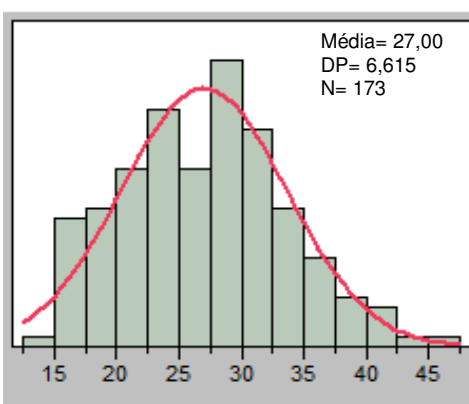


GRÁFICO 10- Distribuição do P-LCR em 173 amostras

A contagem plaquetária não mostra uma distribuição gaussiana, já os parâmetros de volume plaquetário apresentam distribuição gaussiana o que foi confirmado na aplicação dos testes: Skewness, Kurtosis e de Kolmogorov-Smirnov.

Os intervalos de referência para os parâmetros de volume plaquetário, determinados através da análise não paramétrica, encontram-se na TAB. 9.

TABELA 9
Intervalos de referência para os parâmetros plaquetários

Parâmetro plaquetário	Mediana	Intervalo de Referência	
		Percentil 2,5	Percentil 97,5
VPM (fL)	10,3	8,9	12,2
PDW	12,0	9,4	16,0
P-LCR (%)	27,0	15,8	41,6

VPM: Volume plaquetário médio, PDW: distribuição da população plaquetária, P-LCR: percentual de macroplaquetas

5 DISCUSSÃO

A correlação entre os equipamentos SYSMEX XE 2100 D avaliados foi ótima para os parâmetros investigados, considerando os valores dos coeficientes de correlação encontrados que foram superiores a 0,975, nível de correlação especificada para o presente estudo. O erro sistemático (Bias médio) e o erro total obtidos para os parâmetros analisados, quando se comparou os equipamentos AHB e AHU com o AHA, atenderam aos requisitos da qualidade definidas para o presente estudo. Para a contagem plaquetária foram utilizadas as especificações desejáveis oriundas da variação biológica, enquanto que para o VPM, por ser um parâmetro calculado, utilizou-se as especificações mínimas. Assim, exames realizados nos equipamentos descritos anteriormente são comparáveis, podendo ser utilizados indistintamente no acompanhamento de pacientes, em pesquisas clínicas ou na determinação de IR, minimizando a interferência da variabilidade analítica nos resultados.

Para determinação do IR de um dado parâmetro laboratorial, recomenda-se também que seja avaliado o desempenho do método, sistema ou equipamento, por meio de sua precisão e exatidão. Westgard (2007) descreve o método analítico utilizado neste estudo, como tendo desempenho de classe internacional, para todos os analitos e em todos os níveis. Esse autor encontrou uma imprecisão, medida pelo coeficiente de variação, para plaquetas igual a 2,77%. A análise dos dados do Programa de Controle Interno da Qualidade do Setor de Hematologia da UFPML – HC – UFMG do AHA (instrumento comparativo) demonstrou que o coeficiente de variação encontrado para a contagem plaquetária foi de 4,3% e para a VPM 1,6%. O coeficiente de variação analítica especificado como desejável pela variação biológica para contagem plaquetária é de 4,6% e para o VPM 2,2% (*Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular*, 2010).

É importante ressaltar que a contagem plaquetária realizada em analisadores hematológicos que utilizam metodologia óptica e impedância, sofrem interferência analítica de vários fatores, como fragmentos de hemácias ou leucócitos, microcitose, bactérias, complexos imunes e ainda de plaquetas gigantes ou grumos plaquetários. Considerando que a população selecionada para o presente estudo é composta de indivíduos saudáveis, não se espera interferência significativa desses fatores. Por outro

lado, Diquattro et al (2007), sugerem que os resultados da contagem plaquetária de pacientes com púrpura trombocitopênica idiopática, realizados em analisadores convencionais, devem ser interpretados com cautela e propõem que decisões terapêuticas deveriam basear-se idealmente em métodos imunoplaquetários. É possível supor que, nessas condições, estes mesmos interferentes possam influenciar também a análise dos parâmetros de volume plaquetário.

Avaliar os interferentes pré-analíticos, padronizando os procedimentos de coleta e transporte de amostras, visando minimizar o seu impacto no resultado dos exames, é outra das condições para se estabelecer IR. Para os parâmetros estudados, foi importante a padronização do tempo entre a coleta da amostra e sua análise.

A avaliação do impacto do tempo na determinação dos parâmetros de volume plaquetário demonstra que a média do VPM, estabelecida em amostras anticoaguladas com EDTA no Tempo 2, foi significativamente maior do que o valor obtido após uma hora da coleta. A elevação média do VPM foi superior ao bias analítico permitido (3,4%), baseado na variabilidade biológica. Os demais parâmetros, PDW e P-LCR foram também significativamente maiores no Tempo 2, quando comparados ao Tempo 1. Entretanto, não existem especificações para o bias analítico baseadas na variação biológica disponíveis na literatura para esses parâmetros.

Estes resultados se assemelham ao que é descrito na literatura como no estudo de Brummitt e Barker (2000), que encontraram mudanças em alguns parâmetros, como no VPM. Entretanto, esses autores não encontraram diferença no PDW, nos 2 tempos de análise (Tempo um: 20 a 30 min. e Tempo dois: 2 a 3,5 h). A alteração no valor PDW observado no presente estudo poderia ser explicada pela diferença do intervalo de medição entre os dois estudos, uma vez que as alterações plaquetárias na amostra são tempo dependente.

Estas mudanças que ocorrem nos parâmetros de volume plaquetário parecem não ser influenciadas pela doença de base. Um estudo que avaliou 3 grupos, pacientes com doença coronariana estável, com IAM e indivíduos saudáveis, mostrou que alterações significativas tempo-dependente são observadas nos valores dos

parâmetros de volume plaquetário, independente da doença de base ou da sua gravidade (BOOS; BALAKRISHNAN; LIP, 2008).

Imeri et al. (2008) demonstraram que a estabilidade da amostra é variável de acordo com o parâmetro hematológico avaliado e do método de análise utilizado nos diferentes analisadores hematológicos. Buttarello e Plebani (2008) relataram que o VPM aumenta quando o método utilizado é a impedância e diminui quando é utilizado o sistema óptico. Esse fato pode ser explicado pois, na presença de EDTA, as plaquetas mudam de forma e alteram a permeabilidade da membrana plasmática, havendo diluição do conteúdo citoplasmático, que resulta na diminuição da densidade óptica e, portanto, do índice de refração. Assim, o VPM é cerca de 10% menor quando medido no sistema óptico (JACKSON; CARTER, 1993; BUTTARELLO; PLEBANI, 2008).

Outro estudo comparou medidas do VPM em amostras colhidas com diferentes anticoagulantes (EDTA e citrato) e analisadas 1h após a venopunção e demonstrou que o VPM obtido na presença de EDTA foi significativamente maior do que com citrato (DASTJERDI, et al.; 2006). Na presença de EDTA, o VPM aumenta em um padrão tempo-dependente, (BATH; BUTTERWORTH, 1996) provavelmente pelo ingurgitamento das plaquetas (DASTJERDI et al., 2006; DIAZ-RICART et al., 2010). Na rotina do laboratório clínico, dificilmente o hemograma é realizado antes de 2 horas após a coleta. Na UFPML do HC, o tempo médio estimado entre a coleta ambulatorial de amostras e a realização do hemograma é em média de 6 a 7 horas. Assim, esse tempo pode ser um obstáculo para a realização de medição dos parâmetros plaquetários na prática clínica.

O anticoagulante padrão para o hemograma, EDTA, mantém condições ótimas para contagem celular e diferencial de leucócitos. Substituí-lo por outro anticoagulante como o citrato implicaria na necessidade de novas padronizações e coleta de tubo adicional tornando a determinação desses parâmetros mais dispendiosa.

Apesar do interesse em se avaliar o desempenho da análise dos parâmetros plaquetários com outros anticoagulantes como o citrato, por exemplo, isso não foi possível no presente estudo por se tratar de estudo suplementar ao projeto ELSA seguindo as padronizações preestabelecidas. Seria interessante, entretanto, que o

projeto avaliasse este desempenho em subamostra de participantes na segunda onda de exames do estudo, visto que há interesse em determinar o valor prognóstico do VPM.

É importante ressaltar que qualquer mudança para a realização dos parâmetros plaquetários, seja a introdução de novo anticoagulante ou redução do tempo entre a coleta e o exame somente se justifica se a real utilidade clínica desses parâmetros for comprovada. Uma alternativa viável e que preserva a praticidade de se utilizar a amostra em EDTA foi proposta por Diaz-Ricart et al. (2010), que usou um aditivo na amostra colhida em EDTA, que estabiliza os parâmetros de volume plaquetário por mais tempo e tem mínima influência sobre os outros parâmetros do hemograma.

É descrito na literatura que a variação do VPM é inferior a 0,5 fL, quando a análise for realizada dentro de 2h após a coleta da amostra com EDTA (DASTJERDI et al. 2006; WEDLAND et al. 2009). Considerando as características pré-analíticas do exame e confirmadas neste estudo, as amostras dos participantes foram colhidas com EDTA e a análise realizada no tempo médio de 56 min, minimizando assim o impacto do tempo nos parâmetros plaquetários.

As médias desses parâmetros não apresentaram diferença significativa relacionada ao sexo. Entretanto, a média da contagem plaquetária foi significativamente maior no grupo feminino. Resultados semelhantes foram encontrados por Bain (1985), BUCKLEY *et al.* (2000) e Butkiewicz et al. (2006) que sugeriram que esse aumento se deve provavelmente a um mecanismo compensatório associado com a perda menstrual.

Não houve diferença significativa em relação à idade neste grupo embora alguns estudos relatem aumento do VPM com a idade (De LUCA et al., 2009; IHARA et al., 2006). Este fato pode ser explicado pela faixa etária da população estudada que foi predominantemente entre 35 a 59 anos (85% da amostra).

Na avaliação do VPM, uma correlação inversamente proporcional à contagem plaquetária foi encontrada, o que já era descrito por vários autores (BAIN, 1985; BESSMAN et al.; 1985). Existe uma hipótese teórica que a produção plaquetária seja regulada para manter uma 'massa plaquetária' (produto da contagem plaquetária e o VPM) circulante constante (FROJMOVIC; MILTON, 1982;

THOMPSON; JAKUBOWSKI, 1988). No presente estudo, esse achado pode ser explicado pela metodologia de análise aplicada neste parâmetro, uma vez que nos equipamentos utilizados o VPM se relaciona a massa plaquetária, representada pelo plaquetócrito:

$$\text{VPM (fL)} = \frac{\text{plaquetócrito}}{\text{contagem plaquetária}}$$

Esta correlação não é observada nas trombocitopenias adquiridas, quando o VPM pode ajudar a distinguir duas formas: (1) Trombocitopenias por diminuição da produção plaquetária (leucemias agudas, anemia aplástica, quimio ou radioterapia) onde VPM mantém-se normal ou diminui. (2) Trombocitopenias por aumento da destruição periférica com megacariocitopoiese normal (púrpura auto-imune ou coagulação intravascular disseminada) onde o VPM aumenta; (KAITO et al, 2004). O aumento de VPM nas condições em que ocorre aumento do *turnover* plaquetário provavelmente é mediado pela ação de citocinas (IL 6 e 11 e trombopoetina), que atuam na ploidia do megacariócito levando à produção de plaquetas maiores (BUTTARELLO; PLEBANI, 2008).

Neste estudo foi encontrada uma relação direta do PDW com o VPM, o que é descrito em populações saudáveis (BUTTARELLO; PLEBANI, 2008). Esta relação se mantém nos pacientes com trombocitopenia por destruição periférica, em que ambos os parâmetros se encontram elevados, enquanto que nas trombocitopenias por deficiência de produção, o PDW aumenta e o VPM diminui (BUTTARELLO; PLEBANI, 2008; KAITO et al, 2004). A grande dispersão do volume plaquetário (PDW) depende do processo de produção plaquetária pela fragmentação do citoplasma do megacariócito (BUTTARELLO; PLEBANI, 2008).

Avaliando-se a distribuição dos parâmetros plaquetários na população estudada, obteve-se distribuição normal para os parâmetros de volume plaquetário - VPM, PDW, P-LCR, como é descrito para a maioria dos parâmetros laboratoriais. Além de avaliar essa distribuição e suas relações, conforme discutido anteriormente, foi determinado o IR desses parâmetros na população do ELSA-MG, seguindo as recomendações do CLSI (2008).

Valores dos parâmetros laboratoriais podem variar, entre outros fatores, de acordo com a constituição racial e étnica de uma população. Nesse sentido, a determinação de uma referência própria é importante, pois permite a comparação dos resultados de exames laboratoriais com valores obtidos de uma amostra representativa da população com características daquela que usa o serviço laboratorial (GUIDI; SALVAGNO; 2010). Entretanto, poucos laboratórios no mundo determinam seus IR (FERRÉ-MASFERRER et al., 1999; FRIEDBERG et al., 2007). O mais comum é a adoção de IR sugeridos pelos fabricantes nos manuais de instrução do conjunto diagnóstico com ou sem a validação apropriada. Para realizar esta validação, o CLSI (2008) preconiza testar 20 indivíduos selecionados, considerados saudáveis. Caso 10% destes testes forneçam resultados fora do IR referido, os valores sugeridos pelos fabricantes não poderão ser utilizados, devendo ser determinado o IR.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o PALC da SBPC/ML definem que os laboratórios clínicos devem informar os IR nos laudos dos exames, porém não definem a necessidade de que esse valores sejam uma referência própria da população atendida por esses serviços.

A questão que parece ser mais relevante é a dificuldade de se definir apropriadamente uma população referência (GROSSI et al., 2005). A utilização de população referência de conveniência como estudantes de medicina, doadores de sangue e população hospitalizada tem sido referida e criticada (SOLBERG; 1994; GROSSI et al, 2005). O uso de adultos jovens e super saudáveis como *padrão ouro* é rejeitado pelas recomendações da CLSI (2008). Na seleção do indivíduo referência é importante observar diferenças como raça, etnia, localização geográfica, idade, sexo, dieta, entre outras características que podem interferir nos resultados.

Outro aspecto importante diz respeito à seleção de um número significativo de indivíduos na amostra. Segundo as recomendações do CLSI (2008), um número apropriado seria de 120 indivíduos, o que não é muito fácil de obter em populações como recém-nascidos e idosos. Outras dificuldades, como diversidade étnica e prevalência de doenças, foram observadas em estudos na população Africana, em que a sorologia anti-HIV foi realizada como critério de exclusão para identificar indivíduos referência, na tentativa de se estabelecer IR local para parâmetros laboratoriais (KARITA et ali., 2009). Estudo semelhante em crianças da região do

Kilimanjaro, para estabelecer IR para parâmetros hematológicos e imunológicos, teve dificuldades para selecionar indivíduos referência, devido ao critério de exclusão de crianças soropositivas para HIV, a alta prevalência da infecção por esse patógeno nessa população (BUCHANAN et al, 2010).

Existem vários projetos que visam a determinação de IR para parâmetros laboratoriais. Dentre outros, destaca-se o *Nordic Reference Interval Project* (NORIP), que incluem cinco países do Norte da Europa, 102 laboratórios, mais de 3000 indivíduos referência e a análise de 25 parâmetros bioquímicos. Este estudo permitiu a determinação de IR para uma população geriátrica de homens e mulheres com mais de 70 anos (CARLSSON; LIND; LARSSON, 2010). O estudo *Canadian Laboratory Initiative on Pediatric Reference Intervals* (CALIPER), utilizando as recomendações da CLSI, estabeleceu IR de acordo com sexo e faixa etária, da população neonatal até adolescente e representativa da maioria dos grupos étnicos do Canadá (JUNG; ADELI, 2009).

Outro estudo é um projeto Italiano, denominado *REALAB Project*, que propõem um novo método para definição de IR, baseado em análise posterior dos resultados (GROSSI et al; 2005). Os critérios de inclusão de indivíduos referência, denominados *indivíduos sem doença*, foram baseados: (a) na presença de pelo menos uma análise prévia dos testes definidos como *testes básicos*; (b) apenas uma medida do teste pelo laboratório no período de 3 anos; (c) ausência de alteração nos testes correlacionados (GROSSI et al; 2005). Apesar de não ser essa a metodologia recomendada pela CLSI, ela parece ser útil na determinação de IR em grandes laboratórios.

Existem na literatura métodos estatísticos alternativos para avaliação do IR, um deles é estimar de forma indireta o IR usando médias de todos os resultados obtidos pelo laboratório processados matematicamente e estatisticamente (FERRÉ-MASFERRER et al, 1999). Outro processo baseia-se na análise retrospectiva de dados coletados pelos laboratórios como no método indireto de Hoffman descrito por Katayev et al (2010).

Os IR para VPM, PDW e P-LCR dos 173 indivíduos incluídos no presente estudo foram obtidos pelo método não paramétrico, calculados a partir dos percentis 2,5 e

97,5 (95% do intervalo de confiança). Na literatura, existem poucos trabalhos apresentando estudos que determinam IR dos parâmetros de volume plaquetário e na sua maioria utilizam equipamentos diferentes daqueles utilizados no presente estudo. A TAB. 10 apresenta os IR (percentis 2,5 e 97,5) descritos na literatura obtidos de diferentes populações e analisadores.

TABELA 10
Intervalos de referência para os parâmetros plaquetários, em amostras com EDTA, de diferentes estudos

Estudo	População		Tempo ¹	Equipamento utilizado	Intervalos de Referência		
	n	Origem			VPM (fL)	PDW	P-LCR %
ELSA-MG	173	Brasil	<2h	Sysmex XE-2100 ²	8,9 - 12,2	9,4 - 16,0	15,8 - 41,6
Brummitt e Barker (2000)	122	Reino Unido	<1h	ADVIA 120 ³	6,6 - 10,4	40,1 - 65,8	...
				Abx Pentra 120 ⁴	6,8 - 10,0
				Gen-S ⁵	7,6 - 10,7
Van den Bossche (2002)	308	Bélgica	<4h	SE-9500 ⁶	9,4 - 12,9
				CD-4000 ⁷	6,9 - 10,6
				ADVIA 120 ³	6,4 - 9,7
Sysmex Operator's Manual (2004)	Sysmex XE-2100 ²	9,4 - 12,4
Farias; Bo (2008)	227	Brasil	<2h	Abx Pentra 120 ⁴	6,5 - 9,5
Farias et al. (2010)	231	Brasil	<2h	Abx Pentra 120 ⁴	...	10,1 - 17,9	...

VPM: Volume plaquetário médio, PDW: distribuição da população plaquetária, P-LCR: percentual de macroplaquetas

Nota: ¹Tempo: intervalo entre a coleta e a análise da amostra, ²Sysmex XE-2100 (Sysmex, Kobe, Japão), ³ADVIA 120 (Bayer, Tarrytown, USA), ⁴Abx Pentra 120 (Abx, Montpellier, France), ⁵Gen-S (Coulter Electronics, Miami, USA), ⁶SE-9500 (Toa Medical Electronics Co, Kobe, Japan), ⁷Cell Dyn 4000 (Abbott Diagnostics, Santa Clara, USA)

O IR do VPM determinado neste estudo, apresenta limites próximos daquele indicado no manual de instruções do equipamento Sysmex XE-2100 e daqueles relatados por Van den Bossche et al. (2002), utilizando analisador SE-9500 (Toa

Medical Electronics Co, Kobe, Japão). Entretanto, diverge daqueles observados para outros equipamentos. Nos diferentes estudos, nota-se proximidade dos limites do IR para o VPM quando se utilizam analisadores do mesmo fabricante, como no caso do ADVIA 120 (Bayer, USA) (BRUMMITT; BARKER, 2000; VAN DEN BOSSCHE et al. 2002) e Abx Pentra 120 (Abx, Montpellier, França) (VAN DEN BOSSCHE et al., 2002; FARIAS; BÓ, 2008). Os analisadores Abx Pentra 120, ADVIA 120 e CD 4000 (Cell Dyn 4000, Abbott Diagnostics, Santa Clara, USA) apresentaram valores semelhantes. Estudos descrevendo IR para PDW são ainda mais escassos. O IR determinado nesse estudo são diferentes daqueles descritos por Farias et al. (2010) e Brummitt e Barker (2000). Essas variações podem se dever às características e número de indivíduos utilizados nos diversos estudos e, mais especialmente, aos diferentes métodos e analisadores empregados. Associam-se também os fatores pré-analíticos implicados na variabilidade dos resultados dos parâmetros de volume plaquetários, como tempo entre a coleta e análise, que variou entre os estudos de menos de 1 hora até 4 horas. Em todos os estudos descritos as amostras foram colhidas em EDTA. Não foram encontrados estudos relatando valores de referência para o P-LCR.

Estudos referentes aos parâmetros de volume plaquetário em diversas condições clínicas, são descritos há pelo menos 2 décadas. Apesar disso, permanecem sem resposta, questões relacionadas à metodologia e interferentes pré-analíticos descritos desde o início de seu uso. A aplicação clínica destes parâmetros pode ser limitada se estes fatores não forem padronizados. Desta forma, o presente estudo sugere uma padronização e um IR para os parâmetros de volume plaquetário, o que é pré-requisito para uma maior compreensão de seu uso na prática clínica. A inclusão desses parâmetros na linha de base do Projeto ELSA poderá contribuir para o próprio projeto, em seu componente longitudinal, e para novos estudos interessados em avaliar a utilidade clínica da medida do volume da plaqueta tanto como fator que contribui para prever doenças ou como indicador de prognóstico.

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados deste estudo, pode-se concluir que:

1. Os equipamentos hematológicos automatizados utilizados para a medição dos parâmetros de volume plaquetário apresentam excelente desempenho analítico e são comutáveis, podendo ser usados indistintamente na realização das medições.
2. A análise dos parâmetros de volume plaquetário, em amostras colhidas com EDTA, sofrem impacto do tempo; seus valores aumentam quanto maior o tempo de armazenamento. O tempo de análise depois da coleta deve ser padronizado.
3. A análise da distribuição dos valores dos parâmetros de volume plaquetário, na população avaliada, mostrou-se normal ou gaussiana e os intervalos de referência definidos foram: VPM (fL): 8,9 a 12,2; PDW: 9,4 a 16,0; e P-LCR: 15,8 a 41,6.
4. Os IR para os parâmetros de volume plaquetário determinados poderão ser utilizados no acompanhamento longitudinal da população estudada para avaliar sua possível correlação com eventos aterotrombóticos e seus fatores de risco ao longo do tempo.
5. A utilidade clínica dos parâmetros de volume plaquetário nas diversas doenças ou como marcador de risco para doenças crônicas precisa ser melhor definida, sendo a determinação de IR para estes parâmetros, descritos no presente estudo, um pré-requisito para esta definição.
6. A falta de padronização dos métodos de determinação dos parâmetros de volume plaquetário dificulta sua validação e aplicabilidade clínica.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O projeto ELSA tem como objetivo investigar o desenvolvimento de doenças crônicas do adulto, principalmente doenças cardiovasculares e diabetes. Ao realizar a análise de vários parâmetros em milhares de indivíduos, torna-se um marco na investigação epidemiológica brasileira e seus resultados poderão fornecer informações úteis para a definição de IR de nossa população. Vários aspectos do estudo permitem a elaboração de IR, entre eles destacam-se: 1) utiliza uma população com grande variabilidade de características importantes para a determinação dos parâmetros laboratoriais; 2) informações necessárias para se identificar os indivíduos referência podem ser extraídas dos questionários aplicados no Projeto; 3) reúne um conjunto de testes laboratoriais obtidos em condições pré-analíticas, analíticas e pós-analíticas padronizadas segundo critérios bem estabelecidos. Na determinação do IR estes dados são os mais trabalhosos e onerosos. Além disso a determinação dos IR dos parâmetros de volume plaquetário, realizada no presente estudo, poderá ser utilizado no acompanhamento longitudinal dessa população para avaliar o seu valor preditivo em eventos aterotrombóticos subseqüentes, bem como para sua progressão clínica.

REFERÊNCIAS

ALTEMEMI, W. F.; HAMED, M. B. Significance of Platelet Volume Indices in Patients with Coronary Artery Diseases. *Iraqi Journal of Medicine Science* v. 7, p. 76-81, 2009.

AYTEKIN, M.; EMERK, K. Accurate reference intervals are required for accurate diagnosis and monitoring of patients. *Journal of the International Federation of Clinical Chemistry* v. 19, p. 2, 2008.

BAIN, B. J. Platelet count and platelet size in males and females. *Scandinavian Journal of Haematology* v. 35, n. 1, p. 77-79, 1985.

BATH, P. M. W.; BUTTERWORTH, R. J. Platelet size: Measurement, physiology and vascular disease. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* v. 7, n. 2, p. 157-161, 1996.

BESSMAN, J. D. *et al.* Use of mean platelet volume improves detection of platelet disorders. *Blood Cells* v. 11, n. 1, p. 127-135, 1985.

BESSMAN, J. D. *et al.* Mean platelet volume - the inverse relation of platelet size and count in normal subjects, and an artifact of other particles. *American Journal of Clinical Pathology* , v. 76, n. 3, p. 289-293, 1981.

BESSMAN, J. D. *et al.* Platelet size in health and hematologic disease. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 78, n. 2, p. 150-153, 1982.

BEYAN, C. *et al.* Platelet count, mean platelet volume, platelet distribution width, and plateletcrit do not correlate with optical platelet aggregation responses in healthy volunteers. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* v. 22, n. 3, p. 161-164, 2006.

BOOS, C. J. *et al.* The effects of coronary artery disease severity on time-dependent changes in platelet activation indices in stored whole blood. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* v. 25, n. 2, p. 135-140, 2008.

BOOS, C. J.; BALAKRISHNAN, B.; LIP, G. Y. H. Assessment of mean platelet volume in coronary artery disease - What does it mean? *Thrombosis Research* v. 120, n. 1, p. 11-13, 2007.

BOZKURT, N. *et al.* The mean platelet volume in gestational diabetes. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, v. 22, n. 1, p. 51-54, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre regulamentação técnica para funcionamento de laboratórios clínicos. Resolução da Diretoria Colegiada-RDC 302:2005.

BRAY, P. F. Platelet hyperreactivity: Predictive and intrinsic properties. *Hematology-Oncology Clinics of North America* , v. 21, n. 4, p. 633-645, 2007.

BRUMMITT, D. R.; BARKER, H. F. The determination of a reference range for new platelet parameters produced by the Bayer ADVIA (TM) 120 full blood count analyser. *Clinical and Laboratory Haematology* , v. 22, n. 2, p. 103-107, 2000.

BUCHANAN, A. M. *et al.* Establishment of haematological and immunological reference values for healthy Tanzanian children in Kilimanjaro Region. *Tropical Medicine & International Health* , v. 15, n. 9, p. 1011-1021, 2010.

BUCKLEY, M. F. *et al.* A novel approach to the assessment of variations in the human platelet count. *Thrombosis and Haemostasis* , v. 83, n. 3, p. 480-484, 2000.

BUTKIEWICZ, A. M. *et al.* Platelet count, mean platelet volume and thrombocytopoietic indices in healthy women and men. *Thrombosis Research* , v. 118, n. 2, p. 199-204, 2006.

BUTTARELLO, M.; PLEBANI, M. Automated blood cell counts - State of the art. *American Journal of Clinical Pathology* , v. 130, n. 1, p. 104-116, 2008.

CARLSSON, L.; LIND, L.; LARSSON, A. Reference Values for 27 Clinical Chemistry Tests in 70-Year-Old Males and Females. *Gerontology* , v. 56, n. 3, p. 259-265, 2010.

CELIK, T. *et al.* Increased platelet activation in patients with slow coronary flow. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* , v. 29, n. 3, p. 310-315, 2010.

CHOU DHURY, A. *et al.* Platelet surface CD62P and CD63, mean platelet volume, and soluble/platelet P-selectin as indexes of platelet function in atrial fibrillation - A comparison of "healthy control subjects" and "disease control subjects" in sinus rhythm. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 49, n. 19, p. 1957-1964, 2007.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline- Third Edition. Document C28-A3, 2008.

COBAN, E.; ADANIR, H.; BILGIN, D. The association of mean platelet volume levels with hypertensive retinopathy. *Platelets* v. 19, p. 115-118, 2008.

COBAN, E.; AFACAN, B. The effect of rosuvastatin treatment on mean platelet volume in patients with uncontrolled primary dyslipidemia with hypolipidemic. *Platelets* v. 19, p. 111-114, 2008.

COPPINGER, J. A. *et al.* Characterization of the proteins released from activated platelets leads to localization of novel platelet proteins in human atherosclerotic lesions. *Blood* v. 103, n.6, p. 2096-2104, 2004.

DACIE, S. J. V.; LEWIS, S. M. *Investigation of haemostasis*. Tokio, 1995. (8 ed).

DASTJERD, M. S. *et al.* Mean platelet volume measurement, EDTA or citrate? *Hematology* , v. 11, n. 5-6, p. 317-319, 2006.

DE LUCA, G. *et al.* Mean platelet volume and the extent of coronary artery disease: Results from a large prospective study. *Atherosclerosis*, v. 206, n. 1, p. 292-297, 2009.

DEMIRTUNC, R. *et al.* The relationship between glycemic control and platelet activity in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*, v. 23, n. 2, p. 89-94, 2009.

DIAZ-RICART, M. *et al.* Preanalytical treatment of EDTA-anticoagulated blood to ensure stabilization of the mean platelet volume and component measured with the ADVIA counters. *Thrombosis Research*, v. 126, n. 1, p. E30-E35, Jul 2010.

DIQUATTRO, M. E. A. Relationships between platelet counts, platelet volumes and reticulated platelets in patients with ITP: evidence for significant platelet count inaccuracies with conventional instrument methods. *International Journal of Laboratory Hematology*, v. 31, p. 199-206, 2009.

ENDLER, G. *et al.* Mean platelet volume is an independent risk factor for myocardial infarction but not for coronary artery disease. *British Journal of Haematology*, v. 117, n. 2, p. 399-404, 2002.

ESTEVEZ-LOUREIRO, R. *et al.* Mean platelet volume predicts patency of the infarct-related artery before mechanical reperfusion and short-term mortality in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Thrombosis Research*, v. 124, n. 5, p. 536-540, 2009.

FARIAS, M. G.; BÓ, S. D. Determinação do intervalo de referência para o volume plaquetário médio (VPM) utilizando o analisador hematológico Pentra 120 ABX. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v. 40, n. 1, p. 39-41, 2008.

FARIAS, M. G. *et al.* Definition of reference ranges for the platelet distribution width (PDW): a local need. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, v. 48, p. 255-257, 2010.

FERRE-MASFERRER, M. *et al.* Indirect reference limits estimated from patients' results by three mathematical procedures. *Clinica Chimica Acta*, v. 279, n. 1-2, p. 97-105, 1999.

FRIEDBERG, R. C. *et al.* The origin of reference intervals - A college of American pathologists Q-probes study of "normal ranges" used in 163 clinical laboratories. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, v. 131, n. 3, p. 348-357, 2007.

FROJMOVIC, M. M.; MILTON, J. G. Human-platelet size, shape, and related functions in health and disease. *Physiological Reviews*, v. 62, n. 1, p. 185-261, 1982.

GREISENEGGER, S. *et al.* Is elevated mean platelet volume associated with a worse outcome in patients with acute ischemic cerebrovascular events? *Stroke*, v. 35, n. 7, p. 1688-1691, 2004.

GROSSI, E. *et al.* The REALAB project: A new method for the formulation of

reference intervals based on current data. *Clinical Chemistry*, v. 51, n. 7, p. 1232-1240, 2005.

GROTTO, H. Z. W.; NORONHA, J. F. A. Platelet larger cell ratio (P-LCR) in patients with dyslipidemia. *Clinical & Laboratory Haematology*, v. 26, n.5, p. 347-349, 2004.

GUIDI, G. C.; SALVAGNO, G. L. Reference intervals as a tool for total quality management. *Biochemia Medica*, v. 20, n. 2, p. 165-172, 2010.

GUTHIKONDA, S. *et al.* Role of reticulated platelets and platelet size heterogeneity on platelet activity after dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel in patients with stable coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 52, n. 9, p. 743-749, 2008.

HUCZEK, Z. *et al.* Baseline platelet size is increased in patients with acute coronary syndromes developing early stent thrombosis and predicts future residual platelet reactivity. A case-control study. *Thrombosis Research*, v. 125, n. 5, p. 406-412, 2010.

HUCZEK, Z. *et al.* The role of platelets in ST-segment elevation myocardial infarction. *American Journal of Cardiology*, v. 98, n. 10, p. 1417-1417, 2006.

HUCZEK, Z. *et al.* Mean platelet volume on admission predicts impaired reperfusion and long-term mortality in acute myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 46, n. 2, p. 284-290, 2005.

HUO, Y. Q.; LEY, K. F. Role of platelets in the development of atherosclerosis. *Trends in Cardiovascular Medicine*, v. 14, n. 1, p. 18-22, 2004.

IHARA, A. *et al.* Relationship between platelet indexes and coronary angiographic findings in patients with ischemic heart disease. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis*, v. 35, n. 5, p. 376-379, 2006.

IHARA, A. *et al.* Relationship between hemostatic factors and the platelet index in patients with ischemic heart disease. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis*, v. 35, n. 5, p. 388-391, 2006.

IMERI, F. *et al.* Stability of hematological analytes depends on the hematology analyser used: A stability study with Bayer Advia 120, Beckman Coulter LH 750 and Sysmex XE 2100. *Clinica Chimica Acta*, v. 397, n. 1-2, p. 68-71, Nov 2008.

INTERNACIONAL ORGANIZATION OF STANDARDIZATION (ISO). *Internacional Vocabulary of Basic and general terms in Metrology*. Geneve, Switzerland. 1993.

JACKSON, S. R.; CARTER, J. M. Platelet volume - laboratory measurement and clinical-application. *Blood Reviews*, v. 7, n. 2, p. 104-113, 1993.

JENNINGS, L. K. Role of Platelets in Atherothrombosis. *American Journal of Cardiology*, v. 103, n. 3A, p. 4A-10A, 2009.

JOHANNESSEN, B.; HAUGEN, T.; SCOTT, C. S. Standardisation of platelet counting accuracy in blood banks by reference to an automated immunoplatelet procedure: comparative evaluation of Cell-Dyn CD4000 impedance and optical platelet counts. *Transfusion and Apheresis Science*, v. 25, n. 2, p. 93-106, 2001.

JUNG, B.; ADELI, K. Clinical laboratory reference intervals in pediatrics: The CALIPER initiative. *Clinical Biochemistry*, v. 42, n. 16-17, p. 1589-1595, 2009.

KAITO, K. *et al.* Platelet size deviation width, platelet large cell ratio, and mean platelet volume have sufficient sensitivity and specificity in the diagnosis of immune thrombocytopenia. *British Journal of Haematology*, v. 128, n. 5, p. 698-702, 2005.

KARITA, E. *et al.* CLSI-Derived Hematology and Biochemistry Reference Intervals for Healthy Adults in Eastern and Southern Africa. *Plos One*, v. 4, n. 2, 2009.

KARPATKIN, S. Heterogeneity of human platelets correlation of platelet-function with platelet volume. *Blood*, v. 51, n. 2, p. 307-316, 1978.

KATAYEV, A. Estimating Reference Intervals. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 134, n. 2, p. 351-351, 2010.

KATAYEV, A.; BALCIZA, C.; SECCOMBE, D. W. Establishing Reference Intervals for Clinical Laboratory Test Results Is There a Better Way? *American Journal of Clinical Pathology*, v. 133, n. 2, p. 180-186, 2010.

KAYA, M. G. *et al.* Platelet activation and inflammatory response in patients with non-dipper hypertension. *Atherosclerosis*, v. 209, n. 1, p. 278-282, 2010.

KHANDEKAR, M. M. *et al.* Platelet volume indices in patients with coronary artery disease and acute myocardial infarction: an Indian scenario. *Journal of Clinical Pathology*, v. 59, n. 2, p. 146-149, 2006.

KLEE, G. A conceptual model for establishing tolerance limits for analytic bias and imprecision based on variations in population test distributions. *Clinica Chimica Acta*, v. 260, n. 2, p. 175-188, 1997.

LAFFAN, M. A.; BRADSHAW, A. E. Investigation of haemostasis. In: DACIE, J. V.; LEWIS, S. M. (Ed.). *Practical Haematology*, Cap.16. p. 297-316, 1995.

LINDEN, M. D.; JACKSON, D. E. Platelets: Pleiotropic roles in atherogenesis and atherothrombosis. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v. 42, n. 11, p. 1762-1766, 2010.

LIPPI, G. *et al.* Increased Mean Platelet Volume in Patients with Acute Coronary Syndromes. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, v. 133, n. 9, p. 1441-1443, 2009.

MADEN, O. *et al.* Relationship of admission haematological indices with infarct-related artery patency in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary angioplasty. *Coronary Artery Disease*, v. 18, p. 639-

644, 2007.

MAY, A. E. *et al.* Platelets: Inflammatory firebugs of vascular walls. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, v. 28, n. 3, p. S5-S10, 2008.

MCCABE, D. J. H. *et al.* Circulating reticulated platelets in the early and late phases after ischaemic stroke and transient ischaemic attack. *British Journal of Haematology*, v. 126, n. 6, p. 861-869, 2004.

MICHELSON, A. D. Methods for the Measurement of Platelet Function. *American Journal of Cardiology*, v. 103, n. 3A, p. 20A-26A, 2009.

MILLER, W. G. The role of proficiency testing in achieving standardization and harmonization between laboratories. *Clinical Biochemistry*, v. 42, n. 4-5, p. 232-235, 2009.

MILLER, W. G. *et al.* Why commutability matters. *Clinical Chemistry*, v. 52, n. 4, p. 553-554, 2006.

MUSCARI, A. *et al.* Mean platelet volume (MPV) increase during acute non-lacunar ischemic strokes. *Thrombosis Research*, v. 123, n. 4, p. 587-591, 2009.

NCCLS. User Demonstration of Performance for Precision and Accuracy; Approved Guideline. Document EP15-A. 2001.

NCCLS. Assessment of Laboratory Tests When Proficiency Testing is Not Available; Approved Guideline. NCCLS document G29-A. 2002a.

NCCLS. Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline. Documente EP9-A2. 2002b.

OSSELAER, J. C.; JAMART, J.; SCHEIFF, J. M. Platelet distribution width for differential diagnosis of thrombocytosis. *Clinical Chemistry*, v. 43, n. 6, p. 1072-1076, 1997.

PAPANAS, N. E. A. Mean platelet volume in patients with type 2 diabetes mellitus. *Platelets*, v. 15, p. 475-478, 2004.

PETERSEN, P. H.; FRASER, C. G. Strategies to set global analytical quality specifications in laboratory medicine: 10 years on from the Stockholm consensus conference. *Accreditation and Quality Assurance*, v. 15, n. 6, p. 323-330, 2010.

PETERSEN, P. H.; RUSTAD, P. Prerequisites for establishing common reference intervals. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, v. 64, n. 4, p. 285-291, 2004.

PIECADE, P. R. *et al.* Platelet aggregation test: application in the control of antiplatelet aggregation in the secondary prevention of stroke. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, v. 61, n. 3B, p. 764-767, 2003.

PIKIJA, S. *et al.* Higher mean platelet volume determined shortly after the symptom onset in acute ischemic stroke patients is associated with a larger infarct volume on CT brain scans and with worse clinical outcome. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, v. 111, n. 7, p. 568-573, 2009.

PROGRAMA DE ACREDITAÇÃO PARA LABORATÓRIOS CLÍNICOS (PALC). disponível em: < www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320101013112151.pdf.> Acesso em 12 dez 2010.

REJ, R. Accurate enzyme-activity measurements - 2 decades of development in the commutability of enzyme quality-control materials. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, v. 117, n. 4, p. 352-364, 1993.

RICOS, C. *et al.* Procedure for studying commutability validated by biological variation. *Clinica Chimica Acta*, v. 268, n. 1-2, p. 73-83, 1997.

RUGGERI, Z. M. Platelets in atherothrombosis. *Nature Medicine*, v. 8, n. 11, p. 1227-1234, 2002.

RUSTAD, P. *et al.* The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for 25 common biochemical properties. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, v. 64, n. 4, p. 271-283, 2004.

SCIACOVELLI, L. *et al.* The role of the External Quality Assessment. *Biochimica Medica*, v. 20, n. 2, p. 160-164, 2010.

SEN, N. *et al.* Mean platelet volume in patients with coronary artery ectasia. *Medical Science Monitor*, v. 13, n. 8, p. CR356-CR359, 2007.

SEZER, M. *et al.* Association of haematological indices with the degree of microvascular injury in patients with acute anterior wall myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *Heart*, v. 93, n. 3, p. 313-318, 2007.

SHEN, J. E. A. Biomarkers of altered coagulation and fibrinolysis as measures of disease activity in active inflammatory bowel disease: A gender-stratified, cohort analysis. *Thrombosis Research*, v. 123, p. 604-611, 2009.

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA Y PATOLOGÍA MOLECULAR. Base de datos de Variación biológica: Disponível em : <[http://www.seqc.es/es/Sociedad/7/51/102/Base_de_datos_de_Variacion_biologica_|_Bases_de_datos_y_documentos_del_Comite_de_Garantia_de_la_Calidad_y_Acreditacion_|_Comite_de_Garantia_de_la_Calidad_y_Acreditacion_/](http://www.seqc.es/es/Sociedad/7/51/102/Base_de_datos_de_Variacion_biologica_|_Bases_de_datos_y_documentos_del_Comite_de_Garantia_de_la_Calidad_y_Acreditacion_|_Comite_de_Garantia_de_la_Calidad_y_Acreditacion_/>)>. Acesso em 10 fev 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica para coleta de Sangue Venoso. 2005.

SOLBERG, H. E. Using a Hospitalized Population to Establish Intervals: Pros and Cons. *Clinical Chemistry*, v. 40, n. 12, p. 2205-2206, 1994.

STEINHUBL, S. R. E. A. Platelets and Atherothrombosis: An Essential Role for Inflammation in Vascular Disease- A Review. *Internacional Journal of Angiology*, v. 14, p. 211-217, 2005.

SYSMEX *et al.* Operator's Manual- Automated Hematology analyser- XE-2100. 2004.

THOMPSON, C. B.; JAKUBOWSKI, J. A. The Pathophysiology and Clinical Relevance of Platelet Heterogeneity. *Journal of the American Society of Hematology*, v. 72, n. 1, p. 1-8, 1988.

THOMPSON, C. B. *et al.* Platelet size and age determine platelet-function independently. *Blood*, v. 63, n. 6, p. 1372-1375, 1984.

THOMPSON, C. B. *et al.* Platelet size does not correlate with platelet age. *Blood*, v. 62, n. 2, p. 487-494, 1983.

THREATTE, G. A. *et al.* Mean platelet volume - the need for a reference method. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 81, n. 6, p. 769-772, 1984.

VAN DEN BOSSCHE, J. *et al.* Reference intervals for a complete blood count determined on different automated haematology analysers: Abx Pentra 120 Retic, Coulter Gen-S, Sysmex SE 9500, Abbott Cell Dyn 4000 and Bayer Advia 120. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, v. 40, n. 1, p. 69-73, 2002.

VAN DER LOO, B.; MARTIN, J. F. A role for changes in platelet production in the cause of acute coronary syndromes. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, v. 19, n. 3, p. 672-679, 1999.

VAN DER LOO, B.; MARTIN, J. F. Megakaryocytes and platelets in vascular disease. *Baillieres Clinical Haematology*, v. 10, n. 1, p. 109-123, 1997.

VARGA-SZABO, D.; PLEINES, I.; NIESWANDT, B. Cell adhesion mechanisms in platelets. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, . v. 28, p. 403-412, 2008.

WATALA, C. *et al.* Possible mechanisms of the altered platelet volume distribution in type 2 diabetes: does increased platelet activation contribute to platelet size heterogeneity? *Platelets*, v. 10, n. 1, p. 52-60, 1999.

WENDLAND, E. A. *et al.* Mean platelet volume and cardiovascular disease. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 45, p.371-378, 2009.

WESTGARD, J. O. Internal quality control: planning and implementation strategies. *Annals of Clinical Biochemistry*, v. 40, p. 593-611, 2003.

WESTGARD, J. O. Best Practices for "Westgard Rules". v. Acesso em: 10 fev 2010: Disponível em :<<http://www.westgard.com/westgard-rules/>>, 2009a.

WESTGARD, J. O. MEDICAL DECISION LEVELS. 2009 Disponível em:

<<http://www.westgard.com/decision.htm/#hematology>>. Acesso em : 10 fev 2010.

WESTGARD, S. Sysmex XE 2100. Disponível em : <<http://www.westgard.com/qcapp41.htm>>. Acesso em : 10 jan 2011, 2007.

WYNN, R. F. *et al.* The effects of time from venipuncture and choice of anticoagulant on mean platelet volume estimations. *Clinical and Laboratory Haematology*, v. 17, n. 2, p. 173-176, 1995.

YANG, A.; PIZZULLI, L.; LUDERITZ, B. Mean platelet volume as marker of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty in patients with stable and unstable angina pectoris. *Thrombosis Research*, v. 117, n. 4, p. 371-377, 2006.

YAZICI, M. *et al.* Lifestyle modification decreases the mean platelet volume in prehypertensive patients. *Platelets*, v. 20, n. 1, p. 58-63, 2009.

YETKIN, E. *et al.* Mean platelet volume: Controversies in coronary artery disease and acute coronary syndrome. *Atherosclerosis*, v. 209, n. 2, p. 336-336, 2010.

YILMAZ, M. B. *et al.* Role of mean platelet volume in triagging acute coronary syndromes. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, v. 26, n. 1, p. 49-54, 2008.

YILMAZ, M. B. *et al.* Mean platelet volume and exercise stress test. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, v. 17, n. 2, p. 115-120, 2004.

ZUBERI, B. F.; AKHTAR, N.; AFSAR, S. Comparison of mean platelet volume in patients with diabetes mellitus, impaired fasting glucose and nondiabetic subjects. *Singapore Medical Journal*, v. 49, n. 2, p. 114-116, 2008.

APÊNDICE

PROJETO ELSA – ESTUDO LONGITUDINAL DE SAÚDE DO ADULTO: BREVE DESCRIÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA) é uma investigação multicêntrica que envolve seis instituições públicas de ensino e pesquisa do país – UFBA, UFES, UFMG, UFRGS, USP e FIOCRUZ, financiada pelo Ministério da Saúde, por meio do Departamento de Ciência e Tecnologia, e pelo Ministério de Ciência e Tecnologia, por meio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP). O estudo é coordenado por um Comitê Diretivo composto pelos coordenadores de cada Centro de Investigação (CI) e por representantes do DECIT/MS. Em cada instituição, sob a coordenação de um pesquisador principal do consórcio, serão nucleadas as atividades do ELSA. Os pesquisadores principais dessas instituições são pesquisadores do CNPq, cada um com Grupos e Linhas de Pesquisa consolidados. Para contribuir em aspectos específicos do projeto conta-se com a colaboração de pesquisadores estrangeiros com documentada experiência em pesquisas de escopo e métodos similares.

O consórcio multidisciplinar ELSA reúne cerca de 40 pesquisadores nacionais com a meta de implementar um estudo de coorte multicêntrico com 15 mil funcionários de instituições públicas de ensino superior, para investigar o desenvolvimento de doenças crônicas, principalmente doenças cardiovasculares e o diabetes.

As doenças crônicas já estão na agenda de prioridades da maioria dos países em desenvolvimento, onde elas lideram as causas de mortalidade e de morbidade por sua longa duração e conseqüências negativas para a qualidade de vida da população e para os serviços de saúde.

No Brasil, esse cenário está bem documentado por dados rotineiros de vigilância epidemiológica de doenças crônicas do Ministério da Saúde, mas desconhecemos a

incidência dessas doenças e seus fatores de risco por carência de estudos longitudinais em populações adultas que investiguem as mudanças em curso nas várias regiões brasileiras. Tais informações são essenciais para o desenvolvimento de programas preventivos dessas doenças e para a formulação de políticas públicas capazes de efetivamente sustar o curso de suas epidemias no país.

O caráter inovador do projeto ELSA merece ser destacado e sua potencial contribuição científica transcende o contexto brasileiro. A relevância das doenças crônicas na atualidade, em especial do diabetes e das doenças cardiovasculares, a pandemia da obesidade, e o reconhecimento de que as conseqüências dessas doenças serão mais avassaladoras nos países em desenvolvimento, tornam extremamente oportuna a iniciativa brasileira de gerar dados relevantes e aplicáveis aos países em desenvolvimento. Mesmo em termos de mundo desenvolvido, a potencial contribuição científica do Projeto ELSA é significativa, uma vez que possibilita estudar simultaneamente o desenvolvimento do diabetes e das doenças cardiovasculares empregando medidas de alto detalhamento e validade desses desfechos, em adultos com mais de 35 anos, em número adequado para estudar associações (novas e antigas) e descrever sua heterogeneidade sócio-econômica.

Além disso, destaca-se a natureza multidisciplinar do projeto, envolvendo os campos da epidemiologia, clínica médica (cardiologia, endocrinologia), oftalmologia, psiquiatria, fisiologia, medicina laboratorial, biologia molecular, imunologia, nutrição, engenharia, bioestatística, antropologia entre outros. Um estudo deste porte, com ampla medida de exposições e desfechos basais para acompanhamento futuro, torna-se um repositório excepcional de informações que poderão ser de utilidade para outras investigações sobre a saúde do adulto na pós-graduação brasileira. Soma-se a isso, que a estocagem de amostras biológicas permitirá a investigação de futuras hipóteses, não formuláveis com o conhecimento hoje disponível.

Para alcançar seus objetivos está prevista a constituição de uma equipe operacional em cada centro, com pelo menos 20 pessoas, envolvendo além da coordenação (Coordenador e vice-coordenador), Diretor de Projeto, Assistente de projeto, Gerente de dados, Supervisores, Entrevistadores, Técnicos de laboratório, Imaginologistas e Apoio administrativo. Além dessa equipe, funcionará durante todo o projeto uma equipe científica de pesquisadores, além de alunos de graduação e

pós-graduação. A produção de dados se dará através de entrevista face-a-face e a realização de diversos exames. Será necessária a estocagem de amostras de plasma/soro, leucócitos e urina. Também serão utilizadas bases de dados de saúde para o monitoramento de desfechos de saúde (morte, internação, afastamento do trabalho por motivo de doença). Além disso, serão armazenadas espécimes biológicas para investigações futuras.

2 DESENHO E POPULAÇÃO DO ESTUDO

O Projeto ELSA é um estudo de coorte composto por funcionários não terceirizados de instituições públicas de ensino superior e pesquisa. Para garantir a representação de diversidades étnicas, econômicas e sociais do país no projeto, serão empregadas técnicas de amostragem pertinentes.

Serão considerados elegíveis para a pesquisa funcionários não terceirizados com idade igual ou superior a 35 anos de cada uma das instituições públicas (Tab. 1). Não serão incluídos participantes grávidas, com diagnóstico de doença com prognóstico de sobrevida inferior a cinco anos, com dificuldade cognitiva para a entrevista, com afastamento prolongado por doença ou aqueles que mostrarem interesse em mudança de emprego nos próximos 2 anos. Ao permitir entrada de aposentados, não serão elegíveis aqueles com aposentadoria por doença ou residentes fora da área metropolitana em questão.

TABELA 1
Distribuição amostral do ELSA

MUNICÍPIO	INSTITUIÇÃO	AMOSTRA
São Paulo	USP	5000
Rio de Janeiro	FIOCRUZ	2000
Belo Horizonte	UFMG	3000
Vitória	UFES	1000
Porto Alegre	UFRGS/HCPA	2000
Salvador	UFBA	2000
Total		15000

Na UFMG, participarão do estudo 3000 servidores públicos, amostrados em função de sexo, faixa etária e categoria funcional (professores, servidores técnico-administrativos, servidores de apoio). Neste subprojeto, serão incluídos todos os 1294 adultos com idade igual ou superior a 55 anos, participantes do estudo ELSA no Centro de Investigação em Minas Gerais, na UFMG (TAB. 2). Na população ELSA-MG, temos escolaridade menor que 4 anos variando de 7a 18%, na faixa etária acima de 55 anos.

TABELA 2
Distribuição por sexo, faixa etária e categoria profissional dos participantes ELSA-MG

Sexo	Apoio				Técnico-Administrativo				Superior & Docente				TOTAL	
	M		F		M		F		M		F		P*	M**
	P*	M**	P*	M**	P*	M**	P*	M**	P*	M**	P*	M**		
35-44	220	213	359	213	180	128	403	128	503	85	556	85	2221	852
45-54	235	214	338	214	392	128	623	128	626	85	814	85	3028	854
55-64	149	214	202	214	342	128	372	128	808	86	788	86	2661	856
65-75	166	109	166	109	276	66	281	66	593	44	378	44	1860	438
Total	770	750	1065	750	1190	450	1679	450	2530	300	2536	300	9770	3000

*P - População total, **M - Meta de recrutamento

3 ENTREVISTAS E EXAMES EM TODOS OS PARTICIPANTES

No Centro de Investigação ELSA, o participante, após confirmação da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, será entrevistado e examinado de acordo com o protocolo do estudo.

Os sujeitos da pesquisa serão entrevistados e terão suas medidas aferidas por pessoas treinadas e certificadas segundo manuais do projeto; os exames serão realizados por profissionais de saúde treinados e certificados. Todos os procedimentos serão realizados segundo protocolos estabelecidos pelos pesquisadores e testados em estudo piloto.

3.1 Entrevista

Será realizada entrevista com utilização de questionário padronizado envolvendo os seguintes aspectos: idade, sexo, raça/etnia; história de migração, endereço e tempo de residência; história educacional e ocupacional; renda familiar, posse de bens materiais; características e composição do domicílio e da família; religião de criação e adoção; história conjugal e reprodutiva; escolaridade e ocupação dos pais; rede e apoio social; qualidade de vida; condições de vida na infância; experiências de discriminação; características comunitárias – por exemplo, violência, coesão e capital social; escala demanda-controle trabalho; escala esforço-recompensa trabalho; padrões de dieta; consumo de álcool e tabaco; atividade física no trabalho e no lazer; história de peso corporal; auto-percepção de saúde; relato de morbidade diagnosticada por médico história familiar, principalmente condições/fatores de risco cardiovasculares; internações, acidentes de trabalho e de trânsito, vitimização; morbidade e uso de medicamentos atual e recente; transtornos mentais comuns; distúrbios do sono; plano de saúde; uso de serviços de saúde; práticas preventivas e de detecção precoce de doenças; informações para contato para facilitar acompanhamento futuro.

3.2 Medidas antropométricas e exames

- *Antropometria:* Serão obtidas as medidas de peso, estatura, circunferências do abdômen e quadril.
- *Medida da pressão arterial:* A pressão arterial será medida de forma padronizada com o participante em repouso, sentado há pelo menos cinco minutos e em ambiente adequado. A medida será feita no braço não dominante usando-se aparelho automático validado.
- *Medida do índice tornozelo braquial:* O desenvolvimento de placas ateroscleróticas na aorta abdominal e, principalmente, em artérias ilíacas e seus ramos, é a causa básica da claudicação intermitente. A detecção precoce de obstrução pode ser feita pela medida do índice tornozelo-braquial

que consiste na medida da pressão arterial nas artérias braquial e tibial usando-se aparelho Doppler.

- *Exames laboratoriais:* A primeira coleta de sangue será feita em jejum de 12 horas, imediatamente após a chegada do indivíduo no Centro de Investigação. Após essa primeira coleta, os indivíduos deverão ingerir uma solução de glicose com 75g e permanecer em jejum até completar o teste padronizado de tolerância à glicose (TTG), duas horas após, quando será obtida nova amostra de sangue.

A coleta será feita a vácuo em volume total de 80 ml de sangue. Destina-se à realização de exames hematimétricos e bioquímicos iniciais, bem como à aquisição de alíquotas de soro e leucócitos para estocagem e extração e armazenamento de DNA.

As dosagens iniciais previstas são consideradas relevantes para os participantes e para o alcance dos objetivos principais do projeto, incluindo hemograma, exames diagnósticos para diabetes (p. exemplo, glicose em jejum, teste de tolerância à glicose e hemoglobina glicada), creatinina, dosagem de lipídios, hormônios associados ao diabetes ou à doença cardiovascular e provas de atividade inflamatória. Esses exames permitem determinar presença de anemia, diabetes, insuficiência renal, dislipidemia, resistência à insulina e inflamação subclínica. Será coletada uma amostra de urina de forma padronizada para determinação de microalbumina, creatinina e sódio, marcadores de lesão glomerular, função renal e ingestão de sal, respectivamente, bem como aquisição de alíquotas para estocagem.

Exames adicionais em amostras estocadas serão feitos num segundo momento do projeto ou no futuro, quando os desfechos mais importantes já tiverem ocorrido. Isso permitirá a investigação de fatores de risco novos e sua relação com desfechos como diabetes e doenças cardiovasculares, um dos objetivos centrais do ELSA. Outras determinações como catabólitos do metabolismo adrenérgico e do eixo hipotálomo-hipófise-adrenal poderão ser realizadas em subamostras.

O banco de DNA, por sua vez, permitirá determinar a presença de polimorfismos gênicos associados a doenças de natureza familiar (hipertensão, diabetes, aterosclerose coronária, demências, certos tipos de câncer) ou ainda, a partir do conhecimento de desfechos, a busca de

marcadores genéticos que possam ter importância no futuro dentro da área de aconselhamento genético.

- *Eletrocardiograma:* Todos os indivíduos serão submetidos a dois registros do eletrocardiograma: o primeiro, será o traçado convencional de 12 derivações; o segundo, consistirá em registro em derivação única (D2) de longa duração (10 min) visando obter análise espectral da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência. Pelo eletrocardiograma convencional será possível determinar alterações do ritmo cardíaco, presença de distúrbios de condução nas diferentes regiões do coração e da ativação e repolarização ventriculares, alterações estas freqüentemente associadas com a doença coronariana. A análise espectral, por sua vez, tem sido ferramenta crescentemente utilizada na determinação da modulação autonômica sobre a descarga espontânea do nódulo sinusal.
- *Ultrassonografia:* Exames de ultra-som serão realizados nas artérias carótidas e no abdômen. Nas carótidas serão determinadas as espessuras das camadas íntima e média, para diagnóstico e prognóstico de evolução da aterosclerose nestes vasos e no restante da circulação cerebral. Crescimento da camada média indica elevada atividade de proliferação de músculo liso vascular, determinando formação de placas. No abdômen será feito o ultra-som do fígado para determinação do índice de esteatose, fator esse que está associado com o desenvolvimento do diabetes e da doença cardiovascular.
- *Ecocardiograma:* O ecocardiograma permite a visualização simultânea da estrutura e funcionamento mecânico do coração, com levantamento de vários índices de função sistólica e diastólica das câmaras cardíacas, notadamente do ventrículo esquerdo.
- *Retinografia:* A retina é o único local do nosso corpo onde os vasos sanguíneos podem ser diretamente visualizados. Dessa forma, o registro do estado do fundo do olho revela o estado atual dos vasos sanguíneos de pequeno calibre do indivíduo. O confronto das informações obtidas na retinografia com os outros exames que também estão relacionados a alterações na microvasculatura (microalbuminúria, Doppler tecidual no coração, espessura íntima-média de carótidas, diabetes e hiperglicemias intermediárias) fornecerá um conjunto de grande utilidade no acompanhamento da evolução da aterosclerose.

- *Velocidade de onda de pulso:* O trabalho cardíaco depende da quantidade de sangue ejetado para o sistema arterial e da impedância da árvore circulatória. Classicamente tem-se considerado que grande parte desta é representada pela resistência arteriolar. As grandes artérias, como são vasos de elevada elasticidade, têm impedância variável durante o ciclo cardíaco, dilatando-se na sístole e voltando à sua posição de repouso durante a diástole. Mais recentemente tem-se verificado que a impedância do sistema arterial pode variar não só com as modificações estruturais das grandes artérias, mas também com a velocidade das ondas de reflexão que se originam na microcirculação e que se propagam de volta para a aorta. Dessa forma, a impedância das grandes artérias representa componente não desprezível da resistência imposta pela circulação ao trabalho cardíaco. A rigidez dos vasos arteriais pode ser calculada indiretamente pela medida da velocidade de propagação da onda de pulso. No participante deitado são medidas ao mesmo tempo as ondas de pulso nas artérias carótida e femoral. Conhecendo-se a distância entre esses dois vasos, pode calcular a velocidade de onda de pulso pela relação espaço/tempo. O tempo é medido pela defasagem temporal entre as fases de subida da onda de pulso nos dois vasos arteriais. É um método não-invasivo e de fácil obtenção.

3.3 Entrevistas de seguimento e identificação, investigação e classificação de desfechos.

Visando a avaliação dos desfechos incidentes, após o estudo basal, os participantes serão monitorados anualmente por telefone, e-mail ou correspondência, bem como, a partir de avaliações mais detalhadas nos Centros de Investigação ELSA, que deverão ocorrer a cada três anos.

Também serão desenvolvidas ações semestrais de monitoramento passivo (contatos telefônicos, revisão de prontuários médicos, acesso aos registros institucionais de licenças médicas e métodos de relacionamento probabilístico com bancos de dados mantidos pelo DATASUS, como o subsistema de mortalidade e de hospitalizações na rede pública).

ANEXOS

Anexo A - Resumos apresentados em eventos

EVENTO: XVIII SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

TRABALHO: 9286 - Estabilidade do volume plaquetário médio (VPM) em amostras de sangue anticoaguladas com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA): impacto do tempo entre a coleta e a realização do ensaio

Situação: **APROVADO**

Autor

Tipo:	Nome:	Curso/Unidade:
Professor	PEDRO GUATIMOSIM VIDIGAL	Faculdade de Medicina
Inscrição UFMG:	Bolsa:	e-mail:
139947	OUTROS	pedrovidigal@ufmg.br
Telefone:		
34099774		

Coordenador/Orientador

Nome:	Unidade/Departamento:
PEDRO GUATIMOSIM VIDIGAL	Faculdade de Medicina/
e-mail:	Telefone:
pedrovidigal@ufmg.br	34099774
Inscrição:	
139947	

Co-autores

Nome	Curso	Tipo	Bolsa
CHAMS BICALHO MALUF	PATOLOGIA/M	Aluno	OUTROS
INDIAYARA OLIVEIRA SILVA	Biomedicina/ UNIFENAS	Externo	FAPEMIG
PAULO HENRIQUE ORLANDI MOURÃO	Hospital das Clínicas	Funcionário	OUTROS
HOSANGELA FAIUMA DI LORENZO PIRES	Hospital das Clínicas	Funcionário	OUTROS

Dados do Trabalho

Título :	Código :
Estabilidade do volume plaquetário médio (VPM) em amostras de sangue anticoaguladas com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA): impacto do tempo entre a coleta e a realização do ensaio	9286

Área :
Ciências da Saúde

Resumo:

Introdução: Há evidências que indicam o volume plaquetário médio (VPM) como uma importante variável biológica e que valores aumentados – macroplaquetas, tenham um alto potencial trombótico. O VPM elevado parece ser um fator de risco para infarto agudo do miocárdio e estar associado com pior prognóstico no acidente vascular cerebral. A avaliação laboratorial das plaquetas é feita em analisadores hematológicos automatizados quando da realização do hemograma, através da sua contagem, determinação do VPM, da distribuição da população de plaquetas (PDW) e da porcentagem de macroplaquetas (P-LCR%). Estudos têm mostrado que fatores pré-analíticos, como tipo de amostra biológica, tempo e temperatura de armazenamento, anticoagulante usado, e o método de análise tenham impacto significativo no VPM, provavelmente pelo “inchaço” das plaquetas na presença de EDTA. Esta variação pode inviabilizar a utilização do VPM para a detecção de macroplaquetas, uma vez que na rotina laboratorial é comum amostras de sangue serem analisadas após 2 horas da coleta. Objetivos: Esse estudo visou comparar o valor inicial do VPM com o valor após seis horas da coleta de sangue em condições rotineiras. Metodologia: Em nosso estudo avaliamos a variação do VPM, determinado nas condições habituais da rotina em um laboratório clínico, como: tipo de amostra: sangue total; anticoagulante: EDTA; temperatura de armazenamento (20 - 25oC) e tempo de armazenamento: 1 e 6h após coleta, em analisador hematológico SYSMEX XC 2100 D. Resultados: a média do VPM no grupo após 6 h da coleta foi 0,35 fl (3,2%) maior que no grupo analisado 1 h após coleta, o que é estatisticamente significativo (p<0,001). Conclusões: Essa variação de 0,35 fl pode não ser clinicamente significativa quando se avalia a presença de macroplaquetas. Estudo com um maior número de amostras se faz necessário para confirmar esses achados e estabelecer o real impacto do tempo de coleta na determinação do VPM.

Palavras-chave:

macroplaquetas; volume plaquetário médio; fatores pré-analíticos; risco cardiovascular.

Instituições financiadoras/parceiras :

FAPEMIG, FINEP, CNPq.

Situação:

Aprovado

Portal UFMG Conhecimento e Cultura

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



XII ENCONTRO DE EXTENSÃO

[Trocar de evento](#)

Principal

Consulta de trabalhos

- [Consultar Todos](#)
- [Consultar por Unidade](#)
- [Consultar por Bolsa](#)
- [Trabalhos Premiados](#)

Comissões Avaliadoras

- [Consultar Todas](#)

- Autor

Tipo: Professor
Nome: PEDRO GUATIMOSIM VIDIGAL

Curso: Faculdade de Medicina

Inscrição UFMG: 139947
Bolsa: INSTITUCIONAL

E-Mail:
Telefone: 34099774

Coordenador/Orientador

Nome: PEDRO GUATIMOSIM VIDIGAL

Unidade: Faculdade de Medicina

Inscrição UFMG: 139947
E-Mail: pedrovidigal@ufmg.br

Telefone: 34099774

Co-Autores

Nome: CHAMS BICALHO MALUF
Curso: PATOLOGIA/M
Tipo: Aluno
Bolsa: INSTITUCIONAL

Nome: ROSANGELA FATIMA DI LORENZO PIRES
Curso: Hospital das Clínicas
Tipo: Funcionário
Bolsa: INSTITUCIONAL

Nome: INDIAYARA OLIVEIRA SILVA
Curso: BIOMEDICINA/UNIFENAS Externo
Tipo: Externo
Bolsa: FAPEMIG

Dados do Trabalho

Título: AVALIAÇÃO DA CONCORDÂNCIA DE RESULTADOS DE HEMOGRAMA ENTRE CONTADORES AUTOMÁTICOS DE HEMATOLOGIA DO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS - UFMG

Área: Saúde

Resumo:

Avaliar a comutabilidade de equipamentos é um importante processo da gestão da qualidade do laboratório clínico e visa garantir a comparabilidade de resultados de exames de um mesmo paciente quando realizados em diferentes equipamentos. O presente estudo visou comparar os resultados de exames hematológicos realizados em dois equipamentos SYSMEX XE 2100 D do laboratório do Hospital das Clínicas da UFMG (HC-UFMG), localizados em locais distintos: um no setor de hematologia (1º. Andar do prédio da Faculdade de Medicina) e outro no setor de urgência (3º. Andar do prédio do HC-UFMG). As amostras foram selecionadas visando obter valores na faixa de referência, valores baixos e valores elevados. Foram selecionadas 24 amostras, sendo 6 amostras por dia, durante 4 dias, processadas em duplicata nos 2 aparelhos, utilizando módulo fechado, totalizando 48 replicatas em cada instrumento. Foi avaliada a correlação entre os resultados dos parâmetros hematológicos: global de leucócitos - WBC, hemácias - RBC, hemoglobina - HGB, hematócrito - HCT, volume corpuscular médio - MCV, hemoglobina corpuscular média - MCH, concentração corpuscular média de hemoglobina - MCHC, red cell distribution width - RDW, plaqueta - PLT, volume plaquetário médio ? MPV, bem como estimados os erros sistemáticos (bias) e erros totais, considerando as especificações oriundas da variação biológica como limite máximo aceitável. A correlação entre dois equipamentos foi ótima para todos os parâmetros investigados, com exceção do CHCM. O bias médio e o erro total obtido para todos os parâmetros foram inferiores a especificação definida. Esse comparativo demonstrou que os resultados de exames hematológicos realizados nos dois equipamentos são equivalentes indicando a comutabilidade dos mesmos. Assim exames de pacientes realizados nos equipamentos são comparáveis, podendo ser utilizados indistintamente no acompanhamento desses pacientes. Essa situação é comum na rotina assistencial, pois o paciente atendido no pronto-atendimento do HC-UFMG tem seus exames hematológicos realizados no equipamento do setor de urgência do laboratório e, uma vez internado ou atendido no ambulatório, seus exames são realizados no equipamento do setor de hematologia.

Palavras-Chave:

controle de qualidade, comutabilidade, hemograma

Instituições:

Fapemig, Finep, CNPq

317

ESTABILIDADE DO VOLUME PLAQUETÁRIO MÉDIO (VPM) EM AMOSTRAS DE SANGUE TOTALMALUF, C. B. ; VIDIGAL, P. G. ; SILVA, I. O.
HCUFMG

Objetivos: Avaliar o impacto do tempo entre a coleta da amostra e a realização do teste na determinação do VPM. **Casuística e Métodos:** Foram utilizadas 22 amostras de sangue colhidas em EDTA, após jejum de 12 horas emantidas a temperatura ambiente. Duas determinações do VPM foram realizadas, 1 e 6 horas após a coleta, utilizando o equipamento SYSMEX XE 2100 D. Foram aplicados os testes de KolmogorovSmirnov, para avaliação da normalidade nas distribuições do VPM, e Teste *t* com amostras pareadas, para comparação das médias. **Resultados e Conclusão:** Os valores do VPM obtidos em ambas as determinações apresentaram distribuição normal ou Gaussiana. A média dos valores de VPM da primeira determinação (10,76 fL) foi significativamente menor (0,66 fL; IC: 0,54 a 0,78 fL) que a média da segunda determinação (11,42 fL) ($p < 0,001$). A diferença estatisticamente observada é também significativa do ponto de vista clínico especialmente se considerarmos que o coeficiente de variação desejável para o VPM, baseado na variação biológica, é de 2,2%, que é menor do que a variação encontrada. Existem evidências de que o volume plaquetário médio (VPM), como marcador da ativação plaquetária, possa identificar prospectivamente indivíduos com maior risco para doença vascular oclusiva (infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral e doenças arteriais periféricas). Entretanto, fatores préanalíticos, como tipo de amostra biológica, tempo e temperatura de armazenamento, anticoagulante usado e o método de análise têm impacto significativo no VPM, podendo limitar sua utilização na prática médica. O presente estudo demonstrou que o tempo entre a coleta e a realização do teste é uma variável préanalítica impactante que pode levar a resultados falsamente aumentados do VPM.

318

**VERIFICAÇÃO DA COMUTATIVIDADE DOS RESULTADOS DE CONTADORES
HEMATOLÓGICOS AUTOMÁTICOS DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO**

MALUF, C. B. ; SILVA, I. O.; PIRES, R. F. D. L. ; VIDIGAL, P. G.

HCUFGM

Objetivos: Comparar os resultados de hemogramas realizados em 3 equipamentos SYSMEX XE 2100 D, sendo dois no setor de hematologia e outro no setor de urgência de um laboratório de um hospital universitário. **Casística e Métodos:** 24 amostras foram processadas, sendo 6 amostras por dia, durante 4 dias, em duplicata, nos 3 aparelhos. Foram avaliadas as correlações entre os resultados de 10 parâmetros hematológicos e estimados os erros sistemáticos (bias) e totais, considerando especificações da qualidade baseadas na variação biológica. **Resultados e Conclusão:** As correlações entre o equipamento referência do setor de hematologia com o outro equipamento da mesma marca e modelo (back up) e com o equipamento do laboratório de urgência foram ótimas para todos os parâmetros investigados, com exceção do CHCM que apresentou $r=0,973$ e $r=0,936$, respectivamente (critério de aceitabilidade: $r > 0,975$). A comutatividade de equipamentos é um importante processo da gestão da qualidade do laboratório clínico e sua verificação visa garantir a comparabilidade dos resultados de exames quando uma mesma análise pode ser feita por meio de diferentes sistemas analíticos (métodos, equipamentos ou analistas). O bias médio e o erro total obtido para todos os 10 parâmetros atenderam as especificações desejáveis baseadas na variação biológica. Esse comparativo demonstrou que os resultados de hemogramas realizados nos 3 equipamentos são equivalentes assegurando a sua utilização indistintamente no acompanhamento de pacientes. No presente estudo foi utilizado procedimento de baixa complexidade, facilmente aplicado nos laboratórios clínicos para avaliação periódica da comutatividade dos resultados, que representa um dos requisitos da norma PALC da SBPC/ML.

Anexo B - Manuscrito submetido ao Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial

Avaliando a comutatividade: Requisito da qualidade pouco avaliado pelos laboratórios clínicos.

Understanding commutability: Quality requirement not always evaluated by clinical laboratories

Autores:

Chams Bicalho Maluf - Maluf CB

Programa de Pós-Graduação em Patologia – FM/UFMG

CPF 658.462.066-20

Rua Muzambinho, 330/602 30310-280

Indiyara Oliveira Silva – Oliveira-Silva, I

CPF 085.739.366-90

Rua Marcílio Dias, 236/202 CEP 30421-023

Pedro Guatimosim Vidigal – Vidigal PG

CPF 599.191.756-68

Departamento de propedêutica Complementar – FM/UFMG

Autor para correspondência:

Pedro Guatimosim Vidigal

Faculdade de Medicina – Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Av. Prof. Alfredo Balena, 190, Sala 403, Santa Efigênia

CEP: 301030-100. Belo Horizonte, MG. Brasil.

Tel: +55 31 3409-9774

Fax: +55 31 3409-9782

E-mail: pedrovidigal@ufmg.br

Resumo:

Introdução: Avaliar a comutatividade é um importante processo da gestão da qualidade do laboratório clínico e visa garantir a comparabilidade de resultados de exames realizados por diferentes sistemas. Poucos laboratórios no Brasil realizam essa avaliação, provavelmente por desconhecimento dos procedimentos para sua realização e também pela pouca importância dada a essa avaliação.

Objetivos: Avaliar a comutatividade dos resultados de exames hematológicos realizados em três analisadores automatizados em um laboratório de um hospital público universitário, em Belo Horizonte, MG, Brasil, propondo procedimento prático, de baixa complexidade, factível de ser utilizado em laboratórios clínicos.

Material e Método: As amostras foram selecionadas visando obter valores nos níveis de decisão terapêutica. Foram processadas 6 amostras por dia, durante 4 dias, em duplicata em três analisadores, totalizando 48 replicatas em cada instrumento. Foi avaliada a correlação entre os resultados de 10 dos principais parâmetros hematológicos obtidos nos instrumentos teste e aqueles obtidos com o instrumento referência. Foram estimados os erros sistemáticos e totais, considerando as especificações da variação biológica como limite máximo aceitável.

Resultados: O coeficiente de correlação (r) entre os equipamentos para os parâmetros investigados foi $> 0,975$. Os erros sistemático (médio) e total obtidos para os parâmetros analisados, quando se comparou os equipamentos teste com o referência, atenderam as especificações da qualidade definidos.

Conclusão: Utilizando procedimento padronizado internacionalmente, prático e de baixa complexidade, demonstrou-se que os exames realizados nos equipamentos avaliados são equivalentes, podendo ser utilizados indistintamente no acompanhamento de pacientes.

Palavras chave: Contagem de células sanguíneas, Técnicas e procedimentos de laboratório, Controle da qualidade, Acreditação, Gestão em saúde.

Abstract

Introduction: Evaluate the commutability is an important process of quality management of clinical laboratory to ensure the comparability of test results when performed by different systems, methods or equipment. However, few laboratories in Brazil perform this evaluation probably because of absence of knowledge of the necessary tools and procedures.

Objectives: The aim of this study was to evaluate the commutability of the results of hematological tests performed with three automated analyzers in a laboratory of a public university hospital in Belo Horizonte, MG, Brazil, with a practical, simple, and feasible procedure to use in clinical laboratories.

Material and Methods: Samples with hematologic values near the medical decision levels were selected. Six samples per day, during four days, were analyzed in duplicate in each instrument, with a total of 48 measurements. The correlation between the results of 10 hematologic parameters obtained with *test* instruments and the *reference* instrument were evaluated. Systematic and total errors were estimated and criteria for acceptable performance were based on the biological variation specifications.

Results: The correlation coefficient (r) between test instruments and reference instruments results was $> 0,975$. Systematic (average) and total errors were lower than allowable errors for all hematological parameters.

Conclusion: With a standardized, practical, and simple procedure, this study showed that tests results from the evaluated instruments were equivalent, indicating that those can be used indistinctly in monitoring of patients.

Key words: Blood cell count, Laboratory techniques and procedures, Quality control, Accreditation, Health management

Introdução:

O termo “Controle da Qualidade” introduzido nos laboratórios clínicos décadas atrás, se refere ao “controle estatístico da qualidade que é comumente usado nos laboratórios para monitorar a performance da rotina dos testes processados, detectando possíveis erros, e corrigindo problemas antes dos resultados serem liberados” (16). Os termos “Controle Interno” e “Controle Externo da Qualidade” referem-se aos programas usados para avaliar de forma contínua a qualidade analítica.(14)

Assim, com finalidade de garantir a efetividade dos processos analíticos e atendendo as expectativas e necessidade dos clientes e as conformidades legais, os laboratórios devem manter rotinas do Controle Interno da Qualidade, que permite a verificação da variabilidade das medições (precisão) e participar de Programas Externos de Controle da Qualidade, que permite monitorar a capacidade do método de apresentar resultados próximos do valor verdadeiro (exatidão) (6). Já os programas de acreditação de laboratórios clínicos têm entre seus principais objetivos, além de monitorar a qualidade, garantir a melhoria contínua dos serviços prestados pelos laboratórios clínicos.

Outra importante ação de controle da qualidade do laboratório clínico é a avaliação periódica da comutatividade que visa monitorar a equivalência de resultados de exames quando realizados em diferentes equipamentos ou sistemas analíticos. A análise da comutatividade, também deve ser incluída na validação de novos métodos, sistemas ou equipamentos, precedendo a implementação de seu uso na rotina. Assim, é possível verificar se o novo método, sistema ou equipamento atende às especificações da qualidade e se seus resultados são equivalentes ao método, sistema ou equipamento já em uso no laboratório clínico.

O termo comutabilidade foi inicialmente usado para definir a capacidade de se possuir propriedades interensaios comparáveis em materiais de referência, de calibração ou de controle, demonstradas por amostras clínicas autênticas, quando medidas por mais de um sistema analítico (12, 13). Documentos da Internacional Standardization Organization (ISO) expandiram este conceito, descrevendo comutabilidade como a equivalência das relações matemáticas entre os resultados de diferentes sistemas analíticos de medida, para um material de referência e para amostras representativas de indivíduos saudáveis ou doentes para um determinado analito (2,4). No glossário da versão 2007 da Norma do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica Medicina Laboratorial (SBPC/ML), comutatividade foi definida como a capacidade demonstrável estatisticamente ou de outra forma de que dois ou mais sistemas analíticos geram, para as mesmas amostras de pacientes, resultados clinicamente

equivalentes (9). Na versão 2010 da Norma PALC da SBPC/ML, este conceito passa a ser atribuído ao termo equivalência (10). Assim a nomenclatura comutatividade, comutabilidade (do inglês *commutability*) ou equivalência de sistemas analíticos parece não estar normalizada.

A exigência da avaliação da comutatividade nos requisitos de programas de acreditação, como o PALC da SBPC/ML, destaca a sua importância, muitas vezes negligenciada pelos laboratórios (9,10). Não existem dados disponíveis que permitam determinar o número de laboratórios que incluem a avaliação da comutatividade na gestão da qualidade. Considerando os 97 laboratórios acreditados pela norma PALC e o número de laboratórios clínicos atuantes no Brasil (aproximadamente 8.000), mesmo excluindo aqueles que não realizam exames por mais de um método, sistema ou equipamento, parece que a avaliação da comutatividade é pouco realizada (11). Possíveis explicações para a não realização dessa avaliação, inclui o desconhecimento da sua importância ou a pouca familiaridade com as ferramentas e procedimentos necessários para sua realização. Além disso, apesar do grande número de publicações que abordam o controle da qualidade no laboratório clínico, são escassas aquelas que estudam o tema da comutabilidade ou equivalência de resultados laboratoriais.

Este estudo visou avaliar a comutatividade dos resultados de exames hematológicos realizados em três analisadores automatizados em um laboratório de um hospital público universitário, em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, propondo procedimento internacionalmente padronizado, de baixa complexidade, factível de ser utilizado em laboratórios clínicos.

Material e Métodos

Foram utilizados três analisadores hematológicos automatizados disponíveis no Laboratório, marca Sysmex, modelo XE2100D (Kobe, Japão), disponíveis no Laboratório do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. No presente estudo os instrumentos foram assim denominados: Analisador Hematológico A (AHA), definido como instrumento referência, com o qual os demais, denominados Analisador Hematológico B (AHB) e Analisador Hematológico C (AHC), foram comparados (instrumentos teste). Todos os instrumentos possuem a mesma metodologia de medição e utilizam calibradores, controles e insumos do mesmo fabricante.

Seguindo as recomendações do documento EP9-A2 *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples*, proposto pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, foram analisadas 24 amostras de sangue periférico

coletadas em tubos contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (5). As amostras foram selecionadas visando obter valores próximos dos diferentes níveis de decisão terapêutica (17). Foram processadas seis amostras por dia, durante quatro dias, em duplicata nos três aparelhos, utilizando o modo fechado, totalizando 48 replicatas em cada instrumento. Foi avaliada a correlação entre os resultados dos parâmetros hematológicos: contagem total de leucócitos (LEU), contagem de hemácias (HEM), hemoglobina (HGB), hematócrito (HTC), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração corpuscular média de hemoglobina (CHCM), *red cell distribution width* (RDW), contagem de plaquetas (PLT), volume plaquetário médio (VPM).

A correlação entre os resultados obtidos com os equipamentos teste (AHB e AHC) e o referência (AHA) foi avaliada através de regressão linear e cálculo do coeficiente de correlação (r). O nível de correlação especificado no presente estudo foi 0,975.

Para que os resultados obtidos nos diferentes equipamentos sejam considerados equivalentes, a diferença entre os resultados (médias das duplicatas) dos instrumentos AHB e AHC (testes) e do instrumento AHA (referência) tem que ser próxima de zero. O *gráfico das diferenças* permite a inspeção visual dos dados, pois apresenta a diferença entre os resultados do equipamento teste menos os resultados obtidos com o equipamento referência (eixo y) versus os resultados do equipamento referência (eixo x). Essas diferenças (bias) devem estar dispersas em torno da linha de diferença zero entre o sistema teste e o referência. Para que sejam considerados comutáveis, os resultados do método teste não devem se desviar dos resultados do método referência mais do que o definido pelas especificações da qualidade analítica para o erro total. As especificações de imprecisão, bias e erro total utilizadas foram aquelas oriundas dos componentes da Variação Biológica conforme apresentado na TAB. 1 (15).

TABELA 1
Componentes da Variação Biológica e Especificações Desejáveis da Qualidade Analítica

Parâmetro	CVi	CVg	CVa	Bias (%)	Erro Total (%)
Leucócitos	10,9	19,6	5,5	5,6	14,6
Hemácias	3,2	6,1	1,6	1,7	4,4
Hemoglobina	2,8	6,6	1,4	1,8	4,1
Hematócrito	2,8	6,4	1,4	1,7	4,1
VCM	1,3	4,8	0,7	1,2	2,3
HCM	1,6	5,2	0,8	1,4	2,7
CHCM	1,7	2,8	0,9	0,8	2,2
RDW	3,5	5,7	1,8	1,7	4,6
Plaquetas	9,1	21,9	4,6	5,9	13,4
VPM	4,3	8,1	2,2	2,3	5,8

CVi: Variação biológica intra individual; CVg: Variação biológica intragrupo; CVa: coeficiente de variação analítica; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração corpuscular média de hemoglobina; RDW: *red cell distribution width*; VPM: volume plaquetário médio.

Fonte: *Sociedade Española de Bioquímica Clínica e Patologia Molecular*, 2010 (13)

A análise foi feita utilizando o programa Excel (Microsoft, 2003, EUA), seguindo as orientações do CLSI (5,6,7).

Resultados

As TAB. 2 e 3 apresentam a correlação dos resultados dos parâmetros hematológicos entre os analisadores AHB e AHC (teste) e o AHA (referência), respectivamente. São apresentados também os erros sistemáticos e totais encontrados e aqueles permitidos nesse estudo.

TABELA 2

Correlação dos resultados dos parâmetros hematológicos entre o analisador hematológico B (teste) e A (referência)

Parâmetros	Coefficiente Correlação (r)	Bias médio encontrado (%)	Bias Permitido (%)	Erro total encontrado (%)	Erro total permitido (%)
Leucócitos	0,999	3,08	5,60	6,81	14,60
Hemácias	1,000	2,32	1,70	3,85	4,40
Hemoglobina	1,000	0,90	1,80	3,53	4,10
Hematócrito	0,999	0,74	1,70	2,45	4,10
VCM	0,990	1,58	1,20	3,22	2,30
HCM	0,994	3,44	1,40	5,57	2,70
CHCM	0,936	1,75	0,80	3,97	2,20
RDW	1,000	1,09	1,70	2,53	4,60
Plaquetas	0,999	1,06	5,90	11,89	13,40
VPM	0,984	1,75	2,30	3,09	5,80

VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração corpuscular média de hemoglobina; RDW: *red cell distribution width*; VPM: volume plaquetário médio.

TABELA 3

Correlação dos resultados dos parâmetros hematológicos entre o analisador hematológico C (teste) e A (referência)

Parâmetros	Coefficiente Correlação (r)	Bias médio encontrado (%)	Bias Permitido (%)	Erro total encontrado (%)	Erro total permitido (%)
Leucócitos	0,999	4,37	5,60	12,37	14,60
Hemácias	1,000	2,60	1,70	4,53	4,40
Hemoglobina	1,000	1,21	1,80	3,14	4,10
Hematócrito	1,000	1,71	1,70	3,51	4,10
VCM	0,998	0,88	1,20	2,14	2,30
HCM	0,996	1,38	1,40	3,79	2,70
CHCM	0,973	0,47	0,80	2,52	2,20
RDW	0,999	0,15	1,70	0,96	4,60
Plaquetas	0,999	3,18	5,90	10,42	13,40
VPM	0,989	2,57	2,30	5,19	5,80

VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração corpuscular média de hemoglobina; RDW: *red cell distribution width*; VPM: volume plaquetário médio.

A FIG 1 apresenta os gráficos da diferença entre o instrumento AHB (teste) e o referência (AHA) para LEU, HGB, RDW e PLT, enquanto que na FIG 2 são apresentados os gráficos da diferença entre o instrumento AHC (teste) e o referência (AHA).

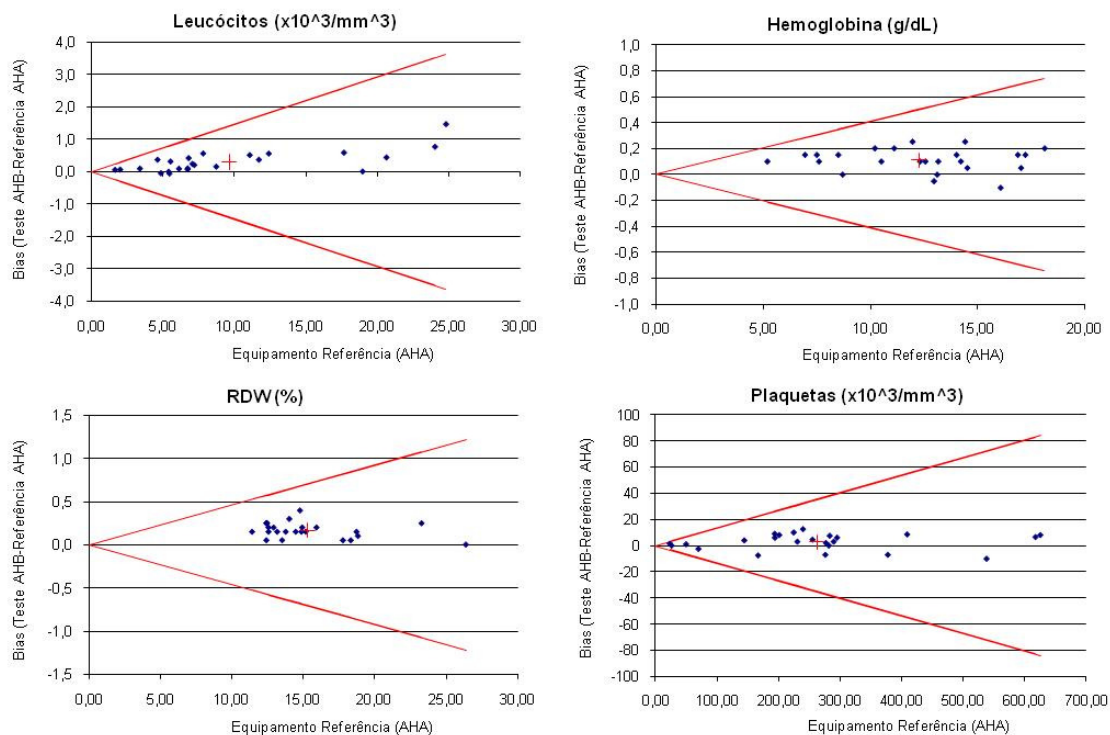


FIGURA 1 - Gráficos das diferenças de parâmetros hematológicos entre os analisadores hematológicos B (AHB) e A (AHA).

Nota: a linha < corresponde ao erro total permitido. O símbolo + corresponde ao bias médio.

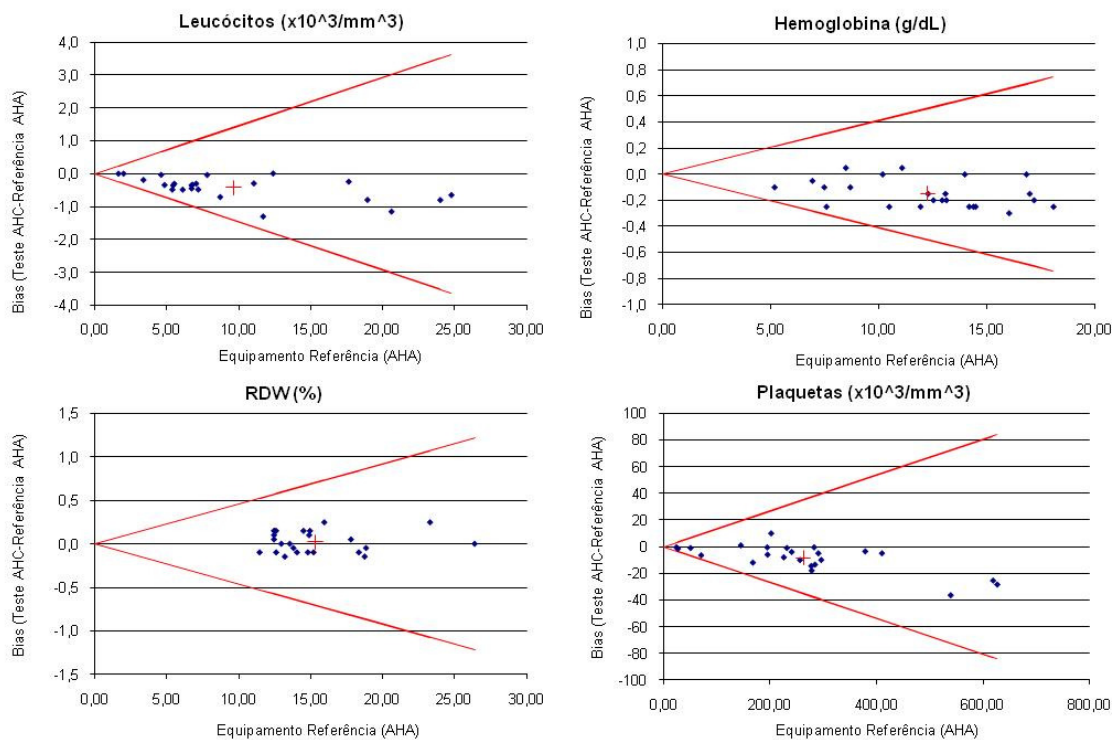


FIGURA 2 - Gráficos das diferenças de parâmetros hematológicos entre os analisadores hematológicos C (AHC) e A (AHA).

Nota: a linha < corresponde ao erro total permitido. O símbolo + corresponde ao bias médio.

Discussão

Na comutatividade, o objetivo é verificar se os resultados entre os diferentes sistemas analíticos são concordantes ou equivalentes, assim os resultados dos instrumentos testes não devem se desviar dos resultados do instrumento comparativo mais que os valores definidos pelo do controle da qualidade analítica para erro total, erro aleatório (precisão) e erro sistemático (bias ou exatidão). Os erros aleatório, sistemático e total aceitáveis de um sistema analítico podem ser especificados com base na variação biológica, que é definida como a flutuação fisiológica dos constituintes dos fluidos orgânicos em torno de seus pontos homeostáticos (13). Para diversos ensaios já existem especificações desses parâmetros que permitem avaliar o nível de desempenho de sistemas analíticos (3).

O modelo de utilização dos componentes da Variação Biológica para definir as especificações da qualidade analítica tem flexibilidade para se adaptar às tecnologias disponíveis e é recomendado por especialistas dedicados ao estudo da qualidade no laboratório clínico. Se for realizado o mesmo teste em vários indivíduos com intervalos de tempo entre as medições e se for aplicado procedimentos para minimizar os efeitos dos fatores pré-analíticos de variação, observa-se que a concentração dos analitos em cada indivíduo será diferente entre si.

Essa diferença de concentração é decorrente das variações analítica e biológica. Se então aplicar um procedimento que minimiza o efeito da variação analítica, conhecida através do controle interno da qualidade, permanece ainda uma diferença entre os resultados do mesmo indivíduo. Esta variação residual é denominada *Varição Biológica intra-individual*. Quando aplicado o mesmo procedimento em vários indivíduos, observa-se que a variabilidade da concentração dos analitos será diferente entre si. Essa diferença entre indivíduos é denominada *Varição Biológica interindividual ou intragrupo* (1).

Os componentes da Variação Biológica podem ser utilizados para vários propósitos, destacando-se, (1) estabelecimento das especificações da qualidade; (2) avaliação do significado de mudanças na concentração de resultados obtidos seriadamente; (3) avaliação da utilidade dos valores de referência populacionais; (4) escolha do melhor modelo para reportar os resultados; (5) comparação de sistemas analíticos; (6) avaliação da utilidade clínica dos testes de laboratório (8).

O analisador hematológico AHA (instrumento referência) apresentou excelente desempenho de acordo com a análise dos dados dos Programas de Controle da Qualidade do laboratório – Proficiência em Ensaios laboratoriais (PELM) da SBPC/ML e Programa de Acreditação do *College of American Pathologists* (CAP). Ao avaliar equipamento da mesma marca e modelo (SYSMEX XE 2100 D), Westgard (18) relatou que o mesmo apresenta desempenho de classe internacional, considerando todos os parâmetros e em todos os níveis de decisão.

A correlação entre os equipamentos avaliados foi ótima para os parâmetros investigados, com exceção do CHCM, considerando os valores dos coeficientes de correlação encontrados que foram superiores a 0,975. O erro sistemático (bias médio) e o erro total obtidos para os parâmetros analisados, quando se comparou os equipamentos AHB e AHC com o AHA (referência), atenderam às especificações da qualidade definidos para o presente estudo. Considerando essas especificações, observamos que o bias médio e o erro total obtido para a maioria dos parâmetros foram inferiores às especificações desejáveis oriundas da variação biológica. Para VCM, HCM e CHCM foram atendidas as especificações mínimas; como esses são parâmetros calculados, dependentes, portanto, da relação com outros parâmetros, especificações menos restritiva podem ser utilizadas. Assim, exames realizados nos equipamentos descritos anteriormente são comparáveis, podendo ser utilizados indistintamente no acompanhamento de pacientes, em pesquisas clínicas, dentre outras situações, minimizando a interferência da variabilidade analítica nos resultados.

Laboratórios que realizam os mesmos exames com diferentes métodos, sistemas ou equipamentos devem realizar a verificação da comutatividade. Assim, as ações de controle da qualidade dos laboratórios clínicos devem contemplar a realização dessa avaliação, sua periodicidade e as especificações da qualidade analítica. O presente estudo, utilizando procedimento padronizado internacionalmente, prático e de baixa complexidade, avaliou a comutatividade ou equivalência dos resultados de exames hematológicos realizados em equipamentos em um laboratório público de um hospital universitário. Foi demonstrado a factibilidade de realização da avaliação da comutatividade dentre as ações da gestão da qualidade em laboratórios clínicos.

Referências

1. BASQUES, J.C. Especificações da Qualidade Analítica –Labtest.2005.
2. INTERNACIONAL ORGANIZATION OF STANDARDIZATION (ISO). Internacional Vocabulary of Basic and general terms in Metrology. Geneve, Switzerland. 1993.
3. KLEE, G. A conceptual model for establishing tolerance limits for analytic bias and imprecision based on variations in population test distributions. *Clin Chim Acta*, v. 260, n. 2, p. 175-188, 1997.
4. MILLER, W. G. The role of proficiency testing in achieving standardization and harmonization between laboratories. *Clin Biochem*, v. 42, n. 4-5, p. 232-235, 2009.
5. NCCLS. Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline.Documente EP9-A2. 2002.
6. NCCLS. User Demonstration of Performance for Precision and Accuracy; Approved Guideline.Document EP15-A. 2001.
7. NCCLS.. Assessment of Laboratory Tests When Proficiency Testing is Not Available; Approved Guideline. NCCLS document G29-A. 2002.
8. PETERSEN, P. H.; FRASER, C. G. Strategies to set global analytical quality specifications in laboratory medicine: 10 years on from the Stockholm consensus conference. *Accred Qual Assur*, v. 15, n. 6, p. 323-330, 2010.
9. PROGRAMA DE ACREDITAÇÃO PARA LABORATÓRIOS CLÍNICOS (PALC) 2007 disponível em: www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320070815172544.pdf. Acesso em: 12 dez 2010.
10. PROGRAMA DE ACREDITAÇÃO PARA LABORATÓRIOS CLÍNICOS (PALC) 2010 disponível em: www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320101013112151.pdf. Acesso em: 12 dez 2010.
11. PROGRAMA DE ACREDITAÇÃO PARA LABORATÓRIOS CLÍNICOS (PALC) 2010 disponível em:

- <http://www.sbpc.org.br/laboratorio.php>. Acesso em: 10 jan 2011.
12. REJ, R. Accurate enzyme-activity measurements - 2 decades of development in the commutability of enzyme quality-control materials. *Arch Pathol Lab Med*, v. 117, n. 4, p. 352-364, 1993.
 13. RICOS, C. *et al.* Procedure for studying commutability validated by biological variation. *Clin Chim Acta*, v. 268, n. 1-2, p. 73-83, 1997.
 14. SCIACOVELLI, L. *et al.* The role of the External Quality Assessment. *Biochem Med*, v. 20, n. 2, p. 160-164, 2010.
 15. SOCIEDAD ESPAÑOLA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA Y PATOLOGÍA MOLECULAR. Base de datos de Variación biológica: Disponible em: http://www.seqc.es/es/Sociedad/7/51/102/Base_de_datos_de_Variacion_biologica_Bases_de_datos_y_documentos_del_Comite_de_Garantia_de_la_Calidad_y_Acreditacion_Comite_de_Garantia_de_la_Calidad_y_Acreditacion_/. Acesso em 10 fev 2010.
 16. WESTGARD, J. O. Internal quality control: planning and implementation strategies. *Annals of Clinical Biochemistry*, v. 40, p. 593-611, 2003. ISSN 0004-5632. Disponible em: < <Go to ISI>://WOS:000186691900002 >.
 17. WESTGARD, J. O. Medical decision levels. 2009 Disponible em: <http://www.westgard.com/decision.htm/#hematology>. Acesso em: 10 fev 2010.
 18. WESTGARD, J. O. Sysmex XE 2100. 2007. Disponible em: <http://www.westgard.com/qcapp41.htm>. Acesso em: 10 jan 2011.

Anexo C - Ata da defesa de dissertação de mestrado



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409-9640
cpg@medicina.ufmg.br



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de **CHAMS BICALHO MALUF**, nº de registro 2009655677. Às quatorze horas do dia **03 de março de dois mil e onze**, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG, a Comissão Examinadora de defesa de dissertação, indicada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Patologia da UFMG, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: **"INTERVALO DE REFERÊNCIA PARA OS PARÂMETROS DE VOLUME PLAQUETÁRIO: ESTUDO LONGITUDINAL DE SAÚDE DO ADULTO (ELSA)-MG"**, requisito final para a obtenção do grau de Mestre em Patologia, pelo Programa de Pós-Graduação em Patologia da UFMG - Área de Concentração em Propedêutica Complementar. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Pedro Guatimosim Vidigal, após dar a conhecer aos presentes o teor das normas regulamentares do trabalho final passou a palavra à candidata para apresentação do seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata e do público para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Pedro Guatimosim Vidigal/Orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovada</u>
Profa. Sandhi Maria Barreto/Coorientadora	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovada</u>
Profa. Sandra Guerra Xavier	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovada</u>
Profa. Luciana de Gouvêa Viana	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovada</u>

Pelas indicações, a candidata foi considerada aprovada.

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 03 de março de 2011.

Prof. Pedro Guatimosim Vidigal Pedro Guatimosim Vidigal

Profa. Sandhi Maria Barreto Sandhi Maria Barreto

Profa. Sandra Guerra Xavier Sandra Guerra Xavier

Profa. Luciana de Gouvêa Viana Luciana de Gouvêa Viana

Prof. Wagner Luiz Tafuri (Coordenador) Wagner Luiz Tafuri

Prof. Wagner Luiz Tafuri
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Patologia
Faculdade de Medicina/UFMG

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do

CONFERE COM O ORIGINAL
Centro de Pós-Graduação