

Valores de referência dos índices plaquetários e construção de algoritmo para liberação do plaquetograma

Reference values for the platelet indices and algorithm for plateletgram evaluation

Leila Monteiro¹

Resumo

Objetivo: Determinar os valores de referência do plaquetograma no serviço de Hematologia do Laboratório Central do Hospital Universitário Oswaldo Cruz de Pernambuco, bem como criar um algoritmo para revisão de lâminas em casos de trombopenias e trombocitoses, utilizando como critérios os valores de referência dos índices plaquetários, além das mensagens e histograma emitidos pelo contador hematológico. **Métodos:** O presente estudo foi realizado a partir das informações obtidas no banco de dados do equipamento Sysmex XT 1800, contador hematológico que utiliza impedância elétrica e laser como metodologia para contagem de células. Foram selecionados 258 hemogramas de pacientes atendidos no ambulatório do Laboratório Central do Hospital Universitário Oswaldo Cruz, com contagem de plaquetas entre 150 e 450 mil/mm³, a fim de se calcularem os valores de referência de todos os índices plaquetários. Os valores de referência foram calculados a partir da média de cada parâmetro, mais ou menos dois desvios padrões. O algoritmo para liberação do plaquetograma foi construído a partir dos valores de referência obtidos para cada índice, em conjunto com a interpretação das mensagens e do histograma emitidos pelo equipamento XT 1800. **Resultados:** Os valores de referência encontrados foram próximos àqueles encontrados na literatura, sendo ainda necessários outros estudos de correlação para valorizar ainda mais o uso desses índices na rotina laboratorial e nos laudos de hemograma. **Conclusão:** A determinação dos valores de referência dos índices plaquetários, bem como a construção do algoritmo para revisão de lâmina dos plaquetogramas, contribuíram para otimização da rotina laboratorial e valorização clínica do plaquetograma.

Palavras-chave

Contagem de Plaquetas; Plaquetas; Trombocitopenia; Trombocitose; Algoritmo

INTRODUÇÃO

A evolução da automação na hematologia introduziu na rotina laboratorial diversos parâmetros. Dentre essas novas ferramentas, aquelas relacionadas às plaquetas, apesar de já serem disponibilizadas pela maioria dos contadores hematológicos de última geração, ainda são pouco compreendidas e utilizadas tanto na prática médica, como laboratorial, devido à dificuldade de padronização.⁽¹⁾

Esses parâmetros compõem o chamado Plaquetograma (em analogia à denominação dada ao eritograma e leucograma) e consiste de quatro índices plaquetários, além da contagem de plaquetas.⁽²⁾ Estes índices são PCT – plaquetócrito, PDW – Amplitude de variação do tamanho das plaquetas, MPV – volume plaquetário médio e P-LCR

– percentual de plaquetas grandes (com volume maior que 12 fL).⁽²⁾

Destes, o mais conhecido e algumas vezes presente no laudo é o MPV. Este índice representa a média dos volumes de todas as plaquetas contadas e avaliadas por impedância elétrica na maioria dos contadores automatizados. Dessa forma, os contadores medem as plaquetas e ao contá-las fornecem a média do volume plaquetário, plotando os valores em um histograma.⁽²⁾ Alguns contadores ainda utilizam a metodologia ótica para a contagem de plaquetas e determinação do volume médio plaquetário.⁽³⁾

O MPV apresenta uma correlação inversa com a contagem de plaquetas e representa um importante marcador para a atividade e função plaquetárias, sendo muito importante na avaliação de diversas desordens clínicas de ori-

¹Biomédica. Universidade de Pernambuco – UPE – Recife - PE, Brasil.

Instituição: Universidade de Pernambuco – UPE – Recife - PE, Brasil.

Artigo recebido em 30/08/2016

Artigo aprovado em 26/06/2017

DOI: 10.21877/2448-3877.201700531

gem hematológica ou não, tais como *diabetes mellitus*, infarto agudo do miocárdio, leucemia linfóide aguda, leucemia mieloide aguda, entre outras doenças onco-hematológicas, bem como na avaliação da resposta medular.^(4,5)

O PCT representa o equivalente ao hematócrito para as plaquetas e corresponde ao volume total de plaquetas num determinado volume de sangue e está diretamente relacionado com a contagem de plaquetas e com seu volume.⁽⁶⁾ É fornecido pelos analisadores Sysmex (Roche Diagnóstica®) através do chamado empilhamento virtual. Em outros equipamentos, este índice é calculado a partir do MPV, pela fórmula: $PLT \times MPV$.⁽³⁾

Por outro lado, os outros dois índices, o PDW e o P-LCR, são calculados a partir do histograma de distribuição do tamanho plaquetário. A largura de distribuição até o nível de 20% é o PDW, enquanto que o percentual de plaquetas com volume maior que 12 fL será o P-LCR.⁽³⁾

Na rotina laboratorial, a automação vem contribuindo para dar maior rapidez e precisão nos resultados e a revisão de lâmina, cada vez mais restrita, fica limitada a condições em que se encontram alterações significativas nas contagens globais ou emissão de mensagens de erros, a fim de se confirmarem os resultados.⁽⁷⁾

No caso específico das plaquetas, quando a contagem global está aumentada ou diminuída, uma avaliação em lâmina deve ser realizada com o propósito de ratificar as contagens fornecidas pelos analisadores hematológicos e avaliar a morfologia plaquetária.⁽⁷⁾ Nesta situação, os índices plaquetários em questão podem nortear as decisões quanto à revisão de lâmina na rotina laboratorial.

Além disso, alguns estudos foram realizados comprovando a utilidade e a relação desses parâmetros com diversas condições clínicas. Salto encontrou média de MPV significativamente menor em pacientes com Púrpura Trombocitopênica Imune (PTI) quando comparada com outras condições hematológicas (Leucemias agudas e crônicas, linfoma Hodgkin e Não Hodgkin e Síndrome Mielodisplásica), podendo este índice ser usado como ferramenta orientadora ao diagnóstico de PTI. Neste mesmo estudo também foram observadas diferenças significativas nas médias de PCT entre estes doentes quando comparados ao grupo controle.⁽⁵⁾

Da mesma forma foram evidenciadas diferenças significativas dos valores de MPV, PDW e P-LCR em um grupo de gestantes com pré-eclâmpsia, comparadas a um grupo de gestantes normais, enquanto que não foi evidenciada diferença significativa nas contagens de plaquetas nesses grupos.⁽⁴⁾

Por outro lado, apesar desses estudos, pouco se conhece a respeito dos valores de referência desses índices, sendo talvez este o motivo por serem ainda pouco valorizados na prática laboratorial. Além disso, existem muitas vari-

áveis que interferem nos valores dos índices plaquetários, devido aos quais se torna necessário que os valores de referência sejam estabelecidos para cada serviço. Sustentam esta necessidade a variação na metodologia dos equipamentos e a dinâmica populacional de cada local.⁽⁸⁾

Diante disso, um estudo mais aprofundado desses parâmetros é de suma importância tanto para a classe médica quanto para os profissionais analistas clínicos, que podem fornecer resultados mais completos aos pacientes e médicos assistentes.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo com 258 pacientes ambulatoriais do Hospital Universitário Oswaldo Cruz de Pernambuco (HUOC), atendidos no laboratório central deste hospital com solicitação médica para hemograma entre os meses de julho e setembro de 2013, por meio da consulta ao banco de dados do contador hematológico utilizado em nosso serviço. A consulta em banco de dados envolveu apenas os valores numéricos dos parâmetros plaquetários. Por se tratar de um estudo retrospectivo, a análise de variáveis pré-analíticas, sabidamente conhecidas por interferirem na contagem de plaquetas (tempo de garroteamento, homogeneização, dificuldades da coleta), não foi possível, pois tais informações não constam no banco de dados consultado.

Da mesma forma, a análise do esfregaço sanguíneo foi realizada em tempo oportuno durante a avaliação do hemograma para liberação do resultado, sem, no entanto, terem sido feitas anotações no banco de dados quanto aos achados.

Os pacientes foram selecionados de forma aleatória, excluindo-se aqueles do Centro de Oncologia e do setor de transplantados do hospital. Também não foram separados grupos etários, nem de sexo, tendo em vista que o valor de referência preconizado para contagem de plaquetas é único para ambos os sexos e não varia com a idade.

As amostras de hemograma foram coletadas por punção venosa em tubo contendo anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) e processadas em até duas horas após a coleta, no contador hematológico Sysmex XT 1800 - Roche Diagnóstica®, que utiliza a metodologia de impedância elétrica para contagem de células. As plaquetas são contadas no mesmo canal dos eritrócitos, sendo consideradas plaquetas as células com volume inferior a 20 fL.⁽⁹⁾

Quanto aos índices plaquetários, o PCT é determinado através do número de plaquetas que passam por um orifício com volume e tempo pré-definidos, método conhecido como empilhamento virtual. O MPV é calculado como o quociente entre PCT e a contagem de plaquetas, enquanto que o PDW e P-LCR são calculados a partir do histograma de distribuição de tamanho plaquetário, sendo o primeiro obti-

do no nível de 20% de frequência do histograma, enquanto que o segundo representa o percentual de plaquetas com volume a partir de 12 fL até o limite superior.⁽³⁾

Determinação dos valores de referência dos índices plaquetários

A fim de se determinarem os valores de referência do plaquetograma, foram calculadas as médias e os desvios padrões (DP) para cada um dos parâmetros estudados, considerando apenas os pacientes que apresentaram valores de contagem de plaquetas compreendidas entre 150 a 450 mil/mm³. Os valores de referência foram considerados como média + 2 DP, considerando modelo utilizado em Salto (2012). Para estes cálculos foi utilizado o programa Excel - Microsoft.

Algoritmo para revisão de lâmina

No presente estudo, tendo como base os valores de referência encontrados para os índices plaquetários, foi proposto um algoritmo para revisão de lâminas nos casos de trombopenias e trombocitoses, em avaliação conjunta com o histograma, os alarmes e mensagens liberados pelo equipamento.

Ética

O projeto de pesquisa deste estudo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUOC - Hospital Universitário Oswaldo Cruz, da Universidade de Pernambuco.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação dos valores de referência

Os valores de referência encontrados para a contagem de plaquetas e para os demais parâmetros do plaquetograma estão apresentados na Tabela 1.

No que se refere à contagem de plaquetas, observou-se que o limite inferior na população estudada é menor que o encontrado na literatura, que é de 140 (mil/mm³), enquanto que o limite superior (412 mil/mm³) se mostrou bem próximo ao limite conhecido como normal - 400 mil/mm³.

Tabela 1 - Valores de Referência do Plaquetograma na população estudada

Parâmetros	Média	Desvio padrão	Valores de referência*
Cont. de plaquetas (mil/mm ³)	266,96	72,64	121,66 - 412,26
MPV (fL)	10,19	1,02	8,15 - 12,24
PCT (%)	0,27	0,07	0,13 - 0,41
PDW (fL)	11,95	2,16	7,62 - 16,27
P-LCR (%)	26,37	7,32	11,72 - 41,00

*valores de referência expressos pela média + 2 desvios padrão

Botma et al., em estudo realizado com 60 indivíduos, encontraram valores de referência para a contagem de plaquetas de 178 a 429 (mil/mm³). Em outro estudo, o grupo que apresentou contagem de plaquetas normal apresentou média de 269 (mil/mm³), com variação entre 150 a 445 (mil/mm³).⁽¹⁰⁾ Estes valores também são citados em outras publicações: 140 a 400 ou 140 a 450(mil/mm³), dependendo do método utilizado, por Oliveira⁽⁹⁾ e ainda, de 140 a 360 (mil/mm³) citado por Failace.⁽¹¹⁾

Algumas variáveis pré-analíticas podem interferir na contagem de plaquetas, tais como, dificuldades na coleta, garroteamento prolongado, falta de homogeneização adequada e a proporção de anticoagulante/sangue. Além da possibilidade de pseudotrombopenia por agregação plaquetária em EDTA e satelitismo plaquetário, condições de causa idiopática, que podem ocorrer em alguns pacientes.⁽¹¹⁾ Essas variáveis não foram controladas no presente estudo devido o mesmo ter sido feito com base na consulta do banco de dados. Sendo necessário, portanto, estudos posteriores para se confirmar a hipótese da existência desses interferentes no valor de referência para contagem de plaquetas.

Tanto o MPV quanto o PDW estão relacionados com o tamanho das plaquetas, sendo o primeiro inversamente proporcional à contagem de plaquetas. O tamanho das plaquetas sofre interferência de vários fatores, em especial do anticoagulante utilizado na coleta. O EDTA, anticoagulante de escolha para análises hematológicas, pode induzir alterações na forma e na ultraestrutura das plaquetas, que variam com o tempo e temperatura. Estudos já apontaram que MPV aumenta em decorrência do inchaço plaquetário provocado pelo EDTA, no entanto também foi observado em outros estudos que este inchaço diminui quando a análise é realizada em até duas horas após a coleta.⁽¹¹⁾

Esses parâmetros de volume plaquetário sofrem ainda interferências relacionadas às demais séries sanguíneas, tais como presença de fragmentos eritrocitários ou leucocitários, crioaglutininas, micrócitos, bem como qualquer outra causa que gere debris.⁽¹¹⁾

No presente estudo foram encontrados valores de referência semelhantes aos observados na literatura, indicando que na amostra populacional analisada os possíveis interferentes não foram suficientes para gerar erros significativos na determinação desses índices pelo contador hematológico, estando os mesmos de acordo com o esperado. Comar et al.⁽⁷⁾ relataram que os limites de referência encontrados em estudos publicados foram de 8 fL a 13 fL e 9 fL a 14 fL, respectivamente, para MPV e PDW em contadores Sysmex - Roche Diagnóstica. Da mesma forma, Botma et al.⁽¹⁰⁾ encontraram média do MPV 10,34 fL, com valores de referência entre 8,8 fL a 12,5 fL, enquanto que a média do PDW foi 12,19 fL com variação entre 9,3 fL a 16,0 fL.

O PCT representa a massa plaquetária e não sofre grandes variações com a variação da contagem de plaquetas, diminuindo apenas quando há trombopenias bastante acentuadas, situações em que o organismo não consegue compensar a massa plaquetária.⁽⁶⁾ Esta observação está de acordo com o verificado no nosso estudo, o qual apresentou baixo desvio padrão para este índice (0,07) e valores de referência semelhantes aos encontrados na literatura consultada, que apresentaram valores de 0,22 a 0,40,⁽⁹⁾ 0,13 a 0,43%,⁽¹⁰⁾ enquanto que Giovanetti, Nascimento e Paula⁽⁸⁾ encontraram médias 0,24 (DP=0,07), para mulheres e 0,28 (DP = 0,06) para homens.

O último índice, P-LCR, representa o percentual de plaquetas grandes e apresentou, em nosso estudo, uma variabilidade muito alta, com desvio padrão de 7,32, numa população com contagem de plaquetas normal. Estes valores, tanto da média (26,37), quanto do desvio padrão (7,32) são próximos aos observados por Maluf,⁽³⁾ que observou média 26,99 e desvio padrão de 6,61, com intervalos de referência de 15,8 a 41,6, semelhantes ao encontrado no presente trabalho.

Construção do algoritmo para liberação do plaquetograma

O algoritmo para liberação do plaquetograma foi desenvolvido com o intuito de valorizar a análise do plaquetograma como critério para revisão de lâminas nos casos de trombopenias e trombocitoses, juntamente com a interpretação do histograma e das mensagens emitidas pelo equipamento. Além disso, com o objetivo de ser implantado na rotina do nosso serviço, utilizamos como referência os alarmes emitidos pelos dois equipamentos utilizados em nosso laboratório, XT 1800 e XE 2100, ambos da Sysmex - Roche Diagnóstica® (Tabela 2).

Associando as mensagens, os valores de referência encontrados e o histograma de distribuição plaquetário construímos o fluxograma para uso na tomada de decisões e liberação de resultados em nosso serviço (Figura 1).

Tabela 2 - Mensagens emitidas pelos equipamentos XT 1800 e XE 2100 para a série plaquetária

Mensagens	Significado
PLT Abn. Distribution	Distribuição anormal no histograma
PLT Abn. Scattergram (apenas XE 2100)	Distribuição anormal no histograma
PLT clumps	Agregação plaquetária
Trombocitopenia	Cont. plaquetas abaixo do valor referência do equipamento*
Trombocitose	Cont. plaquetas acima do valor referência do equipamento*

*cada equipamento é configurado pelo usuário. Os nossos são: trombocitopenia < 100 (x103/mm³) e trombocitose > 600 (x103/mm³).



Fluxograma para liberação do plaquetograma com ou sem revisão de lâmina

Os equipamentos utilizados no Serviço de Hematologia do laboratório Central do Hospital Universitário Oswaldo Cruz estão configurados para liberar as mensagens de trombocitopenia e trombocitose com valores abaixo de 100 (mil/mm³) e acima de 600 (mil/mm³), respectivamente. No entanto, como a linearidade dos equipamentos Sysmex para contagem de plaquetas varia de 0 a 5.000 (x103/mm³), consideramos valores alargados para revisão de lâmina, quando a contagem de plaquetas for menor que 50 (mil/mm³) ou maior que 600 (mil/mm³).

Foram utilizados esses mesmos limites como critérios para construção do algoritmo para liberação do plaquetograma, no que diz respeito à contagem de plaquetas, enquanto que para os índices utilizamos os limites encontrados no presente estudo.

Além disso, há que se considerar o significado de cada índice, pois o plaquetócrito, por exemplo, por não sofrer variações significativas, não pode ser considerado como único critério para decisão sobre revisão de lâmina. Os demais índices, por sua vez, refletem variações no tamanho das plaquetas, o que pode ser facilmente verificado e confirmado pela análise da lâmina.

Este fluxograma é de grande importância para nosso serviço, pois os índices plaquetários não são emitidos na impressão do hemograma, ficando disponíveis apenas para consulta no *software* do equipamento (com exceção do MPV), de tal forma que muitas vezes passam desper-

cebidos pelos analistas que desconhecem a interpretação e função desses parâmetros.

A decisão sobre a necessidade de revisão de lâmina em casos de trombopenia ou trombocitose ficará mais fácil com a análise deste fluxograma, utilizando todos os recursos fornecidos pelos equipamentos e interpretando corretamente os índices plaquetários em conjunto com o histograma, sendo dessa forma útil não apenas para nosso serviço, mas também para outros que se interessarem.

CONCLUSÕES

1. O intervalo de referência encontrado para a contagem de plaquetas mostrou que a população estudada apresenta limite inferior abaixo do que o esperado e conhecido como normal divulgado na literatura consultada. Esses resultados podem ser devido a problemas pré-analíticos, tais como garroteamento demorado, erro na proporção sangue/anticoagulante e falha na homogeneização da amostra. No entanto, tais variáveis são hipóteses que necessitam de estudos posteriores para confirmar ou não a interferência nos limites de referência da contagem de plaquetas na população estudada.

2. Os intervalos de referência dos índices MPV, PDW, PCT e P-LCR apresentaram valores semelhantes aos encontrados na literatura consultada.

3. O fluxograma desenvolvido neste trabalho será de grande importância para valorização do plaquetograma, tanto como critério para decidir sobre revisão da lâmina em casos de trombopenia e trombocitose, como também para emissão de laudos com informações mais completas que possam ajudar a classe médica a monitorar melhor a condição clínica de nossos pacientes.

Abstract

Objective: The present study aimed to determine reference values of plateletgram at Hematology Service of Central Laboratory of University Hospital Oswaldo Cruz in Pernambuco, in addition of build an algorithm for slide revision in thrombocytopenia and thrombocytosis clinical conditions. **Methods:** The present study was carried with a retrospective research in the database of the equipment Sysmex XT 1800, which uses impedance and laser technology for cells count. 258 patients from the database have been selected, all of whom had been assisted on the outpatient department of the Central Laboratory of University Hospital Oswaldo Cruz, and all presented platelet count between 150-450 thousand/mm³ according to the records. Based on the platelet count of the selected patients, the reference values for all indices described previously have been calculated, using the mean value for each parameter plus or minus two standard deviations. The algorithm for the platelet parameters results was achieved through the use of the reference values obtained for each index, in addition to the interpretation of the histogram and messages of the cell count provided by the XT 1800. **Results:** The reference values found in this study were similar to those found in the already existing literature. However, other correlation studies between these indices with the aim of increasing their value in the laboratory routine and also in medical decisions are still necessary. **Conclusion:** The determination of reference values for platelet indices, as well as the algorithm for slide revision of plateletgram contributed to optimization of

laboratory routine and improve the clinical appreciation of the platelet parameters.

Keywords

Platelet count; Blood platelets; Thrombocytopenia; Thrombocytosis; Algorithms

REFERÊNCIAS

1. Farias MG, Dal Bó S. Importância Clínica e Laboratorial do Volume Plaquetário Médio. J Bras Patol Med Lab., v 46, n. 4, p. 275-81, agosto 2010.
2. Failace R. Plaquetograma. In: _____. Hemograma: Manual de Interpretação. Porto Alegre. 4a Edição. 2003. p. 255-260.
3. Maluf CB. Intervalos de Referência dos Parâmetros de Volume Plaquetários: Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto de Minas Gerais - ELSA-MG. 2011. Dissertação (Mestrado em Patologia). Faculdade de Medicina. Universidade Federal de Minas Gerais. 2011.
4. Santos EV, Filho JM. Plaquetograma em Gestantes Normais e com Pré-eclâmpsia. RBGO. 2004;26(3):201-06.
5. Salto AB, Fontana S, Marquesoni E, Casale MF. Valoración de índices plaquetários en las trombocitopenias. Acta Bioquím. Clín. Latinoam. 2012;46(1):23-30.
6. Pinto C, Barros C, Costa E. Índices Plaquetários em Doentes Infectados com Vírus da Imunodeficiência Humana e com Trombocitopenia. Academia.edu. 2008. Disponível em: <http://www.academia.edu/>. Acesso em 14/11/2014.
7. Comar SR, Silva PH. Determinação laboratorial e aplicação clínica dos parâmetros de volume plaquetário. RBAC. 41(4):257-65. 2009.
8. Giovanetti VT, Nascimento AJ, De Paula JP. Platelet Indices: laboratory and Clinical Applications. Rev Bras Hematol. Hemoter. 2011;33(2):164-5.
9. Oliveira RAG. Automação em Hematologia: Contadores Multiparamétricos. In: _____. Hemograma: Como Fazer e Interpretar. São Paulo. Edição Única. 2007. p. 125.
10. Botma J, et al. Reference Ranges for Platelet Indices using Sysmex XE2100 Blood Analyser. Medical Technology AS. V. 26, n. 2, 2012.
11. Failace R. Plaquetograma. In: _____. Hemograma: Manual de Interpretação. Porto Alegre. 5a Edição. 2007. p. 298.

Correspondência

Leila Monteiro

Rua Jerônimo Vilela 118 – Campo Grande
52040-180 – Recife - PE, Brasil