

CAROLINE MACIEL DA SILVA MARENDAZ SOUZA

**ELABORAÇÃO DE UM INTERVALO DE
REFERÊNCIA PARA IPF (FRAÇÃO DE
PLAQUETAS IMATURAS) UTILIZANDO
AMOSTRAS DE PACIENTES
AMBULATORIAIS DO HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO**

Rio de Janeiro
2022

CAROLINE MACIEL DA SILVA MARENDAZ SOUZA

**ELABORAÇÃO DE UM INTERVALO DE REFERÊNCIA PARA IPF
(FRAÇÃO DE PLAQUETAS IMATURAS) UTILIZANDO AMOSTRAS
DE PACIENTES AMBULATORIAIS DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
PEDRO ERNESTO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto Federal do Rio de Janeiro, como
requisito parcial para a obtenção do grau de
Bacharel em Farmácia.

Orientadores: Prof.^a M. Sc. Silvana Machareth
Santiago e Prof. Gustavo Carvalho de Castro.

Rio de Janeiro

2022

CIP - Catalogação na Publicação
Bibliotecária: Karina Barbosa dos Santos – CRB7 6212

S729e Souza, Caroline Maciel da Silva Marendaz
Elaboração de um intervalo de referência para IPF (Fração de Plaquetas Imaturas) utilizando amostras de pacientes ambulatoriais do Hospital Universitário Pedro Ernesto / Caroline Maciel da Silva Marendaz Souza - Rio de Janeiro, 2022.
45 f. :il.

Orientação: Silvana Machareth Santiago.
Coorientação: Gustavo Carvalho de Castro.
Trabalho de conclusão de curso (graduação), Bacharelado em Farmácia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Campus Realengo, 2022.

1. Intervalo de referência. 2. Fração de plaquetas imaturas. 3. Plaquetas. I. Santiago, Silvana Machareth , **orient.** II. Castro, Gustavo Carvalho de , **coorient.** III. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro. IV. Título

CDU 615

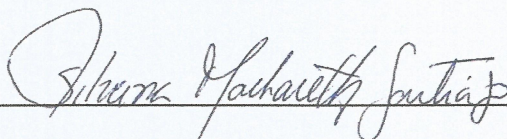
CAROLINE MACIEL DA SILVA MARENDAZ SOUZA

**ELABORAÇÃO DE UM INTERVALO DE REFERÊNCIA PARA IPF (FRAÇÃO DE
PLAQUETAS IMATURAS) UTILIZANDO AMOSTRAS DE PACIENTES
AMBULATORIAIS DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO**

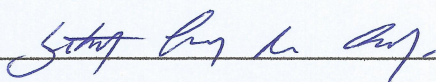
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto Federal do Rio de Janeiro como requisito
parcial para a obtenção do grau de Bacharel em
Farmácia.

Aprovada em: 23 / 01 / 2023

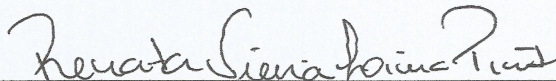
Banca examinadora



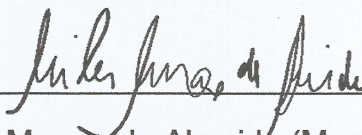
Prof.ª M. Sc. Silvana Machareth Santiago - (Orientadora - IFRJ/Campus Realengo)



Prof. Gustavo Carvalho de Castro - (Orientador - HUPE)



M. Sc. Renata Vieira Lima Pinto (Membro externo - HUPE)



Prof.ª Dra. Mila Muraro de Almeida (Membro externo - HUPE)

RIO DE JANEIRO

2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por fazer muito mais do que eu imaginei, por me capacitar, dar inteligência, sabedoria e por colocar diante de mim tudo aquilo que foi preciso para concluir o curso da minha faculdade.

Agradeço aos meus pais e minha irmã por estarem sempre ao meu lado, orando por mim, me apoiando, me incentivando a crescer cada dia mais e por não medirem esforços para me ajudar.

Agradeço aos meus orientadores Silvana e Gustavo por serem excelentes exemplos profissionais a serem seguidos e por estarem sempre à disposição.

Agradeço à professora Rosana por todos os conselhos, ensinamentos e por toda ajuda na parte de estatística desse trabalho.

Agradeço às minhas amigas Isabelle e Cássia, as quais considero como irmãs, pela amizade e por todo apoio e incentivo durante a faculdade.

Agradeço a todos os professores do IFRJ pela dedicação em passar os conteúdos e solucionar todas as dúvidas.

Sou muito grata a toda equipe do HUPE e da Piquet Carneiro por me receberem tão bem como estagiária e por todos os conhecimentos aprendidos durante o período do meu estágio e IC.

Gratidão a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a conquista do meu diploma.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

#-IPF	Valor absoluto da fração de plaquetas imaturas
%-IPF	Fração de plaquetas imaturas expressa em porcentagem
µm	Micrômetro
ADP	Adenosina difosfato
AGM	Aorta-Gônadas-Mesonefro
AMPc	Adenosina 3,5-monofosfato cíclico
AT	Antitrombina
ATP	Adenosina trifosfato
cm	Centímetro
CTHs	Células tronco hematopoiéticas
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EDTA K3	Ácido etilenodiaminoteracético tripotássico
FIXa	Fator IX ativado
FIXa/FVIIIa	Complexo formado entre o FIXa e o FVIIIa
fL	Fentolitro
FT	Fator tecidual
FV	Fator V
FVa	Fator V ativado
FVIIa	Fator VII ativado
FVIIa/FT	Complexo formado entre o FVIIa e o FT
FVIII	Fator VIII
FVIII/FvW	Complexo formado entre o FVIII e o FvW
FVIIIa	Fator VIII ativado
FvW	Fator de von Willebrand
FX	Fator X
FXa	Fator X ativado
FXa/FVa	Complexo formado entre o FXa e o FVa
FXIa	Fator XI ativado
FXIIa	Fator XII ativado
GP	Glicoproteína
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IGIV	Imunoglobulina humana intravenosa
IL	Interleucinas
IPF	Fração de plaquetas imaturas
IQR	Intervalo Interquartil
mm	Milímetro
MO	Medula óssea
PAI	Inibidor do ativador de plasminogênio
PC	Proteína C
PCT	Plaquetócrito
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PDW	Índice de anisocitose plaquetária
P-LCR	Indicador de macroplaquetas
PLT-I	Contagem de plaquetas utilizando a metodologia de impedância elétrica
PLT-O	Contagem de plaquetas utilizando a metodologia óptica por fluorescência

PS	Proteína S
PTI	Trombocitopenia imune ou Púrpura trombocitopênica idiopática
RNA	Ácido ribonucleico
SCA	Sistema canicular aberto
SLA-HUPE	Serviço de laboratórios do HUPE
SMI	Sistema de membrana invaginada
TCLE	Termo de consentimento livre esclarecido
TFPI	Inibidor da via do fator tecidual
TGF-beta	Fator de crescimento transformador beta
TXA2	Tromboxano A2
VPM	Volume plaquetário médio

SOUZA, C.M.S.M. Elaboração de um intervalo de referência para IPF (Fração de Plaquetas Imaturas) utilizando amostras de pacientes ambulatoriais do Hospital Universitário Pedro Ernesto. 45 f. Trabalho de conclusão de curso. Bacharelado em Farmácia. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Campus Realengo, Rio de Janeiro, RJ, 2022.

RESUMO

A hematopoiese é o processo de formação das células sanguíneas. Ocorre a partir das células tronco hematopoiéticas, que se diferenciam em células progenitoras da linhagem linfóide e mieloide. A primeira dá origem aos linfócitos T, B e NK e a segunda dá origem aos eritrócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos, basófilos e megacariócitos. Os megacariócitos, após se tornarem maduros, dão origem às plaquetas (este processo é conhecido como trombopoiese). A partir da quantificação plaquetária feita pelos contadores hematológicos automatizados, são calculados diversos parâmetros plaquetários. Dentre eles, a IPF (fração de plaquetas imaturas) que se refere à quantidade de plaquetas imaturas no sangue periférico em comparação com o número total de plaquetas. A %-IPF (IPF expressa em porcentagem) é capaz de indicar se o paciente tem hipoprodução plaquetária ou consumo plaquetário periférico elevado, podendo auxiliar no diagnóstico de trombocitopenias. Dessa forma, foi realizada uma pesquisa com pacientes ambulatoriais voluntários, atendidos pelo Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE), com o objetivo de criar um intervalo de referência para este parâmetro. Das 207 amostras coletadas, 21 foram excluídas por não estarem de acordo com os critérios propostos na pesquisa. Sendo assim, para o valor de referência, foram utilizadas 186 amostras. Constatou-se que, para a população atendida pelo hospital, o intervalo de referência para a %-IPF é de 0,9 a 4,3(%). Os resultados foram semelhantes aos obtidos por um outro estudo realizado no Brasil no ano de 2016, porém ainda são necessárias mais pesquisas para aprimorar os valores de referência obtidos.

Palavras-chave: Intervalo de referência. Fração de plaquetas imaturas. Plaquetas.

SOUZA, C.M.S.M. Elaboration of a reference interval for IPF (Immature Platelet Fraction) using samples from outpatients at Hospital Universitário Pedro Ernesto. 45 f. Trabalho de conclusão de curso. Bacharelado em Farmácia. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Campus Realengo, Rio de Janeiro, RJ, 2022.

ABSTRACT

Hematopoiesis is the process of blood cell formation. It occurs from hematopoietic stem cells that differentiate into progenitor cells of the lymphoid and myeloid lineage. The first gives rise to T, B and NK lymphocytes and the second gives rise to erythrocytes, neutrophils, monocytes, eosinophils, basophils and megakaryocytes. Megakaryocytes, after becoming mature, give rise to platelets (this process is known as thrombopoiesis). From platelet quantification performed by automated hematological counters, several platelet parameters are calculated. Among them, the IPF (fraction of immature platelets) which refers to the amount of immature platelets in peripheral blood compared to the total number of platelets. The %-IPF (IPF expressed as a percentage) is able to indicate whether the patient has low platelet production or high peripheral platelet consumption and may help in the diagnosis of thrombocytopenia. Thus, a research was carried out with voluntary outpatients, assisted by the Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE), with the aim of creating a reference interval for this parameter. Of the 207 samples collected, 21 were excluded for not meeting the criteria proposed in the research. Therefore, for the reference value, 186 samples were used. It was found that, for the population served by the hospital, the reference interval for the %-IPF is from 0.9 to 4.3(%). The results were similar to those obtained by another study carried out in Brazil in 2016, but more research is still needed to improve the reference values obtained.

Keywords: Reference interval. Immature Platelet Fraction. Platelets.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
1.1 HEMATOPOIESE E TROMBOPOIESE.....	10
1.2 ESTRUTURA PLAQUETÁRIA.....	11
1.3 COAGULAÇÃO E HEMOSTASIA.....	12
1.4 AVALIAÇÃO QUANTITATIVA E FUNCIONAL PLAQUETÁRIA.....	16
1.5 FRAÇÃO DE PLAQUETAS IMATURAS (IPF).....	17
1.6 OBJETIVO GERAL.....	18
1.7 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
2 DESENVOLVIMENTO.....	18
2.1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1.1 Fração de plaquetas imaturas no diagnóstico diferencial de PTI.....	18
2.1.2 Pseudotrombocitopenias.....	20
2.2 METODOLOGIA.....	21
2.2.1 Metodologias para determinar o valor da IPF e da contagem plaquetária.....	23
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
2.3.1 Caso clínico.....	30
3. CONCLUSÃO.....	32
REFERÊNCIAS.....	33
ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP.....	39
ANEXO B – Modelo do TCLE.....	43

1 INTRODUÇÃO

1.1 HEMATOPOIESE E TROMBOPOIESE

O termo hematopoiese se refere ao processo de produção das células que compõem o tecido sanguíneo. Em seres humanos, as principais células sanguíneas maduras têm um precursor em comum, as células tronco hematopoiéticas (CTHs), que inicialmente se encontram no saco vitelínico, no qual ocorre somente a produção de eritrócitos até a quarta semana do período fetal. Após esse período, as CTHs passam a se localizar em uma área da mesoderme denominada Aorta-Gônadas-Mesonefro (AGM) e se tornam capazes de produzir completamente as linhagens hematopoiéticas (PAIVA; REGO, 2013).

A partir da quinta ou sexta semana de gestação, a hematopoiese passa a ser feita pelo fígado e pelo baço até o feto completar aproximadamente 7 meses. Sendo que, a partir do quinto mês, a medula óssea (MO) também começa a fazer hematopoiese e, após o nascimento, se torna a única responsável por essa função. A MO de praticamente todos os ossos produz células sanguíneas até os 2 anos de idade. Como a medula hematopoiética, aos poucos, vai sendo substituída por um tecido gorduroso, no indivíduo adulto, em vez da hematopoiese acontecer na MO de todos os ossos, ela se torna restrita às vértebras, crânio, sacro, pelve, costelas e extremidades proximais dos fêmures (HOFFBRAND; MOSS, 2013; PAIVA; REGO, 2013).

As células progenitoras da linhagem linfóide e mielóide surgem a partir da diferenciação das células primitivas. A primeira dá origem aos linfócitos T, linfócitos B e linfócitos NK e a segunda dá origem aos eritrócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos, basófilos e megacariócitos (DINIZ, 2015).

A produção plaquetária inicia-se com estímulo da trombopoetina, um fator de crescimento glicoproteico produzido por células do fígado e rins. Este, juntamente com a ação de interleucinas IL-3, IL-6 e IL-11, estimulam a maturação dos megacariócitos, que são sucessores dos megacarioblastos (BENEDITO, 2016; PINTO, 2017).

Posteriormente, os megacariócitos sofrem várias endomitoses (mitoses incompletas que não passam da fase anáfase tardia do processo de divisão celular). Desse modo, ao invés de ocorrer a divisão citoplasmática, o citoplasma aumenta e

há formação de um núcleo polilobulado com acúmulo de DNA em seu interior. Então, os megacariócitos maduros se deslocam para a parte vascularizada da MO e interagem com as células endoteliais e, em vasos sinusóides da MO, exibem protusões de seu sistema de membrana invaginada (SMI). Essas protusões são as proplaquetas que se fragmentam em plaquetas individuais na corrente sanguínea. A trombopoiese também pode acontecer no pulmão, pois este órgão é um reservatório de megacariócitos (BERNUSSO, 2021; GUO et. al., 2015; LEMOS, 2015).

De forma geral, pode-se dizer que, a partir de um megacariócito, são formadas cerca de 1500 a 2000 plaquetas. Do total de plaquetas produzidas, a maior parte (cerca de 70%) está na circulação que é o local em que permanecem por um período de 7 a 10 dias e, após esse tempo, são retiradas do sangue periférico por macrófagos ou monócitos pertencentes ao sistema reticuloendotelial e transportadas para o baço, para serem destruídas. Os outros 30% das plaquetas produzidas ficam retidas no baço (para serem liberadas em caso de necessidade). As plaquetas também são chamadas de trombócitos, têm formato discóide e medem em torno de 1,5 a 3 micrômetros de diâmetro. São os menores corpúsculos encontrados no sangue periférico e possuem volume em torno de 7 a 11 fL (CAGNOLATI et al., 2017; GONÇALVES, 2019; PINTO, 2017).

1.2 ESTRUTURA PLAQUETÁRIA

As plaquetas são divididas em quatro zonas: periférica, de organelas, sol-gel e a do sistema membranar. Na zona periférica se encontram as membranas repletas de glicoproteínas (como as GP 1a, GP 1b, IIb/IIIa que atuam na adesão e funcionam como receptores para desencadear agregação) e os fosfolipídios de membrana (que auxiliam na coagulação, servem de substratos para a cascata do ácido araquidônico e fazem parte da produção de tromboxano A₂, um excelente agonista de vasoconstrição e agregação plaquetária). Além disso, essa zona tem o sistema canicular aberto (SCA) que age de forma seletiva na absorção de proteínas plasmáticas da coagulação e é a estrutura pela qual ocorre a liberação dos constituintes granulares (CASTRO et al., 2006; GONÇALVES, 2019; HOFFBRAND; MOSS 2013).

A zona de organelas é a que contém a maior parte dos componentes, tem-se lisossomos, grânulos de glicogênio, mitocôndrias, grânulos alfa e grânulos densos que

são liberados quando acontece ativação plaquetária. No interior dos grânulos alfa pode-se encontrar P-selectina (proteína adesiva), fator de von Willebrand (FvW), fator plaquetário 4, inibidor do ativador de plasminogênio (PAI), betatromboglobulina, fator de crescimento transformador beta (TGF-beta), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), trombospondina, vitronectina e fatores de coagulação como o fator XI. Os grânulos densos são compostos por histamina, serotonina, cálcio, adenosina difosfato (ADP), adenosina trifosfato (ATP), proteína de membrana (tetraspanina CD63) e magnésio. Além disso, as plaquetas possuem ácido ribonucleico (RNA) tanto no citoplasma, como dentro de grânulos alfa (herdados do megacariócito) (MELO et al., 2023).

A zona sol-gel é constituída de microtúbulos (compostos pela proteína tubulina) que, ao se conectar com microfilamentos de actina, formam o esqueleto plaquetário. Esse sistema formado por proteínas contráteis é capaz de fazer a plaqueta mudar do formato discóide para formar prolongamentos de pseudópodos. Eles também auxiliam na excreção de produtos secretados e na retração do coágulo. Por último, a estrutura plaquetária possui um sistema membranar (uma zona que contém o sistema tubular denso, há grande concentração de cálcio com a função de promover contração e sistemas enzimáticos que produzem e sintetizam prostaglandinas) (CASTRO et al., 2006; LORENZI, 2006).

1.3 COAGULAÇÃO E HEMOSTASIA

O processo de coagulação e hemostasia acontece em quatro etapas: iniciação, amplificação, propagação e finalização. O início se dá a partir da lesão de um vaso sanguíneo e consequente exposição do fator tecidual (FT), presente na membrana de algumas células endoteliais, na corrente sanguínea. O FT ativa o fator VII que se encontra na circulação e forma um complexo com ele (FVIIa/FT) que ativa pouca quantidade dos fatores IX e X. O fator X ativado (FXa) juntamente com o cofator V ativado (FVa) forma, na superfície das células que expressam FT, um complexo de protrombinase (FXa/FVa) responsável por converter pequenas quantidades de protrombina (ou fator II) em trombina (fator II ativado). Acredita-se que essa fase inicial também pode acontecer fora do espaço vascular mesmo na ausência de lesão por existir atividade do FT a todo momento, porém em pequena escala (FERREIRA et al., 2010).

Normalmente, as plaquetas ficam em circulação sem aderir ao endotélio pois, quando ele está íntegro, são produzidos mediadores químicos como prostaglandina I-2 e óxido nítrico que impedem a ativação plaquetária precoce, pois eles interagem com receptores presentes em membranas plaquetárias e, com isso, há aumento da atividade da adenilato ciclase juntamente com a produção de adenosina 3,5-monofosfato cíclico (AMPc) no interior plaquetário, o que mantém inativos os receptores GP IIb/IIIa que são responsáveis pela adesão plaquetária e impedem a liberação dos grânulos que contêm agentes de aglutinação plaquetária ou íons cálcio. Dessa forma, as plaquetas se mantêm em repouso (WHALEN et al., 2016).

Em caso de injúria vascular, o processo de coagulação segue para fase de amplificação. As plaquetas escapam da circulação, chegam no espaço extravascular, interagem com colágeno e componentes da matriz extracelular, e com isso, se ativam parcialmente e é formado o tampão plaquetário inicial. Então, as pequenas quantidades de trombina produzidas na fase de iniciação e o complexo FVIII/FvW (fator VIII ligado ao fator de von Willebrand, que também escapa da circulação em caso de lesão) podem interagir e inicia-se o processo de formação de fibrina estável que converge para hemostasia secundária. A trombina também faz com que as plaquetas sejam totalmente ativadas e ativa os cofatores FV e FVIII juntamente com o fator XI na superfície plaquetária. Assim, o complexo FVIII/FvW é desfeito, permitindo que o FvW possa promover adesão e agregação plaquetária no local de rompimento da integridade vascular (AGOSTINI, 2011).

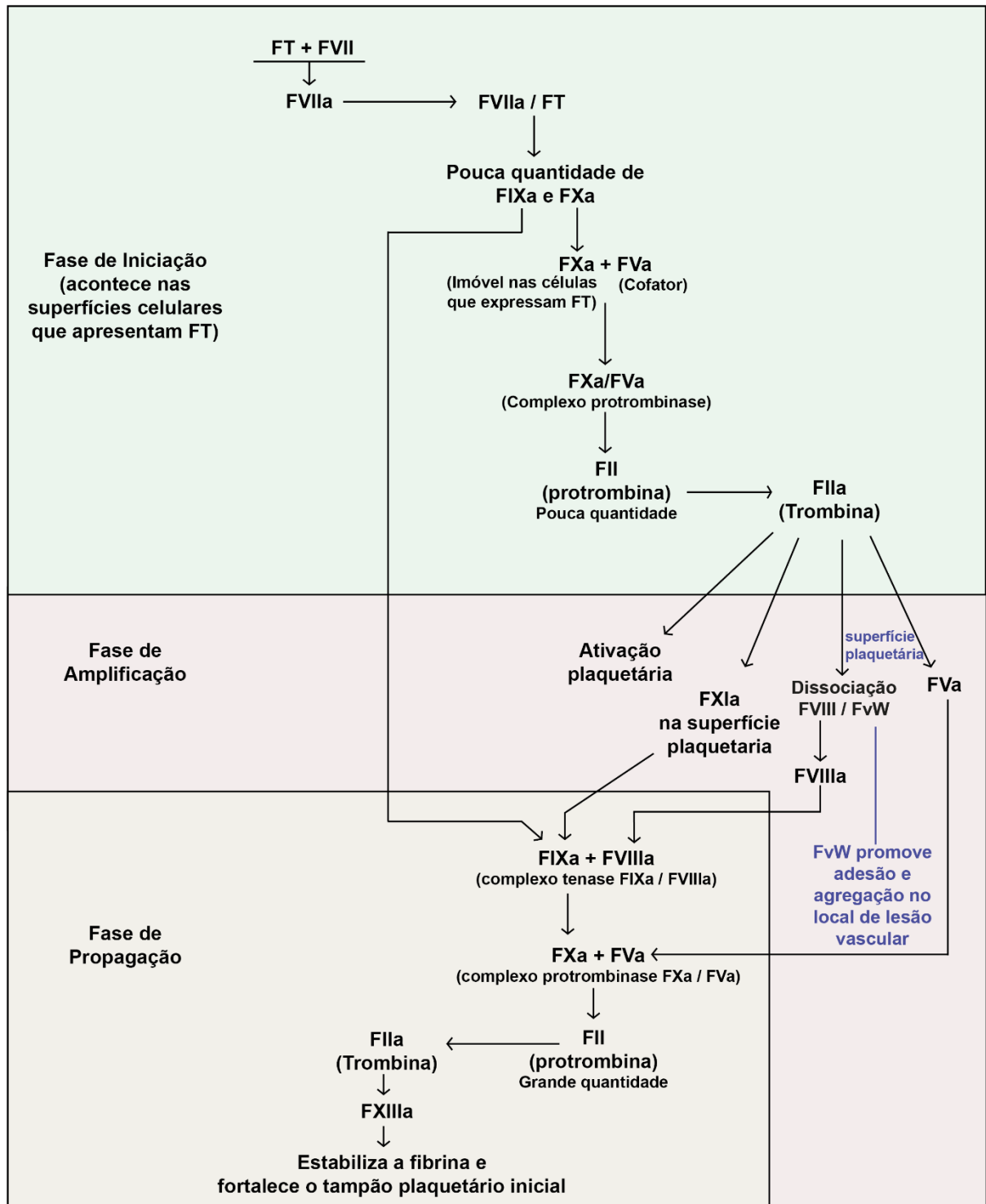
A fase de propagação acontece na superfície das plaquetas ativadas. O fator IX (ativado na fase de iniciação) e o fator XI ativado (FXIa), ligado às plaquetas, se ligam ao fator VIII ativado (FVIIIa) e formam o complexo tenase (FIXa/FVIIIa). Este ativa o fator X (FX) com muito mais eficiência do que o complexo FVIIa/FT na fase inicial. Assim, quando o FXa, se associa ao FVa, forma novamente o complexo de protrombinase, que dessa vez converte grandes quantidades de protrombina em trombina, a qual cliva o fibrinogênio em fibrina. A trombina também é capaz de ativar o fator XIII e, com isso, os monômeros de fibrina são modificados e é formada uma rede estável que fortalece o tampão plaquetário inicial (AGOSTINI, 2011; FERREIRA et al., 2010). Na Figura 1, tem-se um esquema simplificado sobre a ativação dos fatores de coagulação nessas três primeiras etapas.

Após formação do coágulo de fibrina, é preciso controlar o processo de coagulação, pois este deve se limitar ao local lesionado. Para isso, tem-se quatro

anticoagulantes naturais: o TFPI ou inibidor da via do fator tecidual (uma proteína inibitória presente no plasma, produzida pelo endotélio) que, na presença de FXa, forma um complexo quaternário com o FT, FVIIa e o próprio FXa para inativar os fatores previamente ativados e limitar a formação de coágulo; a proteína C (PC), uma glicoproteína plasmática vitamina K dependente que, ao ser ativada pela trombina, possibilita a degradação dos cofatores FVa e FVIIIa; a proteína S (PS), que também é vitamina K dependente, atua como cofator da PC e aumenta sua atividade; e a antitrombina (AT), que inibe rapidamente a trombina e inativa outras serino proteases, como o FIXa, FXa, FXIa, FXIIa (FERREIRA et al., 2010).

Como as plaquetas participam ativamente dos processos de coagulação e hemostasia no organismo, quantificá-las no sangue periférico é importante para auxiliar na investigação ou monitoramento de doenças hemorrágicas e trombóticas. Um exemplo é a púrpura trombocitopênica idiopática (PTI), atualmente chamada de trombocitopenia imune, uma doença caracterizada por ter anticorpos, em geral do tipo IgG, contra as glicoproteínas (GP) da membrana plaquetária, principalmente contra os complexos GPIb-IX e GPIIb-IIIa. Os anticorpos, ao se ligarem a estas glicoproteínas, marcam as plaquetas como se fossem patógenos, atraindo macrófagos para destruí-las, resultando em menor contagem de plaquetas circulantes. O diagnóstico é de exclusão e é feito após detalhada anamnese e exames físicos (MELO et al., 2023).

Figura 1 - Esquema simplificado sobre a ativação dos fatores de coagulação durante as fases de: iniciação, amplificação e propagação do processo de hemostasia.



Fonte: Autor (2022)

1.4 AVALIAÇÃO QUANTITATIVA E FUNCIONAL PLAQUETÁRIA

A avaliação quantitativa das plaquetas pode ser realizada de forma manual ou automatizada, a partir da coleta de uma amostra de sangue em tubo contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). Os métodos pioneiros manuais foram: método de Brecher & Cronkite, em que a contagem é feita com o auxílio de uma câmara de Neubauer (ou hemocítmetro); e a técnica proposta por Bárbara O'Connor, que se baseia na contagem das plaquetas em alguns campos na extensão sanguínea de sangue periférico (COMAR et al., 2009).

Com o surgimento dos analisadores automáticos, melhorou-se a repetitividade e reprodutibilidade tanto da contagem plaquetária como a de células hematológicas. As principais metodologias utilizadas por estes equipamentos são a impedância elétrica, impedância de fluxo de revestimento, dispersão óptica e análise por fluorescência e é possível que, em um mesmo equipamento, se tenha mais de uma metodologia para contagem celular (ANDRADE, 2020; BRITO JUNIOR, 2022).

A partir da quantificação plaquetária feita pelos contadores hematológicos automatizados, são calculados diversos parâmetros plaquetários. Dentre eles, estão o PCT (Plaquetócrito), que indica a proporção que as plaquetas ocupam no sangue total; O VPM (Volume plaquetário médio), que representa a média entre o volume de 10.000 plaquetas contadas, sendo relevante em casos de doenças vasculares, púrpuras plaquetárias e mielodisplasias; o PDW (Anisocitose plaquetária), que mostra o quanto que as plaquetas variam em tamanho; o P-LCR (Indicador de macroplaquetas), que reflete a quantidade de plaquetas com volume superior a 12 fL e a IPF (fração de plaquetas imaturas), que quantifica a proporção de plaquetas jovens em relação às totais contadas por metodologia óptica fluorescente (Equação 1) (LIMA, 2019; MELO et al., 2023).

$$IPF = \frac{\text{Número de plaquetas imaturas no canal ótico}}{\text{Soma de todas as partículas das plaquetas no canal ótico}} \times 100\%$$

(1)*

*Fonte: MINDRAY. **BC-6200 Analisador Automático de Hematologia**: Manual do operador, 2018.

Alguns desses novos parâmetros plaquetários ainda estão em pesquisa, porém vem sendo cada vez mais utilizados no laboratório de análises clínicas, com destaque para o VPM, que é atualmente o mais encontrado, e a IPF que, apesar de ainda não ser liberado no laudo dos pacientes em todos os hospitais, representa um avanço significativo no diagnóstico diferencial das trombocitopenias, pois este parâmetro é um reflexo de como está a produção de plaquetas na MO (LIMA, 2019).

1.5 FRAÇÃO DE PLAQUETAS IMATURAS (IPF)

A IPF é a quantidade de plaquetas imaturas no sangue periférico em comparação com o número total de plaquetas (BENLACHGAR et al., 2020). Ela pode ser expressa em porcentagem (%-IPF) ou em valor absoluto (#-IPF) (BUTTARELLO et al., 2020). As plaquetas imaturas são maiores, contêm maior quantidade de ácido ribonucleico (RNA) em seu interior e são mais reativas do que as maduras, podendo permanecer na circulação por um período de 24 a 36 horas. Após esse tempo, a plaqueta atinge a maturidade e, assim, grande parte do material genético é degradado e seu volume é reduzido (GROTTO, 2009).

A avaliação da IPF irá ajudar nos casos de pacientes que estão tendo supressão ou insuficiência de produção plaquetária na MO, ou consumo plaquetário periférico, auxiliando no diagnóstico diferencial de trombocitopenias como a PTI, além de avaliar a recuperação da produção plaquetária da MO de pacientes que realizam quimioterapia, prevenindo que aconteçam transfusões plaquetárias desnecessárias (JEON et. al., 2020).

A hipoprodução plaquetária medular pode ser causada por tratamento com quimioterápicos (pois eles afetam os progenitores de megacariócitos) e doenças como anemia aplástica (uma pancitopenia que induz a aplasia medular) (ALMEIDA, 2020; KICKLER et al., 2006; SUNDARMURTHY et al., 2017). Dentre as causas para se ter trombocitopenia por consumo periférico, tem-se as doenças como a PTI e algumas viroses (como a dengue), visto que há intensa destruição plaquetária periférica (PEREIRA, 2022; ROMERO et al., 2019).

Com base nesta informação, para auxiliar o diagnóstico clínico em casos de trombocitopenias, iniciou-se uma pesquisa no Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) a fim de criar um intervalo de referência para o parâmetro Fração de Plaquetas Imaturas em pacientes ambulatoriais atendidos pelo HUPE.

1.6 OBJETIVO GERAL

Estimar um intervalo de referência para a %-IPF de pacientes ambulatoriais atendidos pelo Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE).

1.7 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Selecionar voluntários para a pesquisa, coletar as amostras, mensurar os valores da contagem de plaquetas e do IPF, fazer um levantamento de dados para criar um intervalo de referência e avaliar os resultados obtidos.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1.1 Fração de plaquetas imaturas no diagnóstico diferencial de PTI

Trombocitopenia é uma condição clínica na qual há quantidade relativamente diminuída de plaquetas circulantes em decorrência de dois tipos de processos fisiológicos: diminuição da produção plaquetária pela MO ou elevado consumo plaquetário no sangue periférico (KICKLER et. al., 2006).

A PTI é uma doença autoimune em que o organismo produz anticorpos, geralmente do tipo IgG, contra as glicoproteínas presentes na membrana plaquetária, em destaque, os complexos GPIb-IX (receptor do FvW) e GPIIb-IIIa (receptores do fibrinogênio). Como consequência, os autoanticorpos, após opsonização, ativam os macrófagos para fagocitarem prematuramente as próprias plaquetas e, deste modo, reduzem a quantidade de plaquetas circulantes (MELO et al., 2023; PEREIRA, 2022). Diante disso, o organismo intensifica a produção plaquetária pela MO, porém ela pode se mostrar insuficiente e favorecer plaquetopenia (SILVA, 2014).

O termo mais atual para a PTI é trombocitopenia imune, pois nem todos os pacientes são sintomáticos, da mesma forma que nem todos vão ter os hematomas subcutâneos conhecidos como “púrpuras” na pele. Inclusive, a classificação destes pequenos sangramentos é feita de acordo com o tamanho: petéquias refere-se a

lesões subcutâneas com diâmetro inferior a 2 mm, púrpuras é quando o diâmetro está entre 2 mm e 1 cm e em equimoses o diâmetro é superior a 1 cm. A PTI pode ser classificada em aguda (se for detectada em até três meses após seu surgimento) ou crônica (quando a doença dura mais que 1 ano) (MELO et al., 2023). Outras possíveis classificações são de acordo com a faixa etária (PTI infantil ou adulta) e de acordo com a origem da doença, sendo primária (quando idiopática) ou secundária (quando a destruição plaquetária também estiver associada a outra condição clínica pré-existente, tal como infecção por *Helicobacter pylori*, hepatite C, vírus da imunodeficiência humana, entre outros) (KÜHNE et al., 2011).

Outros sintomas prováveis são: hematúria; menorrágia; e sangramentos em locais diversos como mucosas. O diagnóstico é conduzido através da detalhada anamnese, exame físico e exames de exclusão de outras causas para se ter trombocitopenia por consumo periférico, tais como hepatopatia, hiperesplenismo (ampliação do volume do baço), entre outros. Com relação ao hemograma, a principal característica é a intensa plaquetopenia, com a possibilidade de se ter leucocitose com baixa quantidade de neutrófilos e presença de linfócitos atípicos quando relacionada à infecção viral (LOURENÇO, 2013). Além disso, pode-se encontrar macroplaquetas na distensão sanguínea, que são plaquetas com diâmetro entre 4 µm e 7 µm (FARIAS; DAL BÓ, 2010).

Caso seja realizado o mielograma, espera-se encontrar uma quantidade normal ou aumentada de megacariócitos e, para auxílio do diagnóstico, também pode-se solicitar pesquisa de autoanticorpos contra as glicoproteínas Ib/IX e IIb/IIIa (LOURENÇO, 2013).

O tratamento da PTI tem como objetivo abrandar os riscos de o paciente ter alguma hemorragia, então ele é feito de acordo com a necessidade que o paciente tem de aumentar a quantidade de plaquetas no sangue periférico para um valor aceitável, não obstante aquele estabelecido como normal pela literatura (PADILHA, 2015). Para adultos com trombocitopenia imune idiopática é recomendado o uso de corticosteroides em altas doses. É importante ressaltar que, dentre os possíveis efeitos colaterais desses medicamentos, tem-se a hipertensão arterial, diabetes, glaucoma, obesidade abdominal e osteoporose (MELO; SILVEIRA, 2015; VIANA, 2020).

Uma alternativa aos corticosteroides é administrar um bloqueador de receptores do tipo Fc gama dos macrófagos, como a imunoglobulina humana

intravenosa (IGIV), pois dessa maneira implicará na diminuição da destruição plaquetária. Os pacientes que aderem a esse tratamento têm resposta rápida e praticamente imediata. Dentre os riscos da IGIV tem-se os seguintes efeitos colaterais: tremores, mialgia, aumento da pressão arterial e insuficiência renal (LOURENÇO, 2013).

No entanto, existem pacientes que são resistentes aos dois tipos de tratamento mencionados anteriormente. Estes têm a opção de realizar a esplenectomia que é uma cirurgia para retirada do baço para reduzir a fagocitose plaquetária, uma vez que reduz a atividade fagocítica de macrófagos e, de forma secundária, a produção de anticorpos. Com a esplenectomia também há diminuição dos linfócitos circulantes, o que somado à redução de macrófagos e anticorpos, aumenta o risco de o paciente ter sepse fulminante após esse procedimento (KISHIMOTO; PASSOS, 2020; PADILHA, 2015).

Outro tratamento é o uso de fármacos que agem como agonista do receptor da trombopoetina como o Eltrombopag (Revolade®), um medicamento que tem como mecanismo de ação estimular a proliferação e maturação de megacariócitos para que estes formem novas plaquetas. Dentre os efeitos adversos principais, tem-se hepatotoxicidade, fibrose de medula óssea, catarata e trombose. Uma alternativa é fazer o uso de imunossupressores tais como azatioprina e ciclofosfamida (LOURENÇO, 2013).

Ter somente a contagem plaquetária no laudo do hemograma não é capaz de informar o médico se a causa da plaquetopenia é devido ao grande consumo periférico ou se o paciente apresenta falha na produção medular (JEON et al., 2020). Nesse sentido, a maior relevância da IPF está no diagnóstico diferencial entre trombocitopenias, pois ele serve como um indicador de como está ocorrendo a produção plaquetária na medula óssea (JUNG et al., 2010).

2.1.2 Pseudotrombocitopenias

O termo pseudotrombocitopenia refere-se a uma contagem plaquetária equivocadamente reduzida por algum interferente. Erros pré-analíticos como falta de homogeneização do tubo coletado, presença de coágulo na amostra, diluição da amostra, alguns medicamentos (por exemplo, o ácido valproico e a mexiletina),

problemas durante a coleta ou na análise das amostras são algumas possíveis causas para a pseudotrombocitopenia (COSTA et al., 2020).

Além desses, um outro interferente é a presença de agregados plaquetários. Estes podem ser induzidos por anticoagulantes como EDTA, pois o efeito quelante que ele tem sobre o cálcio somado às baixas temperaturas alteram a glicoproteína plaquetária IIb/IIIa e expõe o epítipo da proteína IIb, facilitando a ligação de imunoglobulinas a ele e, com isso, ocorre a formação de agregados. Como o equipamento não é capaz de contar as plaquetas ali presentes, o resultado vem com uma falsa plaquetopenia (FANG et al., 2015; OLIVEIRA, 2018).

Identificar esses erros é imprescindível para que o paciente não seja submetido a tratamentos, exames ou transfusões desnecessárias. Em casos de trombocitopenia, é indicado coletar novas amostras em diferentes anticoagulantes (como por exemplo o citrato de sódio, heparina e oxalato), examinar a extensão sanguínea em um microscópio à procura de agregados, colocar a amostra de sangue a 37°C (temperatura que as imunoglobulinas soltam das glicoproteínas IIb/IIIa), ou ainda adicionar, em uma amostra colhida com o EDTA, canamicina ou ampicacina (aditivos que previnem aglutinação) para confirmar o resultado. Ademais, é importante verificar se os sintomas clínicos e histórico do paciente são coerentes com o resultado (CERAN et al., 2021; FANG et al., 2015).

2.2 METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada a partir da análise de amostras de sangue de pacientes voluntários, aprovada pelo comitê de ética sob o parecer número 5.504.684 (Anexo A).

Foram coletadas amostras de sangue durante o período de novembro de 2021 a novembro de 2022 com a finalidade de criar um intervalo de referência para a IPF condizente aos pacientes ambulatoriais atendidos pelo HUPE. Do total de amostras coletadas, foram incluídas 186 no estudo.

Os critérios de inclusão na pesquisa foram: pacientes adultos de ambos os sexos, com quantidade de plaquetas dentro do intervalo de referência considerado normal pela literatura. De acordo com Melo, 2023 a faixa ideal é entre 150.000 e 450.000 plaquetas/mm³.

Foram excluídos pacientes diabéticos, hipertensos e com doenças inflamatórias pelos seguintes motivos:

- Pacientes diabéticos costumam ter alto índice glicêmico, o que favorece a ativação plaquetária. Desse modo, esses pacientes usualmente apresentam um quadro de hipercoagulabilidade e hipofibrinólise. Apesar de a literatura não elucidar se, em diabéticos, as plaquetas tendem a ter maior interação com o endotélio lesado por terem maior tendência a estarem ativas, os indivíduos com essa comorbidade tem vida plaquetária média reduzida. Ainda não está esclarecido se, em diabéticos, essa redução provoca aumento de sua produção pelo organismo, mas pode-se suspeitar que estes pacientes poderão ter valores de IPF naturalmente maiores do que pacientes sem essa comorbidade, o que torna inviável a participação deles neste estudo (MELO et al., 2023; SOARES et al., 2010).

- Pacientes hipertensos também não foram selecionados para o estudo, pois nestes a tensão intravascular é maior, o que aumenta a chance de ter lesão vascular endotelial, implicando em maior consumo plaquetário. Esses pacientes também têm vida plaquetária média reduzida (REEVES; MAITTA, 2020). De forma análoga à exclusão de pacientes diabéticos, também pode-se inferir que pacientes com esta comorbidade podem ter um intervalo para a IPF naturalmente maior do que o de pacientes não hipertensos e por esse motivo eles também foram excluídos.

- Pacientes com doenças inflamatórias como lúpus eritematoso, pacientes com leucemias ou doenças crônicas que causem alteração significativa na quantidade de plaquetas circulantes, tais como PTI, também foram excluídos para criar o intervalo de referência, assim como pacientes que fazem o uso de medicamentos que podem alterar a quantidade de plaquetas no sangue periférico e medicamentos que interferem na hemostasia como anticoagulantes, anti-inflamatórios e antiagregantes.

Além disso, foram excluídas amostras em que o tempo entre coleta e análise tenha ultrapassado 2 horas, pois em alguns trabalhos acadêmicos como o de Farias e Dal Bó, 2010 foi visto que, apesar de as plaquetas sofrerem alteração com o passar do tempo, esta mudança não é significativa se a análise for realizada em até duas horas após a coleta.

Antes da punção venosa, foi realizada uma entrevista com cada paciente na qual foi perguntado se este era diabético, hipertenso, se tinha tido febre ou algum processo inflamatório recente e se fazia uso de algum medicamento a fim de descobrir se estavam dentro dos critérios propostos na pesquisa e se aceitavam

participar voluntariamente e, ao concordar em participar, cada voluntário precisou preencher o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Anexo B).

Após a entrevista e preenchimento do TCLE, foi feita a punção venosa. De cada paciente, foram coletados cerca de 5 mL de sangue em tubo de tampa roxa, contendo o anticoagulante ácido etilenodiaminoteracético tripotássico (EDTA K3), utilizando-se agulhas descartáveis de coletas múltiplas 25 x 8 mm (22 G1) acopladas a adaptadores plásticos que foram descartados após a coleta.

As análises das amostras foram feitas no setor de hematologia do serviço de laboratórios HUPE-UERJ. Foram utilizados analisadores hematológicos devidamente calibrados modelo BC-6200 comercializado pela Mindray.

Para calcular o intervalo de referência, primeiramente a normalidade dos dados foi verificada com o intuito de avaliar o melhor tratamento estatístico a ser utilizado. Para esta finalidade, foi aplicado o teste de Kolmogorov-Smirnov conforme sugerido por Ko et al., 2014. Através do teste de *Wilcoxon*, os valores da mediana e das faixas mínima e máxima, considerando o intervalo interquartil (IQR), foram obtidos. Deste modo, foi possível a verificação e exclusão de *outliers*. Um histograma com os resultados foi então gerado e os dados organizados em BoxPlot, o que permitiu a obtenção do intervalo de referência através do método dos percentis, onde considera-se a faixa de valores que compreendem 95% dos dados de uma distribuição não paramétrica. Todo o tratamento estatístico foi realizado no software OriginPro2022b, versão 9.9.5.171.

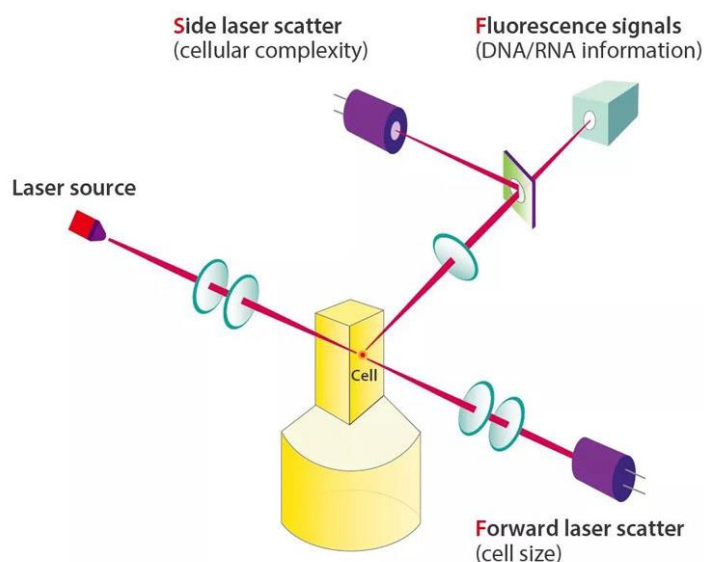
2.2.1 Metodologias para determinar o valor da IPF e da contagem plaquetária

No equipamento BC-6200, a contagem plaquetária pode ser realizada pelo método de impedância elétrica e pelo método óptico. A tecnologia da impedância elétrica segue o princípio de Coulter em que a amostra de sangue é aspirada para dentro do aparelho e é formada uma suspensão diluída de células que passam individualmente por uma pequena abertura na qual se tem uma corrente elétrica formada por dois eletrodos (zona de detecção). Como as células possuem tamanhos e volumes diferentes, quando passam, elas alteram a resistência da corrente elétrica de forma distinta e, conseqüentemente, geram pulsos elétricos distintos, permitindo que o equipamento classifique cada célula de acordo com as suas dimensões (a

amplitude do pulso é proporcional ao volume celular e a quantidade de pulsos indica a quantidade de células) (GONÇALVES, 2019; MINDRAY, 2018).

Esse equipamento também possui a tecnologia de análise celular SF-Cube (ou metodologia óptica fluorescente), em que um corante fluorescente se liga aos ácidos nucleicos presentes em leucócitos, plaquetas e eritrócitos e a classificação celular acontece dependendo da disseminação da luz (a disseminação de baixo ângulo corresponde ao tamanho da célula, a de alto ângulo indica a granulação da célula) e da intensidade do sinal fluorescente (que corresponde ao quanto que a célula foi tingida com o corante) (Figura 2) (MINDRAY, 2018).

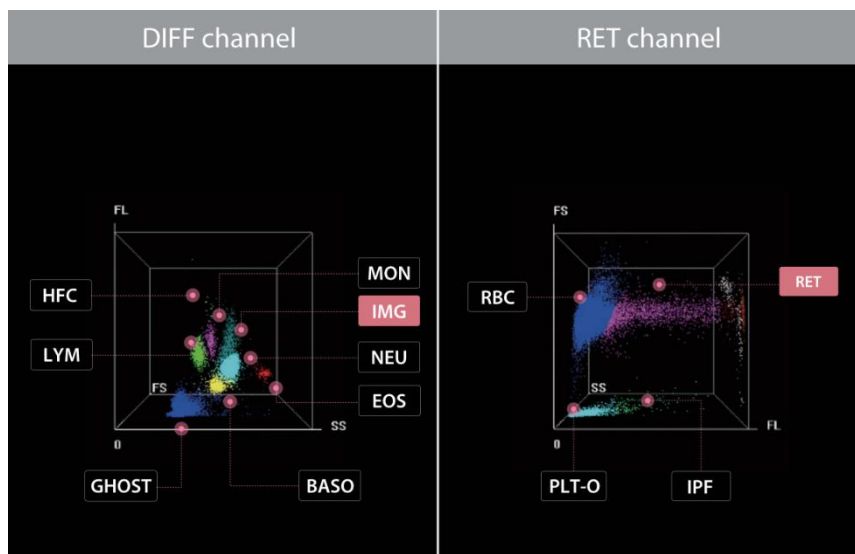
Figura 2 – Tecnologia SF-Cube.



Fonte: site da Mindray (<https://www.mindray.com/en/media-center/blogs/small-cube-big-difference-mindray-new-sf-cube-technology-i>)

Como as células contêm diferentes quantidades de ácido nucleico em seu interior, isso permite a diferenciação das estruturas mais jovens, que contêm maior quantidade de ácido nucleico, como é o caso dos reticulócitos (eritrócitos jovens) e das plaquetas imaturas (indicadas pelo parâmetro IPF). A quantidade total de plaquetas contadas por essa tecnologia se chama plaquetas ópticas. É importante ressaltar que a contagem de plaquetas e eritrócitos por essa metodologia são realizadas em um local do equipamento diferente de onde é feita a contagem de leucócitos (Figura 3) (MINDRAY, 2018).

Figura 3 – Exemplos de Gráficos de dispersão gerados por contadores hematológicos comercializados pela Mindray utilizando tecnologia SF-Cube.



Legenda: O canal DIFF é local em que acontece a contagem dos leucócitos e o canal RET é o local em que são contados eritrócitos, reticulócitos, plaquetas e plaquetas imaturas.

Fonte: site da Mindray (<https://www.mindray.com/br/products/laboratory-diagnostics/hematology/5-part-differential-analyzers/bc-700-series>)

No tocante aos possíveis interferentes na metodologia da impedância tem-se que, dependendo da condição clínica do paciente, algumas células podem ter volumes próximos e isso pode fazer com que elas sejam contadas de forma equivocada pelo equipamento. Por exemplo, caso o paciente tenha eritrócitos pequenos (micrócitos) ou fragmentados (esquizócitos), estes, por estarem em tamanho e volume próximo ao de uma plaqueta, podem ser contados como tal e, desse modo, no resultado terá uma falsa trombocitose. Da mesma forma, pode acontecer das macroplaquetas serem classificadas como eritrócitos, apresentando uma falsa plaquetopenia (ALAJO SARZOSA, 2019; GONÇALVES, 2019). Agregados plaquetários também são interferentes, uma vez que, por não serem contados pelo equipamento, podem levar a pseudotrombocitopenia (OLIVEIRA, 2018).

Esses fatores implicam em reduzida confiança estatística da tecnologia impedância quando a contagem plaquetária se encontra abaixo de 20.000 plaquetas/mm³. No entanto, estudos mostram que esse método tem boa precisão em situações em que a contagem está acima de 100.000 plaquetas/mm³. Para contagens abaixo desse valor, a metodologia óptica fluorescente é a mais recomendada (ANDRADE, 2020; DZIRBA et al., 2018).

O tamanho das células já não é considerado um interferente para a tecnologia SF-Cube, pois, uma vez que a contagem é realizada de acordo com a quantidade de RNA que as plaquetas possuem em seu interior, o tamanho de outras partículas será indiferente (ALAJO SARZOSA, 2019).

Com relação aos possíveis interferentes da tecnologia SF-Cube, tem-se os lipídeos provenientes de amostras coletadas após refeições em pacientes com hiperlipidemia. Estes podem gerar sinais anormais em lugar próximo ao das plaquetas por terem um alto índice refratário. Entretanto, esta tecnologia ainda tem melhor precisão que a impedância em casos de trombocitopenia, possibilitando que sejam tomadas decisões mais assertivas com relação a transfusões plaquetárias (DZIRBA et al., 2018; FARIAS; DAL BÓ 2010).

Cada laboratório estabelece uma metodologia. No setor de hematologia SLA-HUPE, local em que este estudo foi realizado, utiliza-se normalmente a tecnologia da impedância para a contagem plaquetária, salvo quando há necessidade de confirmação da contagem realizada ou quando o equipamento sinaliza plaquetopenia ou identifica presença de agregados plaquetários na amostra, pois nestas situações é utilizada a metodologia óptica.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período do estudo foram coletadas 207 amostras de voluntários e destes, foram excluídos 21 resultados por estarem fora dos critérios propostos na pesquisa. Assim sendo, foram utilizadas 186 amostras de pacientes com idade entre 18 e 81 anos.

Após a realização do teste de Kolmogorov-Smirnov, os dados foram considerados não paramétricos ($p=0,001$). Deste modo, a escolha do tratamento estatístico foi realizada com base na não normalidade dos dados. Resultados similares foram obtidos por Ali et al., 2017; Joergensen e Bathum, 2016; Ko et al., 2014; Morkis et al., 2016; Sachdev et al., 2014; e Yang et al., 2017.

Em continuidade, o teste de *Wilcoxon* foi então aplicado para a obtenção de parâmetros importantes como a mediana e as faixas mínima e máxima. Um resumo com o valor de todos os parâmetros obtidos encontra-se na Tabela 1. Os resultados permitiram a exclusão de *outliers*.

Tabela 1 - Resultados do teste Wilcoxon aplicado nos valores de %-IPF coletados (n=186).

Valor mínimo	Q1	Mediana	Q3	Valor máximo
0,4	1,4	2,2	3,5	8,8

Fonte: Valores obtidos com auxílio do software OriginPro2022b, versão 9.9.5.171.

Foram considerados *outliers* os pontos compreendidos fora da faixa aceitável, conforme as equações abaixo:

$$Q_3 + 1,5 \times (Q_3 - Q_1) = 3,5 + 1,5 (3,5 - 1,4) = 6,65 \text{ (faixa máxima)}$$

(2)

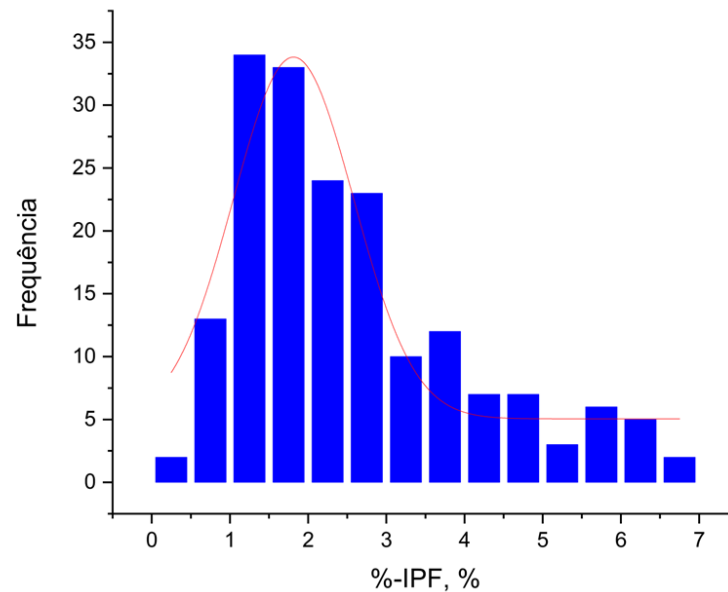
$$Q_1 - 1,5 \times (Q_3 - Q_1) = 1,4 - 1,5 (3,5 - 1,4) = - 1,75 \text{ (faixa mínima)}$$

(3)

Os *outliers* seriam os valores que estão ou abaixo da faixa mínima (Equação 3) ou acima da faixa máxima (Equação 2). Porém, dentre os dados coletados no presente estudo para %-IPF, o menor valor encontrado foi 0,4 e o maior valor abaixo da faixa máxima foi 6,5. Os *outliers*, portanto, foram apenas os valores acima de 6,5.

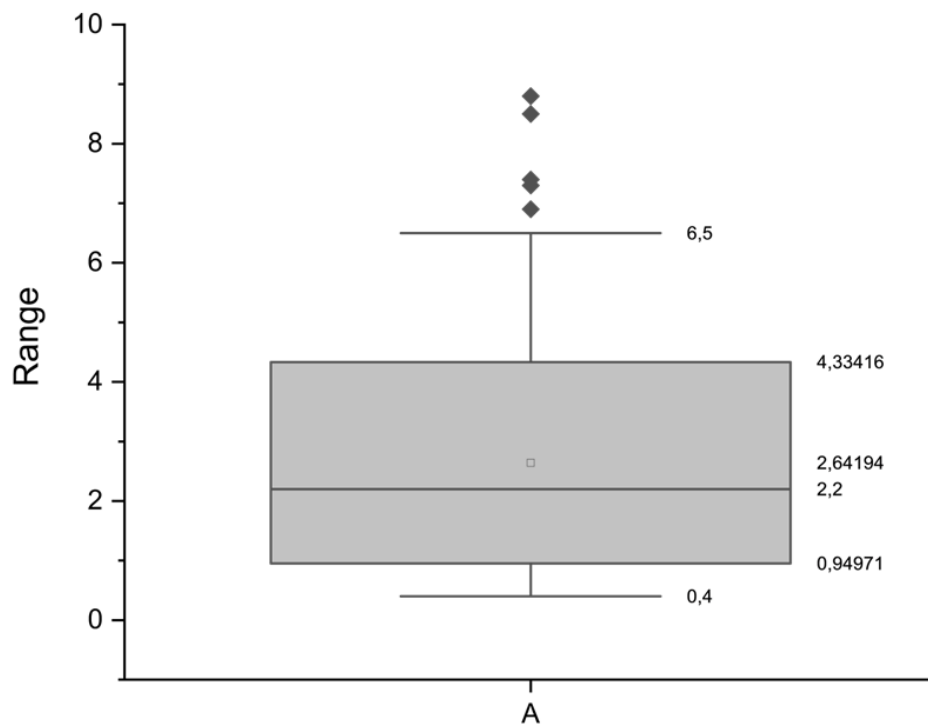
Na Figura 4 encontra-se o histograma gerado para o conjunto de resultados após a exclusão dos valores considerados *outliers*. Os dados foram ajustados em uma curva Gaussiana, o que permitiu gerar o BoxPlot presente na Figura 5. Este tratamento estatístico permitiu a obtenção do intervalo de referência que, de acordo com os resultados, está compreendido entre 0,9 e 4,3%. Essa faixa de valores foi obtida através dos métodos dos percentis, considerando a não normalidade dos dados (Figura 6).

Figura 4 – Histograma representativo da distribuição não paramétrica dos dados (%-IPF, n=186), após ajuste estatístico.



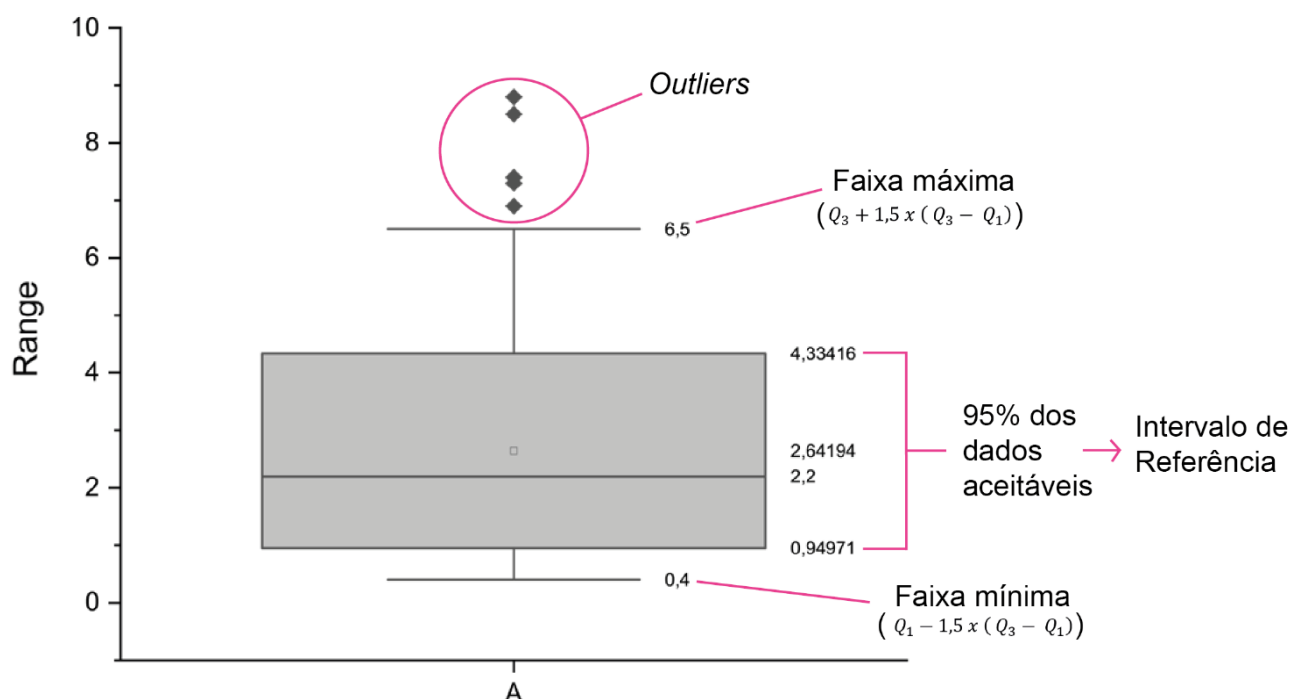
Fonte: Histograma obtido com auxílio do software OriginPro2022b, versão 9.9.5.171.

Figura 5 - BoxPlot gerado através da distribuição não paramétrica dos dados (%-IPF, n=186), após ajuste estatístico.



Fonte: BoxPlot obtido com auxílio do software OriginPro2022b, versão 9.9.5.171.

Figura 6 – Explicação do BoxPlot gerado através da distribuição não paramétrica dos dados (%-IPF, n=186), após ajuste estatístico.



Fonte: BoxPlot obtido com auxílio do software OriginPro2022b, versão 9.9.5.171.

Benlachgar et al., publicaram recentemente (2020) um artigo de revisão que compara intervalos de referência para %-IPF em adultos. Na Tabela 2 encontra-se um resumo com alguns dados coletados pelo grupo de autores ($n \geq 120$ e ano ≥ 2013). Destas referências, presentes na Tabela 2, destaca-se o trabalho publicado por Morkis et al. (2016). De todas as publicações, esta foi a única onde o Brasil foi o país de origem da população alvo. Um intervalo de referência compreendido entre 0,8 e 5,5% com mediana igual a 2,2 foi reportado, o que corrobora os resultados obtidos no presente estudo.

Tabela 2 – Levantamento bibliográfico dos intervalos de referência encontrados para %-IPF.

Referência	N	Intervalo (IPF, %)
Morkis et al., 2016	132	0,8 a 5,5
Sachdev et al., 2014	945	0.3 a 8.7
Joergensen e Bathum, 2016	1674	1.3 a 9
Ko et al., 2014	2104	1 a 7,3
Yang et al., 2017	2179	0,6 a 8,2
Ali et al., 2017	2292	1.6 a 10.1
Pereira et al., 2021	187	2,3 a 4,4

Fonte: Tabela adaptada de Benlachgar et al., 2020

Na tabela 2 também foi acrescentado o estudo mais recente feito no Brasil sobre valor de referência para %-IPF em que se pode observar que, apesar do número de amostras utilizadas ser semelhante ao do presente estudo, os intervalos de referência foram discrepantes, o que reforça a necessidade de aprimorar a pesquisa com um maior número de pessoas para confirmação do valor de referência obtido.

Ressalta-se que, mesmo quando se obtêm resultados semelhantes a outros estudos, é preciso que cada laboratório forme o seu próprio valor de referência, conforme previsto pelo Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial (PALC-SBPC/ML). Este é um grupo formado por auditores especializados em verificar se os laboratórios clínicos estão dentro dos critérios requeridos pela Norma PALC, uma norma criada com base em práticas internacionais de medicina laboratorial, que é constantemente atualizada. A versão PALC de 2021, item 9.7, aborda a necessidade que o laboratório tem em avaliar se os valores fornecidos como referência pelo fabricante dos equipamentos são apropriados para a população atendida pelo local, sendo ainda de responsabilidade do laboratório informar aos médicos quais são os intervalos de referência adequados (NORMA PALC, 2021).

2.3.1 Caso clínico

A seguir está um caso clínico de uma paciente que não foi utilizado para a elaboração do intervalo de referência (colocado neste trabalho apenas para demonstrar o uso do intervalo de referência encontrado no presente estudo para %-IPF). A utilização dos dados foi autorizada pela paciente. Neste caso clínico destacam-se o alto valor de %-IPF juntamente com outras evidências (comparação entre PLT-I e PLT-O, presença de macroplaquetas e de plaquetas gigantes) que mostram que a maior parte das plaquetas circulantes da paciente são imaturas.

Mulher, 45 anos com PTI crônica corticoide refratária, esplenectomizada. Tem metrorragia e não apresenta resposta a imunoglobulina. Exames recentes indicam: PLT-I: 5.000/ μ L; PLT-O: 45.000/ μ L, IPF: 79,8. O equipamento não conseguiu calcular o VPM. Distensão sanguínea com plaquetas gigantes e numerosas macroplaquetas.

O %-IPF aumentado indica que MO está sendo capaz de produzir novas plaquetas, então a trombocitopenia está sendo causada por consumo periférico (OLIVEIRA, 2018). O valor da IPF ainda não está disponível para os médicos (por ainda ser um parâmetro de pesquisa) e no laudo aparece apenas um valor para contagem plaquetária (sendo este por metodologia óptica ou por impedância). No entanto, ao se fazer uma análise dos valores encontrados no resultado, o valor da %-IPF é coerente com o quadro clínico de PTI, no qual, os autoanticorpos destroem as plaquetas da paciente e a MO responde produzindo novas plaquetas. Apesar disso, com a evidente plaquetopenia, percebe-se que a MO não está conseguindo compensar a destruição (MELO; SILVEIRA, 2015).

Além disso, é perceptível que o resultado da contagem por impedância foi menor do que aquele obtido por metodologia óptica e a justificativa mais provável para a discrepância é a limitação desta técnica que classifica as células apenas de acordo com o tamanho e, uma vez que as plaquetas imaturas são maiores, provavelmente elas foram classificadas erroneamente como hemácias, enquanto a tecnologia óptica, por utilizar um fluorocromo que cora somente o RNA contido dentro das plaquetas, faz com que todas elas sejam contadas independentemente do tamanho (ALAJO SARZOSA, 2019).

Nos equipamentos comercializados pela Mindray não há especificação de qual seja a substância presente nesse corante, pois se trata de um reagente patenteado, porém em equipamentos de outras marcas, são utilizados como reagentes fluorescentes a oxazina e a polimetina (BARREIRO, 2021; PEREIRA, 2022).

A distensão sanguínea também mostra a presença de macroplaquetas. Esta é mais uma evidência de que a maior parte das plaquetas na circulação sanguínea da paciente são imaturas.

Para pacientes com resultados semelhantes no hemograma, sem diagnóstico concluído para PTI, a %-IPF (que reflete a produção plaquetária na MO) poderia condicionar o médico a pedir primeiramente exames direcionados para doenças que provoquem consumo plaquetário periférico, o que possivelmente evitaria exames mais invasivos e dolorosos para o paciente como a biópsia de MO para avaliar o funcionamento dela. Apesar disso, ainda não há esclarecimentos na literatura sobre essa vantagem.

3. CONCLUSÃO

Segundo os resultados apresentados, a %-IPF pode auxiliar no diagnóstico de plaquetopenias e é recomendado que cada laboratório crie um intervalo de referência próprio para a %-IPF, considerando informações como o seu “n” populacional, as particularidades epidemiológicas da clientela, os critérios de exclusão (citados anteriormente) e a metodologia mais adequada ao porte e custos do laboratório. Para a população do presente estudo, o valor de referência encontrado para %-IPF foi de 0,9 a 4,3(%). No entanto, com o intuito de aprimorar os resultados obtidos, foi submetida uma emenda desse estudo para que pudesse ser incluído um maior número de participantes hígidos, como doadores de sangue, visando aumentar a representatividade da amostra e consequentemente a precisão dos valores de referência para implantação destes no HUPE.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINI, D. **Polimorfismos no sistema imune e a formação de inibidores anti-fator VIII em pacientes com hemofilia a grave do Rio Grande do Sul**. 2011. 98 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular). UFRGS, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <<https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/90486/000912609.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em: 12 dez. 2022.
- ALAJO SARZOSA, E. P. **Recuento plaquetario en pacientes con trombocitopenia mediante la comparación de dos métodos: impedancia y plaquetas ópticas del Hospital de Especialidades de las Fuerzas Armadas N°1 – Quito, durante el periodo junio a diciembre del 2018**. 2019. 73 f. Projeto de trabalho (Licenciatura em Laboratório Clínico e Histológico) - Universidad Central Del Ecuador, Quito, 2019. Disponível em: <<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/19248>> Acesso em: 17 dez. 2022.
- ALI, U. et al. Reference intervals for absolute and percentage immature platelet fraction using the Sysmex XN-10 automated haematology analyser in a UK population. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, [S.l.], v. 77, n. 8, p. 658-664, nov. 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00365513.2017.1394488>> Acesso em: 28 dez. 2022.
- ALMEIDA, L. L. Z. de. **Anemia aplástica**. 2020. 15 f. Artigo de Conclusão de Curso (Pós-Graduação em Hematologia Clínica e Laboratorial com Extensão em Banco de Sangue) - Academia de Ciência e Tecnologia (AC&T), São Jose do Rio Preto, SP, 2020. Disponível em: <https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hematologia/serie_vermelha/anemia_aplastica/6.pdf> Acesso em 15 nov. 2022.
- ANDRADE, J. F. J. **Metabolismo fosfocálcico e as suas implicações ósseas**. 2020. 265 f. Relatório de estágio (Mestrado em Análises Clínicas), Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Lisboa, 2020 Disponível em:<<https://repositorio.ul.pt/handle/10451/54074> >. Acesso em 15 nov. 2022.
- BARREIRO, C. M. A. **O laboratório em Geriatria**. 2021. 183 f. Relatório de estágio (Mestrado em análises clínicas) - Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Lisboa, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/54790/1/TM_Catarina_Barreiro.pdf> Acesso em: 12 dez. 2022.
- BENEDITO, S. S. **Influência do envelhecimento das células-tronco mesenquimais na autorrenovação, diferenciação e multipotência de células-tronco hematopoéticas**. 2016. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5146/tde-17112016-162226/publico/SuzanadaSilvaBenedito.pdf>> Acesso em 10 dez. 2022.
- BENLACHGAR, N. et al. Immature platelets: a review of the available evidence. **Thrombosis Research**, [S.l.], v. 195, p. 43–50, jul. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.06.048>> Acesso em: 17 dez. 2022
- BERNUSSO, V. A. **Estudo do papel da ARHGAP21 durante a diferenciação megacariocítica e no processo hemostático**. 2021. 94f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2021.

BRITO JUNIOR, L. Validação do analisador hematológico Mindray BC6000 para a contagem de eritroblastos em sangue periférico. **J Bras Patol Med Lab**, Belém v.58 p.1-6. 2022. Disponível em:

<<https://www.scielo.br/j/jbpm/a/JdTxL67L4P7N8mQhMP7PghK/?format=pdf&lang=pt#:~:text=Conclus%C3%A3o%3A%20A%20valida%C3%A7%C3%A3o%20proposta%20mostrou,os%20gr%C3%A1ficos%20gerados%20pelo%20equipamento.>> Acesso em 15 nov. 2022.

BUTTARELLO, M. et al. Reticulated platelets and immature platelet fraction: Clinical applications and method limitations. **International Journal of Laboratory Hematology**, [S.l.], v. 42, n. 4, p. 363-370, mar. 2020. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32157813/>> Acesso em: 10 nov. 2022.

CAGNOLATI, D. et al. **Hemostasia e distúrbios da coagulação**. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto -USP, Ribeirão Preto, SP, 2017. Disponível em:

<https://sites.usp.br/dcdp/wp-content/uploads/sites/273/2017/05/hemostasia_revisado.pdf> Acesso em 7 nov. 2022.

CASTRO, H. C. et al. Plaquetas: ainda um alvo terapêutico. **J Bras Patol Med Lab**, [S.l.], v. 42, n. 5, p. 321-332, out. 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1676-24442006000500004>> Acesso em: 7 nov. 2022.

CERAN, E. et al. Pseudothrombocytopenia Inducing Nonindicated Platelet Transfusion after Cardiac Surgery. **Case Reports in Medicine**, [S.l.], v. 2021, n. 3695407, mar. 2021.

Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2021/3695407>> Acesso em: 25 nov. 2022.

COMAR, S. R.; DANCHURA, H. S. M.; SILVA, P. H. Contagem de plaquetas: avaliação de metodologias manuais e aplicação na rotina laboratorial. **REVISTA BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA**, [S.l.], v. 31, n. 6, 2009. Disponível em:

<<https://www.scielo.br/j/rbhh/a/cndbHDvv48QP7PPL4ZBRpXF/?lang=pt>> Acesso em: 10 nov. 2022.

COSTA, B. M. B. et al. Plaquetograma: relato de caso de pseudotrombocitopenia. **J Bras Patol Med Lab**, [S.l.], v. 56, n. 1, p. 1-4, jan. 2020. Disponível em:

<<https://jbpm.org.br/article/3558/>> Acesso em: 7 nov. 2022.

DINIZ, C. C. E. **A automação no hemograma e sua evolução**, 2015, 86 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia) Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2015. Disponível em:

<<http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/xmlui/handle/riufcg/9145?locale-attribute=fr>>. Acesso em: 15 nov. 2022.

DZIRBA, T. A. et al. Análise comparativa de contagens de plaquetas entre metodologias de impedância e óptica em amostras de sangue de indivíduos hospitalizados. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [S.l.], v. 50, n. 2, p. 174-178, nov. 2018. Disponível em: <

<http://fi-admin.bvsalud.org/document/view/5erxx>> Acesso em: 7 nov. 2022.

FANG, C. H. et al. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. **Formosan Journal of Surgery**, [S.l.], v. 48, n. 3, p. 107–109, jun. 2015. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.fjs.2015.01.003>> Acesso em: 17 dez. 2022.

FARIAS, M. G.; DAL BÓ, S. Importância clínica e laboratorial do volume plaquetário médio. **J Bras Patol Med Lab**, [S.l.], v. 46, n. 4, p. 275-281, ago. 2010. Disponível em: <

<https://doi.org/10.1590/S1676-24442010000400003>> Acesso em: 7 nov. 2022.

FERREIRA, C. N. et al. O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações. **Revista Brasileira De Hematologia E Hemoterapia**, [S.l.], v. 32, n. 5, p. 416-421, 2010. Disponível em: < <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010000500016> > Acesso em: 12 dez. 2022.

GONÇALVES, T. C. **Análise comparativa das metodologias de contagem manual e automatizada de plaquetas em plaquetopenias**. 2019. 71 f. Dissertação. (Mestrado em Mestrado Profissional em Hemoterapia e Biotecnologia) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão preto, São Paulo, 2019. Disponível em: <<https://teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17155/tde-11022020-170730/pt-br.php>>. Acesso em: 5 set. 2022.

GROTTO, H. Z. W. O hemograma: importância para a interpretação da biópsia. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** [S.l.], v. 31, n. 3, p. 178-182, jan. 2009. Disponível em: < <https://doi.org/10.1590/S1516-848420090005000045> > Acesso em: 3 dez. 2022.

GUO, T. et al. Megakaryopoiesis and platelet production: insight into hematopoietic stem cell proliferation and differentiation. **Stem Cell Investigation**, Shenzhen, China. v. 2, n. 3, fev. 2015. Disponível em: <<https://sci.amegroups.com/article/view/5718/6521>>. Acesso em 15 nov. 2022.

HOFFBRAND, A. V.; MOSS, P. A. H. **Fundamentos em hematologia**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

JEON, K. et al. Immature platelet fraction: A useful marker for identifying the cause of thrombocytopenia and predicting platelet recovery. **Medicine (United States)**, [S.l.], v. 99, n. 7, fev. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1097/MD.00000000000019096>> Acesso em: 22 nov. 2022.

JOERGENSEN, M. K.; BATHUM, L. Reference intervals for mean platelet volume and immature platelet fraction determined on a sysmex XE5000 hematology analyzer. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, [S.l.], v. 76, n. 2, p. 172-176, Fev. 2016. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/00365513.2015.1124448>> Acesso em: 28 dez. 2022.

JUNG, H. et al. Immature platelet fraction: Establishment of a reference interval and diagnostic measure for thrombocytopenia. **Korean J Lab Med**, [S.l.], v. 30, n. 5, p. 451–459, out. 2010. Disponível em: < <https://doi.org/10.3343/kjlm.2010.30.5.451> > Acesso em: 25 nov. 2022.

KICKLER, T. S.; OGUNI, S.; BOROWITZ, M. J. A Clinical Evaluation of High Fluorescent Platelet Fraction Percentage in Thrombocytopenia. **Am J Clin Pathol**, [S.l.], v. 125, n.2, p. 282-287, fev. 2006. Disponível em:< <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16393688/> >. Acesso em 25 nov. 2022.

KISHIMOTO, M. S. C.; PASSOS, B. C. **Estudos das indicações clínicas de esplenectomia em pacientes do Hospital Regional da Asa Norte no período de 2014 a 2018**. 2020. 33 f. Relatório final (Iniciação Científica) - Centro Universitário de Brasília – UniCEUB, Brasília, 2020. Disponível em: <<https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/prefix/16034/1/ESTUDOS%20DAS%20INDICA%C3%87%C3%95ES%20CL%C3%84NICAS%20DE%20ESPLENECTOMIA%20EM%20PACIENTES%20DO%20HOSPITAL%20REGIONAL%20DA%20ASA%20NORTE%20NO%20PER%C3%8DODO%20DE%202014%20A%202018.pdf>> Acesso em: 12 dez. 2022.

KO, Y. J. et al. Reference interval for immature platelet fraction on Sysmex XN hematology analyzer: a comparison study with Sysmex XE-2100. **Clin Chem Lab Med**, [S.l.], v. 53, n. 7, p. 1091–1097, dez. 2014. Disponível em: <<https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2014-0839/html>> Acesso em: 17 dez. 2022.

KÜHNE, T. et al. Newly diagnosed immune thrombocytopenia in children and adults: a comparative prospective observational registry of the intercontinental cooperative immune thrombocytopenia study group. **Haematologica**, v. 96, n. 12, p. 1831–1837, dez. 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.3324/haematol.2011.050799>> Acesso em: 7 nov. 2022.

LE MOS, C. F. **Função clássica das plaquetas na hemostasia e sua participação em processos dinâmicos do organismo**. 2015. 15 f. Academia de Ciência e Tecnologia, São José do Rio Preto, SP, 2015. Disponível em: <https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hematologia/plaquetas_coagulopatias/alteracao_plaquetas/10.pdf> Acesso em: 20 ago. 2022.

LIMA, S.W. **Índices Plaquetários**: aliados na plaquetometria. 2019. 8 f. Trabalho de conclusão de curso (Especialização Latu-sensu em Hematologia e Banco de Sangue) - Academia de Ciência e Tecnologia (ACT), São José do Rio Preto, 2019. Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hematologia/plaquetas_coagulopatias/alteracao_plaquetas/25.pdf>. Acesso em: 5 set. 2022.

LORENZI, T. F. **MANUAL DE HEMATOLOGIA**: Propedêutica e Clínica. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

LOURENÇO, D. M. Púrpura Trombocitopênica Imunológica. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. Pg 11-14. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. Capítulo 63, p. 605-611.

LÜNEBURG, N. et al. Reference Intervals for Plasma L-Arginine and the L-Arginine: Asymmetric Dimethylarginine Ratio in the Framingham Offspring Cohort. **The Journal of Nutrition**, [S.l.], v. 141, p. 2186–2190, out. 2011. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jn/article/141/12/2186/4689012>> Acesso em: 28 dez. 2022.

MELO, M. A. W. de et al. **Plaquetas e a Hemostasia**: aspectos clínicos e laboratoriais. 1ª ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2023.

MELO, M. A. W. de; SILVEIRA, C. M. **Laboratório de Hematologia**: Teorias, Técnicas e Atlas. Rio de Janeiro: Rubio, 2015.

MINDRAY. **BC-6200 Analisador Automático de Hematologia**: Manual do operador, 2018.

MORKIS, I. V. C.; FARIAS, M. G.; SCOTTI, L. Determination of reference ranges for immature platelet and reticulocyte fractions and reticulocyte hemoglobin equivalent. **Rev Bras Hematol Hemoter**, [S.l.], v. 38, n. 4, p. 310-313, out./dez. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S151684841630072X?via%3Dihub>> Acesso em: 28 dez. 2022.

OLIVEIRA, A. B. de. **Novos parâmetros do hemograma automatizado**. 2018. 26 f. Trabalho de conclusão de curso - Academia de Ciência e Tecnologia, Catanduva, SP, 2018. Disponível em: <https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hematologia/padronizacoes_hemato/10.pdf> Acesso em: 12 dez. 2022.

PADILHA, C.K.C. **Características Laboratoriais da Púrpura Trombocitopênica Imunológica: uma breve revisão**. 2015. 8 f. Artigo de revisão bibliográfica (Especialização) - Academia de Ciência e Tecnologia, São José do Rio Preto, 2015. Disponível em: <https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hematologia/plaquetas_coagulopatias/alteracao_plaquetas/11.pdf> Acesso em: 12 dez. 2022.

PAIVA, H. H.; REGO, E. M. Hematopoiese: Regulação e Microambiente. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. Pg 11-14. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. Capítulo 2, p. 11-14.

PEREIRA, K. N. **Avaliação da Fração de Plaquetas Imaturas para o diagnóstico da Trombocitopenia Imune e sua relação com a gravidade da COVID-19**. 2022. 92 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2022. Disponível em: <<https://repositorio.ufsm.br/handle/1/27403>> Acesso em: 17 dez. 2022.

PEREIRA, K. N. et al. Diagnostic characteristics of immature platelet fraction for the assessment of immune thrombocytopenia. **Thrombosis Research**. [S.l.], v. 202, p. 125-127, jun. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2021.03.023>> Acesso em: 28 dez. 2022.

PINTO, R. V. L. **Análise do Volume Plaquetário Médio (VPM) em pacientes com obesidade: a influência do EDTA após coleta**. 2017. 60 f. Dissertação (Mestrado em Saúde, Medicina Laboratorial e Tecnologia Forense) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: <<http://www.bdt.d.uerj.br/handle/1/14999>>. Acesso em: 28 dez. 2022.

REEVES, H. M.; MAITTA, R. W. Immature Platelet Dynamics in Immune-Mediated Thrombocytopenic States. **Frontiers in Medicine**. [S.l.], v. 7, n. 597734, dez. 2020. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2020.597734/full>> Acesso em: 22 nov. 2022.

ROMERO, H. A. B. et al. **Caracterización clínica y epidemiológica de pacientes pediátricos críticamente enfermos con trombocitopenia**. 2019. 62 f. Tese (Graduação em medicina) - Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala, 2019. Disponível em: <<https://biblioteca.medicina.usac.edu.gt/tesis/pre/2019/012.pdf>> Acesso em: 3 dez. 2022.

SACHDEV, R. et al. Establishing biological reference intervals for novel platelet parameters (immature platelet fraction, high immature platelet fraction, platelet distribution width, platelet large cell ratio, platelet-X, plateletcrit, and platelet distribution width) and their correlations among each other. **Indian J Pathol Microbiol**. Gurgaon, Haryana, India, v. 57, n. 2, p. 231-235, jun. 2014. Disponível em: <<https://www.ijpmonline.org/text.asp?2014/57/2/231/134676>> Acesso em: 28 dez. 2022.

SILVA, F. L. **Diagnóstico e Tratamento de Púrpura Trombocitopenia Imune: uma revisão literária**. 2014. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/598?mode=full&locale=pt_BR> Acesso em: 7 nov. 2022.

SOARES, et. al. Alterações do sistema hemostático nos pacientes com diabetes melito tipo 2. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**, Belo Horizonte, v. 32, n. 6, p.482-488, 2010. Disponível em:< <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010000600013>> Acesso em: 10 dez. 2022.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA / MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). **Norma PALC 2021**: Norma do Programa de Acreditação de Laboratório Clínicos. Brasil, 2021. Disponível em: <<https://bibliotecasbpc.org.br/index.php?P=4&C=0.5.42>> Acesso em: 17 dez. 2022.

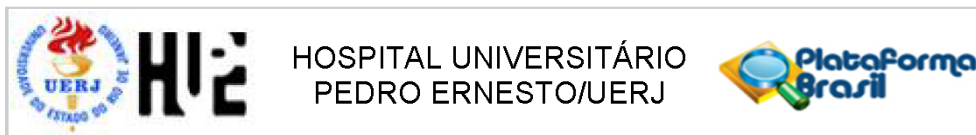
SUNDARMURTHY, D.; JAYANTHI, C. R.; LAKSHMAIAH, K. C. Effect of Carica papaya leaf extract on platelet count in chemotherapy-induced thrombocytopenic patients: A preliminary study. **National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology**. [S.l.], v. 7, n. 7, p. 685-692, 2017. Disponível em: <<https://www.njppp.com/?mno=257792>> Acesso em: 17 dez. 2022.

VIANA, R. G. **Perfil dos usuários de corticoides de uma farmácia comunitária do município de Fortaleza-CE**. 2020. 34 f. TCC (Bacharelado em farmácia) – UNIFAMETRO, Fortaleza, 2020. Disponível em: <https://repositorio.unifametro.edu.br/bitstream/123456789/335/1/RAFAEL%20GOMES%20VIANA_TCC.pdf> Acesso em: 3 dez. 2022.

WHALEN, K.; FINKEL, R.; PANAVELIL, T. A. **Farmacologia ilustrada**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

YANG, B. et al. Establishment of reference interval for immature platelet fraction using Sysmex XN9000 hematology analyzer in Anhui province in China. **Int J Clin Exp Med**. [S.l.], v. 10, n. 2, p. 4214-4220, fev. 2017. Disponível em: <<https://e-century.us/files/ijcem/10/2/ijcem0043966.pdf>> Acesso em: 28 dez. 2022.

ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Validação e implantação de valores de referências dos novos parâmetros plaquetários no laudo do hemograma em um hospital público no Rio de Janeiro

Pesquisador: ROBERTO SIRIGNI MOREIRA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 58289921.5.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

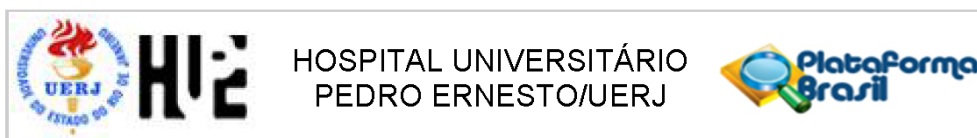
DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.504.684

Apresentação do Projeto:

Transcrição editada do conteúdo registrado do protocolo "Nome do Arquivo: PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1846660" e dos arquivos anexados à Plataforma Brasil. Participarão deste projeto 200 pacientes oriundos do ambulatório do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE-UERJ). A Inclusão dos pacientes da pesquisa obedecerá aos seguintes critérios: Pacientes adultos e hígidos de ambos os sexos cujos valores das plaquetas estejam dentro dos valores normais conhecidos em literatura, histograma plaquetário sem alterações e contagem de leucócitos entre 5.000 a 12.000 e VCM (volume corpuscular médio) entre 80 e 100 fl. A Exclusão dos pacientes da pesquisa obedecerá aos seguintes critérios: Pacientes diabéticos, hipertensos e com doenças inflamatórias. A venopunção será realizada entre o horário das 07 às 11 horas, com o paciente sentado na cadeira de coleta, após responder ao formulário de coleta contendo dados como idade, sexo, peso, altura e uso de medicamentos além do termo de consentimento livre e esclarecido. As análises serão realizadas no serviço de laboratório, setor de hematologia, em analisadores hematológicos BC 6200 comercializado pela Mindray, devidamente calibrado conforme os procedimentos informados no manual do fabricante, este equipamento libera a contagem total de

Endereço: Av. 28 de setembro, nº77 - CePeM - Centro de Pesquisa Clínica Multiusuário - 2º andar/sala nº 28 - prédio
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **E-mail:** cep@hupe.uerj.br



Continuação do Parecer: 5.504.684

plaquetas e os demais parâmetros plaquetários que serão utilizados na pesquisa através de uma acurada contagem óptica em dois ângulos com utilização de fluorescência e pelo método de impedância. O método ótico com fluorescência é feito num canal separado da impedância e adota a tecnologia de análise celular SF CUBE (análise 3D usando informações do difusor de luz laser em dois ângulos e sinais fluorescentes). O princípio de medição geral deste canal consiste na esferilização das plaquetas com o diluente contendo a fluorescência sendo assim, o ácido nucleico presente nas plaquetas são tingidos por corantes fluorescentes (Mindray, 2018). Os resultados obtidos serão expressos como média $\pm$ desvio padrão da média com auxílio do programa GraphPad Prisma 5 para Windows.

Objetivo da Pesquisa:

Criar e implantar valores de referência para o IPF e para os demais parâmetros plaquetários no laudo do hemograma.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A coleta de sangue pode causar uma mancha roxa e dolorosa no local da punção que melhora com o passar de poucos dias.

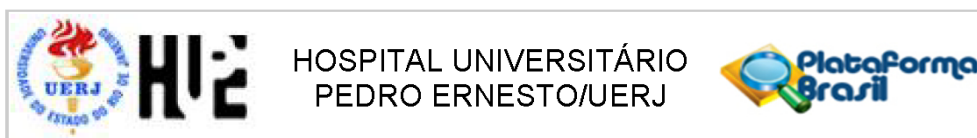
Benefícios:

Não há benefícios diretos relacionados com a sua participação, mas nos ajudará validar e implantar valores de referência dos novos parâmetros plaquetários.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto tem por objetivo determinar os valores de referência dos parâmetros plaquetários do Serviço de Laboratório no setor de Hematologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE-UERJ), bem como implantar esses valores de referência no laudo do hemograma auxiliando o clínico frente a casos de trombocitopenias e trombocitoses, utilizando como critérios os valores de referência dos índices plaquetários, além das mensagens e histograma emitidos pelo contador hematológico. A pesquisa está bem estruturada e o referencial teórico e metodológico estão explicitados, demonstrando aprofundamento e

Endereço: Av. 28 de setembro, nº77 - CePeM - Centro de Pesquisa Clínica Multiusuário - 2º andar/sala nº 28 - prédio
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **E-mail:** cep@hupe.uerj.br



Continuação do Parecer: 5.504.684

conhecimento necessários para sua realização. As referências estão adequadas e a pesquisa é exequível. Foram avaliadas as informações contidas na Plataforma Brasil e as mesmas se encontram dentro das normas vigentes e sem riscos iminentes aos participantes envolvidos na pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram analisados os seguintes documentos de apresentação obrigatória:

- 1) Folha de Rosto para pesquisa envolvendo seres humanos: Documento devidamente preenchido, datado e assinado
- 2) Projeto de Pesquisa: Adequado
- 3) Orçamento financeiro e fontes de financiamento: adequado/apresentado
- 4) Termo de Consentimento Livre e Esclarecido: Adequado
- 5) Cronograma: Adequado
- 6) Documentos pertinentes à inclusão do HUPE: Adequado
- 7) Currículo do pesquisador principal e demais colaboradores: anexados e conforme as normas.

Os documentos de apresentação obrigatória foram enviados a este Comitê, estando dentro das boas práticas e apresentando todos dados necessários para apreciação ética e tendo sido avaliadas as informações contidas na Plataforma Brasil e as mesmas se encontram dentro das normas vigentes e sem riscos iminentes aos participantes envolvidos na pesquisa.

Recomendações:

Acrescentar no TCLE:

Contato CEP - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - AV. VINTE E OITO DE SETEMBRO, nº77 - CePeM - Centro de Pesquisa Clínica Multiusuário - 2º andar/sala 28, prédio anexo ao Hospital Universitário Pedro Ernesto - VILA ISABEL - CEP 20551-030 - Telefone: 21 2868-8253 - E-mail.: cep@hupe.uerj.br - Atendimento ao público de segunda-feira a sexta-feira das 13:00-16:00h.

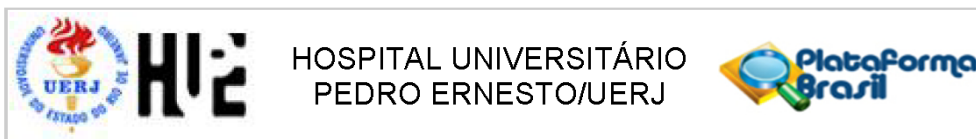
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto pode ser realizado da forma como está apresentado. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, o projeto pode ser enquadrado na categoria – APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em consonância com a resolução CNS 466/12 e a Norma Operacional CNS 001/13, o CEP recomenda ao O projeto pode ser realizado da forma como está apresentado. Pesquisador:

Endereço: Av. 28 de setembro, nº77 - CePeM - Centro de Pesquisa Clínica Multiusuário - 2º andar/sala nº 28 - prédio
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **E-mail:** cep@hupe.uerj.br



Continuação do Parecer: 5.504.684

Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e no termo de consentimento livre e esclarecido, para análise das mudanças; Informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa; O Comitê de Ética solicita a V. Sª., que encaminhe relatórios parciais de andamento a cada 06 (seis) Meses da pesquisa e ao término, encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto; Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1846660.pdf	30/03/2022 08:14:54		Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	26/10/2021 10:36:09	ROBERTO SIRIGNI MOREIRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	FAPERJ_Projeto.docx	25/10/2021 18:35:35	ROBERTO SIRIGNI MOREIRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Termo_de_consentimento.odt	25/10/2021 13:13:02	ROBERTO SIRIGNI MOREIRA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 01 de Julho de 2022

Assinado por:
WILLE OIGMAN
(Coordenador(a))

Endereço: Av. 28 de setembro, nº77 - CePeM - Centro de Pesquisa Clínica Multiusuário - 2º andar/sala nº 28 - prédio
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **E-mail:** cep@hupe.uerj.br

ANEXO B – Modelo do TCLE

Termo de consentimento livre e esclarecido para indivíduos da pesquisa

Número e iniciais do (a) Paciente: _____ / _____

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO LIVRE E ESCLARECIDO – Grupo de voluntários da pesquisa.

ESTUDO: VALIDAÇÃO E IMPLANTAÇÃO DE VALORES DE REFERÊNCIA DOS NOVOS PARÂMETROS PLAQUETÁRIOS NO LAUDO DO HEMOGRAMA EM UM HOSPITAL PÚBLICO NO RIO DE JANEIRO.

Investigador Principal: Dr. Robson de Souza Leão

Sub-Investigadores: Renata Vieira Lima Pinto; Silvana Machareth Santiago

Endereço CEP: Hospital Universitário Pedro Ernesto – Boulevard 28 de setembro, 77 – Vila Isabel.
CEP 20.551-030 – Rio de Janeiro – Telefone: 28688248

INTRODUÇÃO E CONVITE PARA PARTICIPAR:

O Senhor (a) está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa “validação e implantação de valores de referência dos novos parâmetros plaquetários no laudo do hemograma do serviço de laboratório do hospital Universitário Pedro Ernesto de responsabilidade do pesquisador Robson de Souza Leão.

Antes de concordar em participar desta pesquisa, é importante que o senhor (a) leia e entenda as explicações abaixo:

- Este projeto tem por objetivo validar e implantar valores de referência dos novos parâmetros plaquetários no laudo do hemograma.
- Os resultados do hemograma e os exames bioquímicos dos participantes da pesquisa serão utilizados para a criação deste valor de referência.
- A participação neste estudo é voluntária e se você decidir não participar ou quiser desistir de continuar em qualquer momento da pesquisa terá o seu direito respeitado.

OBJETIVO DO ESTUDO:

VALIDAR E IMPLANTAR OS VALORES DE REFERÊNCIA DOS NOVOS PARÂMETROS PLAQUETÁRIOS NO LAUDO DO HEMOGRAMA DO SERVIÇO DE LABORATÓRIO VINCULADO AO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO.

CONSULTAS E EXAMES DO ESTUDO:

A – Depois que o Senhor (a) concordar em participar e assinar este termo de consentimento livre e esclarecido será feita coleta de sangue (cerca de 5 ml) em tubo de EDTA e tubo de soro, para a realização do hemograma a fim de validar e implantar o parâmetro de interesse deste estudo e o tubo de soro para exames bioquímicos.

B – Os exames de sangue serão coletados no laboratório Cápsula da Policlínica Piquet Carneiro e as análises serão no serviço de laboratório do Hospital Pedro Ernesto no setor de hematologia.

SUAS RESPONSABILIDADES

O (A) Sr (a) deverá informar ao profissional do estudo se tem alguma doença ou se faz uso regular de alguma medicação.

RISCOS RELACIONADOS AO ESTUDO

A coleta de sangue pode causar uma mancha roxa e dolorosa no local da punção que melhora com o passar de poucos dias.

BENEFÍCIOS

Não há benefícios diretos relacionados com a sua participação, mas nos ajudará validar e implantar valores de referência dos novos parâmetros plaquetários.

RESSARCIMENTO DE DESPESAS

Não haverá nenhum tipo de compensação financeira para os participantes da pesquisa. Por outro lado, a coleta de sangue será realizada na Policlínica Piquet Carneiro sem nenhum custo e no horário de sua conveniência.

CONFIDENCIALIDADE

O pesquisador do estudo coletará informações a seu respeito. Em todos esses registros um código substituirá seu nome. Todos os dados coletados serão mantidos de forma confidencial e serão usados para a avaliação do estudo. Os dados podem ser submetidos às autoridades de saúde, do Comitê de Ética em Pesquisa ou outras pessoas exigidas por lei podem revisar os dados fornecidos. Estes dados também podem ser usados em publicações médicas sobre os resultados do estudo. Porém, sua identidade não será revelada em qualquer relatório do estudo ou publicações médicas.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA/RETIRADA

Sua participação neste estudo é completamente voluntária. Cabe ao(a)Sr(a) decidir se quer participar ou não. Mesmo se decidir participar, o(a)Sr(a) É livre para desistir do estudo a qualquer momento sem dar um motivo ou explicação. Isto não afetará seu cuidado médico futuro de qualquer forma.

ANUÊNCIA PARA FAZER PARTE DO ESTUDO

Assinando este documento você concorda que:

- ☐ Você teve chance para fazer perguntas.
- ☐ Você é voluntário (a) para participar deste estudo.

EU CONCORDO LIVREMENTE EM PARTICIPAR DESTE ESTUDO

Assinatura do Paciente Data:

Nome por escrito do Paciente:

Assinatura de Pessoa que Explicou o Consentimento:

Data:

Nome e título da Pessoa que Explicou o Consentimento:
