



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA



JORDAN DE PAULA VAZ

**Estimação dos Intervalos de Referência para os parâmetros do
hemograma na população atendida por um laboratório público de
Ouro Preto, Minas Gerais**

OURO PRETO
2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA



JORDAN DE PAULA VAZ

Estimação dos Intervalos de Referência para os parâmetros do hemograma na população atendida por um laboratório público de Ouro Preto, Minas Gerais

Trabalho apresentado à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II na Escola de Farmácia como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia pela Universidade Federal de Ouro Preto.

Orientador: Wendel Coura Vital

OURO PRETO
2020

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

V393e Vaz, Jordan De Paula .

Estimação dos intervalos de referência para os parâmetros do hemograma na população atendida por um laboratório público de Ouro Preto, Minas Gerais. [manuscrito] / Jordan De Paula Vaz. - 2020.
46 f.: il.: color., tab..

Orientador: Prof. Dr. Wendel Coura Vital.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto.
Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Hemograma. 2. Sangue- Exame. 3. Sangue- Análise e química. I. Vital, Wendel Coura. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU 616.15

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO



UFOP

Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP

Escola de Farmácia



ATA DA SESSÃO DE DEFESA DA 489ª MONOGRAFIA DO CURSO DE FARMÁCIA DA ESCOLA DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO.

Aos 21 dias do mês de julho de dois mil e vinte, terça-feira, realizou-se, a partir das 15 horas e 30 minutos, por meio da plataforma virtual Google Meet, a sessão de defesa de monografia do candidato ao grau de Farmacêutico Generalista, **Jordan de Paula Vaz**, matrícula **14.1.2190**, intitulada “**Estimação dos Intervalos de Referência para os parâmetros do hemograma na população atendida por um laboratório público de Ouro Preto, Minas Gerais**”. A banca examinadora foi constituída pela Profa. Dra. Januária Fonseca Matos (IFMG-OP), pelo doutorando Thiago Magalhães Gouvea (UFOP) e pelo orientador Prof. Dr. Wendel Coura Vital (DEACL-UFOP). De acordo com o regulamento do Curso, o orientador, presidente da banca, abriu a sessão, passando a palavra ao candidato, que fez a exposição do seu trabalho. Em seguida, foi realizada a arguição pelos examinadores na ordem registrada acima, com a respectiva defesa do candidato. Finda a arguição, a Banca Examinadora se reuniu, sem a presença do candidato e do público, tendo deliberado pela sua APROVAÇÃO com a NOTA 9,0. Comunicou-se ao candidato que essa nota somente será liberada para a PROGRAD, após a entrega do exemplar definitivo de acordo com as normas estabelecidas pelo Sistema de Bibliotecas e Informação (Sisbin), com as devidas correções sugeridas pela banca e com o aval escrito do orientador. Nada mais havendo para constar, a presente ata foi lavrada e após a leitura pública seguirá assinada pelo orientador e pela presidente do colegiado. Ouro Preto, 21 de julho de 2020.

Prof. Dr. Wendel Coura Vital

Profa. Dra. Januária Fonseca Matos
Via Google Meet

Msc. Thiago Magalhães Gouvea
Via Google Meet

Profa. Dra. Glenda Nicioli da Silva
Presidente do Colegiado de Farmácia

Dedico esse trabalho a Deus, pelo dom da vida e pela força e persistência durante os últimos anos. Aos meu pais, João e Eneir, por não medirem esforços para que eu pudesse alcançar esse sonho, e ao meu orientador Wendel pela compreensão e ensinamentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, sem ele, nada seria possível. Agradeço também pela força e persistência nos momentos mais difíceis dessa etapa da minha vida.

Aos meus pais, João e Eneir, minha eterna gratidão, sem eles nada seria possível. Até aqui, não mediram esforços para que eu realizasse meu sonho. Por toda educação que me deram, afim de me tornasse um ser humano melhor. No mundo, não há como descrever meu amor por vocês.

Ao Wendel, que em meio às diversas tarefas, sempre conseguiu um tempo para me orientar da melhor forma. Muito obrigado também pela paciência.

Aos meus irmãos, Raool e Thiago, pelo companheirismo e por serem exemplos, mesmo estando distantes.

A toda minha família, pelo apoio, risadas e bons momentos.

Aos meus amigos, que sempre me apoiaram e fizeram meus dias mais felizes.

Às repúblicas federais de Ouro Preto, que me deram mais familiares e um lar durante esses anos.

Aos grandes mestres e funcionários das instituições de ensino que passei por minha vida e que tive o prazer de conhecer ao longo dessa jornada, vocês foram essenciais.

À Universidade Federal de Ouro Preto, pela educação gratuita e de qualidade e também à grandiosa Escola de Farmácia, por formar excelentes profissionais, dos quais, me orgulho em fazer parte.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram de alguma forma nessa etapa e torcem pelo meu sucesso. Serei eternamente grato a cada um de vocês.

“Só é lutador quem sabe lutar consigo mesmo. ”

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

Os intervalos de referência são de suma importância para a clínica, os intervalos de referência dos exames laboratoriais, visto que esses valores são utilizados para a comparação entre a ou as amostras de um indivíduo e o considerado saudável (padrão). O intervalo de referência (IR) tem como finalidade direcionar o clínico no diagnóstico, tratamento, prognóstico e na avaliação do estado de saúde geral do paciente. Porém estes IR podem não refletir a realidade de uma população quando for estimado baseando-se em resultados obtidos em pacientes de outros países, por exemplo. Neste sentido, o presente estudo elaborou intervalos de referência para a população de Ouro Preto, Minas Gerais, através de uma análise dos dados de pacientes atendidos pelo Sistema Único de Saúde em um laboratório da cidade. Foi realizado um estudo transversal utilizando os dados do Laboratório Piloto de Análises Clínicas (LAPAC) da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto. Foram avaliados todos os pacientes que realizaram hemograma no período de janeiro de 2017 a dezembro de 2018, totalizando 13.535 hemogramas. Inicialmente foram excluídos os indivíduos considerados inelegíveis e também os *outliers* através da metodologia de Tukey. Os IR's foram estimados pela metodologia indireta e seus limites através dos percentis 2,5 e 97,5. Após a estimação, utilizando hemogramas realizados em 2019, foi testado o IR estimado (IRE) e avaliada a concordância entre ele e o utilizado no LAPAC e o sugerido pelo PNCQ, além da frequência de resultados alterados para alguns parâmetros do hemograma. O IRE apresentou seu limite inferior menor em praticamente todos os parâmetros do hemograma, que os IR utilizados no LAPAC e o do PNCQ. Já o limite superior do IRE foi geralmente menor que o utilizado no LAPAC e em alguns parâmetros, maior que o do PNCQ. Devido às variações dos limites dos IR's, a frequência de alterações em relação a hemoglobina, leucócitos e plaquetas variou entre os intervalos. O IRE apresentou concordâncias variando de 61,2% a 99,6% com os outros IR's avaliados no estudo. Apesar das limitações na elaboração deste IR, os resultados desta pesquisa servirão de base e poderão contribuir para novos estudos sobre elaboração de IRs que reflitam a população brasileira.

Palavras-chave: intervalo de referência, hemograma, leucograma, eritograma

ABSTRACT

The reference intervals are of paramount importance for the clinic, the reference intervals for laboratory tests, since these values are used for the comparison between a sample or samples of an individual and the one considered healthy (standard). The reference interval (RI) is intended to guide the clinician in the diagnosis, treatment, prognosis and assessment of the patient's general health status. However, these RI may not reflect the reality of a population when it is estimated based on results obtained in patients from other countries, for example. In this sense, the present study elaborated reference intervals for the population of Ouro Preto, Minas Gerais, through an analysis of the data of patients treated by the Unified Health System in a laboratory in the city. A cross-sectional study was carried out using data from the Pilot Laboratory of Clinical Analysis (LAPAC) of the School of Pharmacy at the Federal University of Ouro Preto. All patients who underwent a complete blood count from January 2017 to December 2018 were evaluated, totaling 13,535 blood counts. Initially, individuals deemed ineligible and also outliers through Tukey's methodology were excluded. RIs were estimated using the indirect methodology and their limits using the 2.5 and 97.5 percentiles. After estimation, using blood tests performed in 2019, the estimated RI (IRE) was tested and the agreement between it and that used in LAPAC and that suggested by the PNCQ was evaluated, in addition to the frequency of altered results for some parameters of the blood count. The IRE's lower limit was presented lower in practically all the parameters of the complete blood count, than the IR used in LAPAC and PNCQ. The upper limit of the IRE was generally lower than that used in LAPAC and, in some parameters, higher than that of PNCQ. Due to variations in the limits of the RI's, the frequency of changes in relation to hemoglobin, leukocytes and platelets varied between intervals. The IRE presented concordances ranging from 61.2% to 99.6% with the other IR's evaluated in the study. Despite the limitations in the elaboration of this RI, the results of this research will serve as a basis and may contribute to new studies on the elaboration of IRs that reflect the Brazilian population.

Key words: Reference intervals, blood count, white blood cell, erythrogram

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CHCM - Concentração de hemoglobina corpuscular média

dL – Decilitro

DP – Desvio padrão

g – Gramas

M – Mulher

mm³ – Milímetros cúbicos

H – Homem

Hb – Hemoglobina

Hb-H – Hemoglobina de homem

Hb-M – Hemoglobina de Mulher

HCM - Hemoglobina corpuscular média

Hm – Hemácia

Hm-H – Hemácia de homem

Hm-M – Hemácia de mulher

Ht – Hematócrito

Ht-H – Hematócrito de homem

Ht-M – Hematócrito de mulher

H + M – Homem e Mulher

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC - Intervalo de confiança

IR - Intervalo de referência

IRE - Intervalo de referência estimado

IR's - Intervalos de referência

IQ – Intervalo interquartil

LAPAC – Laboratório Piloto de Análises Clínicas

MG – Minas Gerais

n – Número amostral

pg - Picograma

PNCQ – Programa Nacional de Controle de Qualidade

RDW - Índice de anisocitose eritrocitária

UFOP – Universidade Federal de Ouro Preto

VCM - Volume corpuscular médio

WHO – *World Health Organization*

♂ - Sexo masculino

♀ - Sexo feminino

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1- Fluxograma de seleção amostral, Ouro Preto, Brasil, 2017-2018	21
Figura 2 – Fluxograma de seleção amostral para o leucograma e contagem de plaquetas, Ouro Preto, Brasil, 2017-2018	22
Figura 3 – Fluxograma de seleção amostral para o testar o IRE, Ouro Preto, Brasil, 2019	34

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Número de <i>outliers</i> removidos e de resultados utilizados para a análise de cada parâmetro do eritrograma, Ouro Preto, MG, 2017-2018	23
Tabela 2 – Número de <i>outliers</i> removidos e de resultados utilizados para a estimação de cada parâmetro do leucograma e plaquetograma, Ouro Preto, Minas Gerais, 2017-2018	24
Tabela 3 – Número de resultados avaliados, medidas de tendência central, de dispersão e intervalo de referência para os parâmetros do eritrograma	27
Tabela 4 - Tabela 4 – Número de resultados avaliados, medidas de tendência central, de dispersão e intervalo de referência para os parâmetros do leucograma e para a contagem de plaquetas	30
Tabela 5 – Intervalos de referência estimados (IRE), do LAPAC e do PNCQ, referentes aos parâmetros do eritrograma	32
Tabela 6 – Intervalos de referência estimados (IRE), do LAPAC e do PNCQ, para os parâmetros do leucograma e contagem de plaquetas	33
Tabela 7 – Percentual de resultados alterados no hemograma utilizando cada Intervalo de Referência, Ouro Preto, 2019	35
Tabela 8 – Concordância entre os IR's para os parâmetros do eritrograma	36
Tabela 9 – Concordância entre os IR's para o leucograma e contagem de plaquetas	37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS.....	16
	2.1 Objetivo geral.....	16
	2.2 Objetivos específicos.....	16
3	METODOLOGIA.....	17
	3.1 Aspectos éticos.....	17
	3.2 Área de estudo.....	17
	3.3 Desenho do estudo.....	17
	3.4 Procedimentos analíticos.....	18
	3.5 Análises dos dados.....	18
4	RESULTADOS.....	19
	4.1 Caracterização da amostra.....	19
	4.2 Remoção dos <i>outliers</i> para cada parâmetro do hemograma.....	22
	4.3 IR's Para os parâmetros do eritrograma.....	23
	4.4 IR's para o leucograma.....	27
	4.5 IR para contagem de plaquetas.....	28
	4.6 Comparação entre os IR.....	31
	4.7 Frequência de resultados alterados do hemograma estimada pelos IR's.....	32
	4.8 Concordância entre os IR's.....	35
5	DISCUSSÃO.....	37
6	CONCLUSÃO.....	43
7	REFERÊNCIAS:.....	44

INTRODUÇÃO

É de suma importância para a clínica, os intervalos de referência dos exames laboratoriais, visto que esses valores são usados para a comparação entre a ou as amostras de um indivíduo e o considerado saudável (padrão). O intervalo de referência (IR) tem como finalidade auxiliar o clínico no estabelecimento de um diagnóstico, no acompanhamento de um tratamento, na determinação do prognóstico e também na avaliação do estado de saúde (BUCHANAN et al., 2010). Porém, os valores atuais tidos como padrão não refletem necessariamente a realidade de uma população local pois esses valores são obtidos de uma população que pode não representar os valores reais de outra (KARITA et al., 2009). Isso pode acontecer por diversos fatores, como clima, etnia, miscigenação, hábitos culturais e alimentares, tarefas laborais, consumo de fármacos, drogas, entre outros (BUCHANAN et al., 2010, EL-HAZMI; WARSY, 2001).

Dentre os exames que usam dos IR's, sem dúvida o hemograma é um dos mais completos e difundidos na clínica, pois se trata de um teste multiparâmetro que pode ser usado com diversas finalidades, como acompanhamento de tratamento, avaliação do estado de saúde, prevenção de doenças e afins. No hemograma são avaliadas a série vermelha (eritrócitos), série branca (leucócitos) e plaquetas. A série vermelha é principalmente usada no diagnóstico de anemias e a série branca é demonstrativo de infecções, processos alérgicos, leucemias, dentre outras patologias. Já as plaquetas exercem papel importante na coagulação e sua redução pode estar associada a risco de hemorragias. Assim, nota-se que os IR's são de extrema importância para a interpretação do hemograma (NAOUM, 2007).

Para a obtenção de um IR são necessárias a avaliação e validação de valores encontrados em indivíduos considerados saudáveis. Dessa forma, é possível estimar esses padrões de duas formas, direta e indireta. A primeira consiste no recrutamento de um número de pessoas e a aplicação de questionário para excluir os que não são considerados saudáveis. Após a coleta e análise das amostras é realizada a análise estatística e então se obtém um valor referência. O segundo método consiste na mineração de um grande banco de dados com os parâmetros para os quais se deseja desenvolver um intervalo de referência, nos quais esses serão tratados e analisados para criar os IR's (JONES et al., 2019).

A estimação pela metodologia direta se utiliza de dados que foram obtidos com a finalidade de elaborar o IR. Nessa metodologia, são conhecidas todas as variáveis dos indivíduos, desde sexo, idade até condição clínica, uso ou não de medicamentos, tabagismo, entre outros; a partir daí são selecionados os indivíduos ditos saudáveis para se dar prosseguimento na análise (JONES et al., 2019).

No caso da estimativa indireta os dados são obtidos de resultados de exames realizados em laboratórios de análises clínicas, como exames de rotina, diagnóstico, prognóstico e/ou acompanhamento. Estes dados podem ser utilizados na elaboração dos IR's, entretanto, é necessário um tratamento destas informações, uma vez que não foram coletadas de grupos saudáveis, como na metodologia direta. Assim, após um tratamento prévio dos dados, as informações dos indivíduos são utilizadas para a obtenção dos IR's (JONES et al., 2019).

Uma vez que os intervalos de referência podem não necessariamente refletir a realidade de uma população local, por serem obtidos a partir de outra população, é de grande importância a elaboração de intervalos de referência locais. Neste sentido, o presente estudo pretende elaborar intervalos de referência para a população de Ouro Preto, Minas Gerais, através de uma análise do banco de dados de um laboratório que atende ao Sistema Único de Saúde da cidade.

OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estimar e testar os Intervalos de Referência (IR's) para os parâmetros hematológicos de indivíduos adultos utilizando dados da população de Ouro Preto, Minas Gerais, atendida no Laboratório Piloto de Análises Clínicas – LAPAC/EFar/UFOP.

2.2 Objetivos específicos

- Selecionar, dentro do banco de dados do LAPAC, uma amostra para a estimação dos intervalos de referência dos parâmetros do hemograma.
- Estimar os intervalos de referência dos parâmetros do hemograma;
- Comparar os IR's estimados no estudo com o utilizado no LAPAC e com o do PNCQ.

METODOLOGIA

3.1 Aspectos éticos

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto (CAAE 13266719.8.0000.5150) e seguiu todas as recomendações éticas da resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

3.2 Área de estudo

Este estudo foi realizado utilizando dados do Laboratório Piloto de Análises Clínicas (LAPAC) da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto. O LAPAC realiza exames de pacientes atendidos pelo Sistema Único de Saúde de Ouro Preto, desde 1992, quando foi firmado um convênio entre a UFOP e a Prefeitura Municipal de Ouro Preto. No referido laboratório são realizados exames, hematológicos, bioquímicos, microbiológicos, imunológicos, hormonais, parasitológicos e a urinálise. O LAPAC está localizado na cidade de Ouro Preto que se situa na região central do estado de Minas Gerais, tem altitude média de 1150 m e está a 96 km da capital Belo Horizonte. Sua população é miscigenada, sendo constituída de pardos (51,43%), brancos (32,12%), pretos (13,74%), amarelos (1,34%) e indígenas (0,37%) (IBGE, 2010).

3.3 Desenho do estudo

Foi realizado um estudo transversal utilizando o banco de dados com todos os pacientes que realizaram hemograma no LAPAC nos anos de 2017 a 2019. Os dados de 2017 e 2018 foram utilizados para estimação dos intervalos de referência, e os do ano de 2019 para sua avaliação, em comparação ao IR utilizado pelo LAPAC e o do Programa Nacional de Controle de Qualidade - PNCQ.

Foram excluídos do banco de dados, para a estimação dos IR's do eritrograma, as gestantes, os menores de 15 anos, que de acordo com a World Health Organization

(WHO) são considerados crianças, além dos indivíduos do sexo masculino com os resultados com Hemoglobina < 13 g/dL, e do sexo feminino com os resultados com Hemoglobina < 12 g/dL, considerados anêmicos (WORLD HEALTH ORGANIZATION et. al., 2011).

Para os parâmetros do leucograma e contagens de plaquetas, foram excluídas dos dados as gestantes e os menores de 13 anos, que de acordo com o PNCQ são considerados crianças (PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE et. al., 2019).

3.4 Procedimentos analíticos

Os hemogramas foram realizados no contador hematológico XS-800i da Sysmex®, seguindo as recomendações do fabricante e os procedimentos operacionais padrão. Para avaliar a calibração do aparelho diariamente foi avaliado uma amostra do controle interno de qualidade. O LAPAC possui certificação do Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ), da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC).

3.5 Análises dos dados

Após a obtenção do banco de dados foi realizada uma análise descritiva dos mesmos através de medidas resumo, como médias e medianas e medidas de dispersão como desvio padrão e intervalos interquartis.

Foi utilizada a metodologia indireta para elaborar os IR's. Após a exclusão dos indivíduos considerados inelegíveis (anêmicos, gestantes, menores de 15 anos), foram retirados os *outliers* através do teste de *Tukey* (WORLD HEALTH ORGANIZATION et. al., 2011). Esta metodologia foi utilizada por se tratar de um teste não paramétrico (TUKEY, 1977). O teste de *Tukey* ou mais conhecido como *boxplot* define o limite superior em uma equação que utiliza o terceiro quartil mais uma vez e meia o intervalo interquartil. Já para o limite inferior, a equação utiliza do primeiro

quartil, nesse caso subtraindo uma vez e meia o intervalo interquartil. Dessa forma, os dados que estiverem fora dessa faixa, são considerados, então, *outliers* (BENTO; TERUEL, 2018; ROUSSEEUW; HUBERT, 2017). Na sequência foi realizada a análise do intervalo de referência através do cálculo dos percentis 2,5% e 97,5% que foram considerados os limites inferior e superior, respectivamente. As análises foram realizadas no *software Stata*, versão 13, e *GraphPad Prism* versão 7.

Para a avaliação do intervalo de referência estimado (IRE) foram analisadas as frequências de anemia, policitemia, leucopenia, leucocitose, plaquetopenia e trombocitose pelo IRE e pelos IR's utilizados pelo LAPAC e pelo PNCQ, com os dados do ano de 2019. Após a categorização dos resultados em normais ou alterados foi avaliada a concordância entre os IR's.

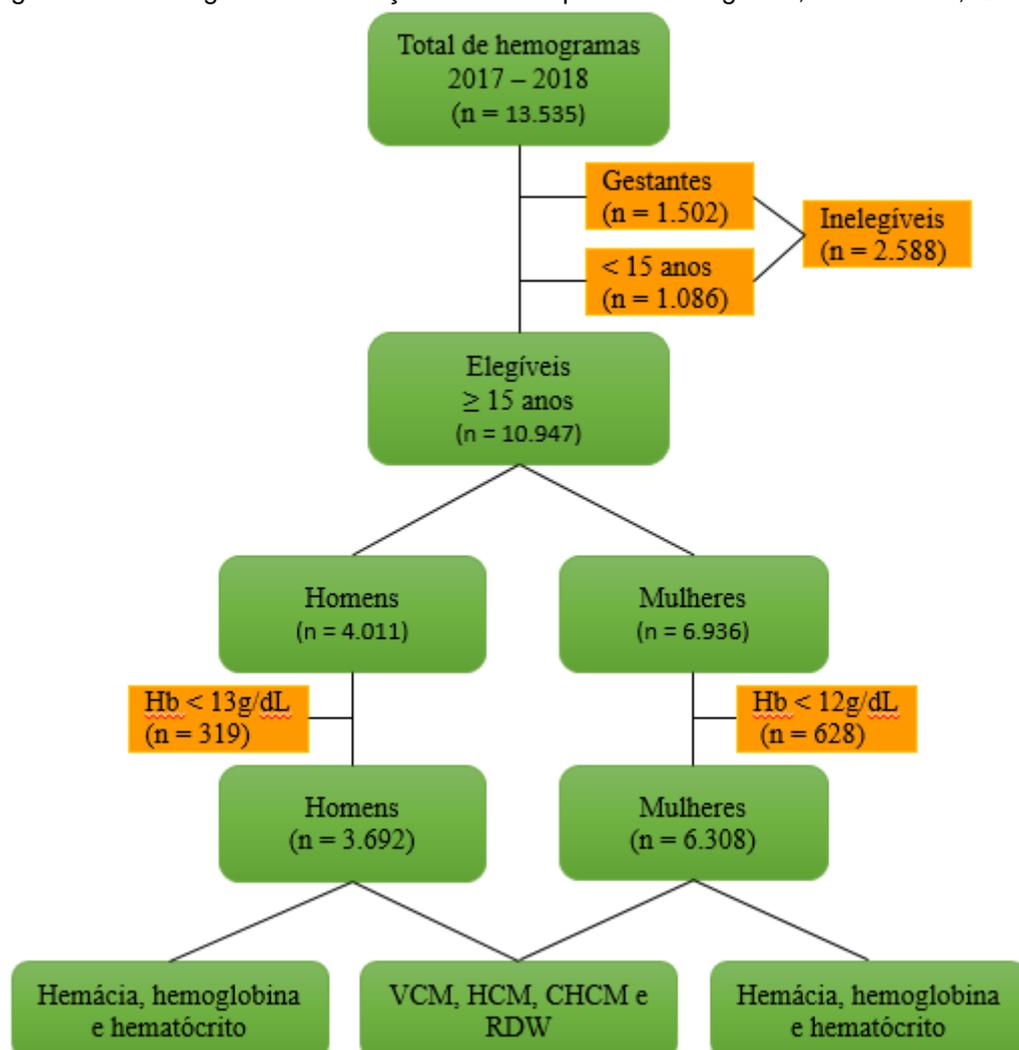
RESULTADOS

4.1 Caracterização da amostra

Foram avaliados 13.535 hemogramas, referentes aos anos de 2017 e 2018, e desses, 1.502 (11,1%) foram excluídos por serem gestantes e 1.086 (8,0%) por serem

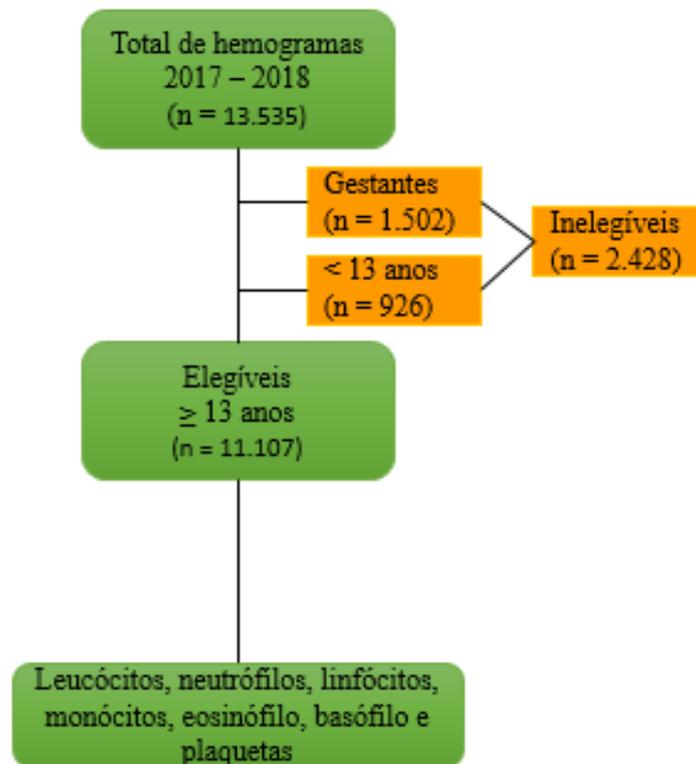
de pacientes menores de 15 anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION et. al., 2011). Assim, ficaram 10.947 (80,9%) resultados que foram divididos por sexo, para obtenção dos IR's para número de hemácias, hemoglobina e hematócrito. Os indivíduos do sexo masculino totalizaram 4.011 (36,6%) resultados, destes foram retirados os resultados com hemoglobina < 13 g/dL, ou seja, 319 (2,9%) que foram considerados anêmicos, restando 3.692 (33,7%), com média de idade 50 anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION et. al., 2011). Hemogramas de indivíduos do sexo feminino somam 6.936 (63,4%), destes foram retirados os com Hemoglobina < 12 g/dL, ou seja, 628 (5,7%) que foram considerados anêmicos, restando 6.308 (57,6%), com média de idade de 45 anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION et. al., 2011). Para os índices, VCM, HCM, CHCM e RDW não foram separados grupos por sexo e após a retirada dos resultados de indivíduos considerados anêmicos, 10.000 (91,3%) foram analisados, com média de idade de 46 anos (Figura 1).

Figura 1 – Fluxograma de seleção amostral para o eritograma, Ouro Preto, Brasil, 2017-2018.



Para o leucograma e contagem de plaquetas, foram selecionados 13.535 hemogramas, referentes ao ano de 2017 e 2018, e desses, 1.502 (11,1%) foram excluídos por serem referentes a gestantes e 926 (6,8%) por serem de pacientes menores de 13 anos, restando 11.107 (82,1%), com média de idade de 45 anos (Figura 2) (PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE et. al., 2019).

Figura 2 – Fluxograma de seleção amostral para o leucograma e contagem de plaquetas, Ouro Preto, Brasil, 2017-2018



4.2 Remoção dos *outliers* para cada parâmetro do hemograma

Foram retirados do banco de dados 2,1% dos resultados de número de hemácias (Hm) dos indivíduos do sexo masculino e 1,8% do sexo feminino por serem considerados *outliers*. Para hemoglobina (Hb), foram retirados 0,5% dos indivíduos do sexo masculino e 0,9% do sexo feminino. Quanto ao hematócrito (Ht) foram retirados 0,5% dos indivíduos do sexo masculino e 1,1% do sexo feminino. Já para os índices hematimétricos (VCM, HCM, CHCM e RDW) foram encontrados e retirados 3,1%, 2,6%, 0,2% e 3,9% dos resultados, respectivamente, por serem considerados *outliers* (Tabela 1).

Tabela 1 – Número de *outliers* removidos e de resultados utilizados para a análise de cada parâmetro do eritograma, Ouro Preto, MG, 2017-2018.

Parâmetros	<i>Outliers</i> (n e %)	n
Hm ♂	78 (2,1%)	3.614
Hb ♂	18 (0,5%)	3.674
Ht ♂	18 (0,5%)	3.674
Hm ♀	113 (1,8%)	6.195
Hb ♀	57 (0,9%)	6.251
Ht ♀	67 (1,1%)	6.241
VCM	301 (3,1%)	9.699
HCM	262 (2,6%)	9.738
CHCM	20 (0,2%)	9.980
RDW	388 (3,9%)	9.612

♂ - sexo masculino, ♀ - sexo feminino, Hm - número de hemácias, Hb - hemoglobina, Ht – hematócrito, VCM – volume corpuscular médio, HCM – hemoglobina corpuscular média, CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média e RDW - Índice de anisocitose eritrocitária.

No leucograma, 2,6% dos resultados de leucócitos totais foram retirados por serem considerados *outliers*. Quanto à contagem diferencial dos leucócitos foram considerados *outliers* e removidos do banco de dados 1,0% dos resultados

percentuais de neutrófilos e 3,1% dos valores absolutos. Para os valores relativos de linfócitos foram retirados 0,9% dos resultados e no número absoluto 2,8%. Já os monócitos foram retirados 3,9% dos valores relativos e 3,3% dos absolutos. Em relação aos valores relativos de eosinófilos foram retirados 7,7% dos resultados e 8,6% para os valores absolutos. Quanto aos basófilos foram retirados 6,9% de *outliers* nos valores relativos e 5,9% nos absolutos. Para a contagem de plaquetas foram retirados 2,7% dos resultados por serem *outliers* (Tabela 2).

Tabela 2 – Número de *outliers* removidos e de resultados utilizados para a estimação de cada parâmetro do leucograma e plaquetograma, Ouro Preto, Minas Gerais, 2017-2018.

Parâmetros	Outlier (n e %)	n
Leucócitos (global)	286 (2,6%)	10.821
Neutrófilos segmentados (relativo)	112 (1,0%)	10.995
Neutrófilos (absoluto)	350 (3,1%)	10.757
Linfócitos (relativo)	99 (0,9%)	11.008
Linfócitos (absoluto)	317 (2,8%)	10.790
Monócitos (relativo)	438 (3,9%)	10.669
Monócito (absoluto)	368 (3,3%)	10.739
Eosinófilos (relativo)	858 (7,7%)	10.249
Eosinófilos (absoluto)	954 (8,6%)	10.153
Basófilos (relativo)	773 (6,9%)	10.334
Basófilos (absoluto)	657 (5,9%)	10.450
Plaquetas	299 (2,7%)	10.808

4.3 IR's Para os parâmetros do eritrograma

Após a retirada dos *outliers* foram realizadas as análises para a determinação dos IR's para cada parâmetro do hemograma. Para o parâmetro número de hemácias foram avaliados 3.614 e 6.195 resultados de homens e mulheres, respectivamente. A média e a mediana do número de hemácias na população do sexo masculino foi 5,02 (IC95% 5,01- 5,04), desvio padrão (DP) 0,42 e o intervalo interquartil (IQ) variou de 4,74 – 5,30. O intervalo de referência para este parâmetro foi de 4,21 – 5,88 $\times 10^6/\text{mm}^3$ para a população masculina, sendo diferente daquele obtido para indivíduos do sexo feminino ($p < 0,001$). Para a população feminina, a média e a mediana do número de hemácias foram 4,57 e 4,56, respectivamente, (IC95% 4,56 – 4,58), desvio padrão (DP) 0,35 e o intervalo interquartil (IQ) variou de 4,32 – 4,80. O intervalo de referência para este parâmetro foi de 3,92 – 5,29 $\times 10^6/\text{mm}^3$.

Para o parâmetro hemoglobina avaliou-se 3.674 e 6.251 resultados de homens e mulheres, respectivamente. A média e a mediana de hemoglobina na população do sexo masculino foi de 15,16 e 15,20, respectivamente, (IC95% 15,12 - 15,19), desvio padrão (DP) 1,00 e o intervalo interquartil (IQ) variou de 14,50 - 15,90. O intervalo de referência para este parâmetro foi de 13,20 – 17,11 g/dL para a população masculina, sendo este diferente da feminina ($p < 0,001$). Para a população feminina, a média e a mediana de hemoglobina foi 13,65 e 13,60, respectivamente, (IC95% 13,63 - 13,68), desvio padrão (DP) 0,84 e o intervalo interquartil (IQ) variou de 13,00 – 14,20. O intervalo de referência para hemoglobina para o sexo feminino foi de 12,20 – 15,40 g/dL.

O parâmetro hematócrito foi estimado utilizando 3.674 e 6.241 resultados de homens e mulheres, respectivamente. A média e a mediana de hematócrito na população do sexo masculino foram as mesmas, 43,30. O IC95% foi de 43,28 a 43,48 e o desvio padrão (DP) foi 2,96, e o intervalo interquartil (IQ) variou de 41,30 – 45,50. O intervalo de referência para este parâmetro foi de 37,80 – 49,31% para a população masculina. Já no caso dos indivíduos do sexo feminino os valores da média e mediana do hematócrito foram 39,54 e 39,40, respectivamente, com um IC95% variando de 39,47 - 39,06, desvio padrão (DP) de 2,54 e o intervalo interquartil (IQ) variou de 37,70 – 41,30. O intervalo de referência obtido para este parâmetro foi de 34,91 – 44,80%.

Já os índices hematimétricos foram estimados utilizando os valores de homens e mulheres juntos. Assim, o parâmetro VCM foi avaliado considerando 9.699 resultados. A média e a mediana de VCM na população foi 86,90 e 87,00,

respectivamente, (IC95% 86,80 – 87,00), desvio padrão (DP) 4,87 e o intervalo interquartil (IQ) variou de 83,70 – 90,20. O intervalo de referência para este parâmetro foi de 77,00 – 96,30 fL.

Para o parâmetro HCM foram avaliados 9.738 hemogramas, sendo observada uma média (DP) e a mediana (Q1-Q3) de 30,16 (1,81) e 30,20 (29,00 – 31,40), respectivamente. O IC95% variou entre 30,12 – 30,19, e intervalo de referência para este parâmetro foi de 26,40 – 33,60 pg.

Na determinação do IR para o índice hematimétrico CHCM foram considerados 9.980 resultados e a média e a mediana deste parâmetro na população foram 34,71 e 35,00, respectivamente, com um IC95% 34,68 – 34,73, desvio padrão (DP) 1,19 e o intervalo interquartil (IQ) variou de 33,90 – 35,80. O intervalo de referência para este parâmetro foi de 32,00 – 36,00 g/dL.

Quanto ao RDW, 9.612 hemogramas foram avaliados, sendo a média e a mediana, 13,36 e 13,30, respectivamente, e o IC95% 13,34 – 13,37), o DP foi de 0,81 e o intervalo interquartil (IQ) variou de 12,80 – 13,90. O intervalo de referência para este parâmetro foi de 11,90 - 15,10% (Tabela 3).

Tabela 3 – Número de resultados avaliados, medidas de tendência central, de dispersão e intervalo de referência para os parâmetros do eritrograma.

Parâmetros	Sexo	n	Média	DP	IC (95%)	Mediana	IQ	Mínimo e máximo	IR
Hm (x10 ⁶ /mm ³)	♂	3.614	5,02	0,42	5,01- 5,04	5,02	4,74 – 5,30	3,90 – 6,13	4,21 – 5,88
	♀	6.195	4,57	0,35	4,56 – 4,58	4,56	4,32 – 4,80	3,60 – 5,52	3,92 – 5,29
Hb (g/dL)	♂	3.674	15,16	1,00	15,12 - 15,19	15,20	14,50 - 15,90	13,00 – 18,00	13,2 – 17,11
	♀	6.251	13,65	0,84	13,63 - 13,68	13,60	13,00 – 14,20	12,00 – 16,00	12,2 – 15,4
Ht (%)	♂	3.674	43,38	2,96	43,28 - 43,48	43,30	41,30 – 45,50	35,20 - 51,80	37,80 – 49,31
	♀	6.241	39,54	2,54	39,47 - 39,60	39,40	37,70 – 41,30	33,10 - 46,60	34,91 – 44,80
VCM (fL)	♂ + ♀	9.699	86,90	4,87	86,80 – 87,00	87,00	83,70 – 90,20	74,00 – 99,80	77,00 – 96,30
HCM (pg)	♂ + ♀	9.738	30,16	1,81	30,12 – 30,19	30,20	29,00 – 31,40	25,40 – 35,00	26,40 – 33,60
CHCM (g/dL)	♂+ ♀	9.980	34,71	1,19	34,68 – 34,73	35,00	33,90 – 35,80	31,10 – 38,60	32,00 – 36,00
RDW (%)	♂ + ♀	9.612	13,36	0,81	13,34 – 13,37	13,30	12,80 – 13,90	11,20 – 15,50	11,90 - 15,10

♂ - sexo masculino, ♀ - sexo feminino, IC- Intervalo de confiança, IQ – Intervalo interquartil, IR – Intervalo de referência, Hm – número de hemácias, Hb – hemoglobina, Ht – hematócrito, ♀ + ♂ – sexo feminino e masculino, M - sexo masculino, VCM – volume corpuscular médio, HCM – hemoglobina corpuscular média, CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média e RDW - Índice de anisocitose eritrocitária.

4.4 IR's para o leucograma

O parâmetro número global de leucócitos foi avaliado utilizando-se 10.821 resultados de hemograma, sendo estes de indivíduos do sexo masculino e feminino. A média e a mediana de leucócitos na população estudada foi 6.378 e 6.240, respectivamente, com um IC95% 6.345 – 6.411, DP 1.759 e o IQ variando de 5.120 – 7.530. O intervalo de referência para este parâmetro foi de 3.250 – 10.100 células/mm³.

Em relação ao parâmetro valor relativo ou percentual de neutrófilos segmentados foram avaliados 10.995 leucogramas. A média e a mediana para esse parâmetro foi 52,97 e 53,40, respectivamente, com um IC95% de 52,77 – 53,16, DP de 10,48 e o IQ variou de 45,90 – 60,30. O intervalo de referência para o percentual de neutrófilos foi de 31,60 – 72,60%. Já para estimar o IR do valor absoluto de neutrófilos segmentados 10.757 leucogramas foram avaliados, com uma média e a mediana desse valor sendo 3.384 e 3.291, respectivamente. O IC95% variou de 3.360 a 3.409, com DP de 1.294 e IQ de 2.438 a 4.228. O intervalo de referência para a contagem absoluta de neutrófilos segmentados foi de 1.151 – 6.176 células/mm³.

Para estimar os IR do percentual de linfócitos foram avaliados 11.008 leucogramas, sendo obtidos valores de média e mediana de 34,71 e 34,30, respectivamente, com o IC95% de 34,54 a 34,89, DP de 9,39 e IQ de 28 a 41. O intervalo de referência estimado foi de 17,40 – 54,20%. Já o valor absoluto foi determinado pela avaliação de 10.790 resultados, apresentando uma média e a mediana de linfócito de 2.144 e 2.101, respectivamente, com IC95% 2.132 – 2.156, DP 632,60 e IQ de 1.686 a 2.560. O intervalo de referência para o número absoluto de linfócitos foi de 1.030 – 3.497 células/mm³.

A estimativa do IR do percentual de monócitos foi realizada avaliando-se 10.669 resultados apresentando uma média (DP) e a mediana (IQ) de 8,10 (2,04) e 8,00 (6,70 – 9,40), respectivamente. O intervalo de referência para este parâmetro foi de 4,00 – 12,40 %. Já para determinação do valor absoluto foram avaliados 10.739 hemogramas. A média (DP) e a mediana (IQ) para o número absoluto de monócito na população foi 507,50 (161,70) e 497,60 (392,60 – 611,60), respectivamente. O intervalo de referência para este parâmetro foi de 208,00 – 852,90 células/mm³.

Na avaliação do valor percentual de eosinófilos foram utilizados 10.249 leucogramas. A média (DP) e a mediana (IQ) encontradas foram 2,84 (1,62) e 2,50 (1,60 – 3,90), respectivamente; e, o intervalo de referência foi de 0,30 – 6,60%. Já para o valor absoluto foram avaliados 10.153 resultados. A média (DP) e a mediana (IQ) para o número absoluto de eosinófilos na população em estudo foi 176 (102,60) e 157,70 (98,15 – 240,60). O intervalo de referência para este parâmetro foi de 19,44 – 411,70 células/mm³.

Por último, no leucograma foi avaliado o percentual de basófilos utilizando 10.334 resultados. A média (DP) e a mediana (IQ) para o valor percentual de basófilos foi 0,40 (0,24) e 0,40(0,30 – 0,60), respectivamente. O intervalo de referência para este parâmetro foi de 0,00 – 1,00%. Já o seu valor absoluto foi determinado avaliando-se 10.450 resultados. A média (DP) e a mediana (IQ) de basófilo absoluto na população foi 28,85 (16,06) e 28,52 (18,76 – 39,48), respectivamente. O intervalo de referência para o referido parâmetro foi de 0,00 – 63,00 células/mm³.

4.5 IR para contagem de plaquetas

O parâmetro número de plaquetas foi avaliado utilizando-se 10.808 resultados de hemograma sendo observada, para a população estudada, uma média (DP) e a mediana (IQ) de 237.060 (57.271) e 234.000 (197.0000 – 275.000), respectivamente. O intervalo de referência encontrado foi de 131.000 – 356.000 /mm³.

Tabela 4 – Número de resultados avaliados, medidas de tendência central, de dispersão e intervalo de referência para os parâmetros do leucograma e para a contagem de plaquetas.

Parâmetros	Sexo	n	Média	DP	IC (95%)	Median a	IQ	Mínimo e máximo	IR
Leucócitos totais	♂ + ♀	10.821	6.378	1.759	6.345 – 6.411	6.240	5.120 – 7.530	1.700 – 11.140	3.250 – 10.100
Neutrófilos segmentados	♂ + ♀	10.995	52,97	10,48	52,77 – 53,16	53,40	45,90 – 60,30	24,30 – 81,80	31,60 – 72,60
Neutrófilos Absoluto	♂ + ♀	10.757	3.384	1.294	3.360 – 3.409	3.291	2.438 – 4.228	2,58 – 6.909	1.151– 6.176
Linfócitos (relativo)	♂ + ♀	11.008	34,71	9,39	34,54 – 34,89	34,30	28,00 – 41,00	8,60 – 60,50	17,40 – 54,20
Linfócitos (absoluto)	♂ + ♀	10.790	2.144	632,60	2.132 – 2.156	2.101	1.686 – 2.560	409,60 – 3.869	1.030 – 3.497
Monócitos (relativo)	♂ + ♀	10.669	8,10	2,04	8,06 – 8,14	8,00	6,70 – 9,40	2,70 – 13,40	4,00 – 12,40
Monócito (absoluto)	♂ + ♀	10.739	507,50	161,70	504,4 – 510,6	497,60	392,60 – 611,60	66,00 - 939,80	208,00 – 852,90
Eosinófilos (relativo)	♂ + ♀	10.249	2,84	1,62	2,81 – 2,87	2,50	1,60 – 3,90	0,00 – 7,30	0,30 – 6,60
Eosinófilos (absoluto)	♂ + ♀	10.153	176	102,60	174 – 178	157,70	98,15 – 240,60	0,00 – 453,60	19,44 – 411,70

Basófilos (relativo)	♂ + ♀	10.334	0,40	0,24	0,45 – 0,46	0,40	0,30 – 0,60	0,00 -1,00	0,00 – 1,00
Basófilos (absoluto)	♂ + ♀	10.450	28,85	16,06	28,54 – 29,16	28,52	18,76 – 39,48	0,00 – 70,56	0,00 – 63,00
Plaquetas	♂ + ♀	10.808	237.060	57.271	235.981– 238.140	234.000	197.000–275.000	80.000- 392.000	131.000– 356.000

IC- Intervalo de confiança, IR – Intervalo de referência, IQ – Intervalo interquartil e ♂ + ♀ – sexo masculino e feminino.

4.6 Comparação entre os IR

Após calcular os IR com dados da população de Ouro Preto estes foram comparados aos que são utilizados no LAPAC e os do PNCQ. As tabelas 5 e 6 mostram todos os referidos IRs para cada parâmetro do hemograma.

Foi observado que há certa variação entre os intervalos inferiores e superiores de todos os parâmetros do hemograma entre os IR. Os IREs para os parâmetros do eritrograma e leucograma geralmente apresentam em seus limites inferior e superior valores mais baixos que aqueles apresentados pelo LAPAC e PNCQ.

Tabela 5 – Intervalos de referência estimados (IRE), do LAPAC e do PNCQ, referentes aos parâmetros do eritrograma.

Parâmetro	IRE	IR - LAPAC	IR - PNCQ
Hm ♂ ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	4,21 – 5,88	4.70 - 6.00	4,5 – 5,5
Hb ♂ (g/dL)	13,20 – 17,11	13.5 - 18.0	13 - 17
Ht ♂ (%)	37,80 – 49,31	42 - 52	40 - 50
Hm ♀ ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	3,92 – 5,29	4.20 - 5.40	3,8 – 4,8
Hb ♀ (g/dL)	12,2 – 15,4	12.5 - 16.6	12 - 15
Ht ♀ (%)	34,91 – 44,80	36 - 46	46 - 36
VCM (fL)	77,0 – 93,3	78 - 100	83 - 101
HCM (pg)	26,4 – 33,6	27 - 31	27 - 32
CHCM (g/dL)	32 - 36	31 - 36	31,5 – 34,5
RDW (%)	11,9 - 15,1	11,5 - 15	11,6 - 14

♀ - sexo feminino, ♂ - sexo masculino, IRE – Intervalo de referência estimado, IR- Intervalo de referência, LAPAC – Laboratório Piloto de Análises Clínicas, PNCQ – Programa Nacional de Controle de Qualidade, Hm - número de hemácias, Hb - hemoglobina, Ht - hematócrito, VCM – volume corpuscular médio, HCM – hemoglobina corpuscular média, CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média e RDW - índice de anisocitose eritrocitária.

Tabela 6 – Intervalos de referência estimados (IRE), do LAPAC e do PNCQ, para os parâmetros do leucograma e contagem de plaquetas.

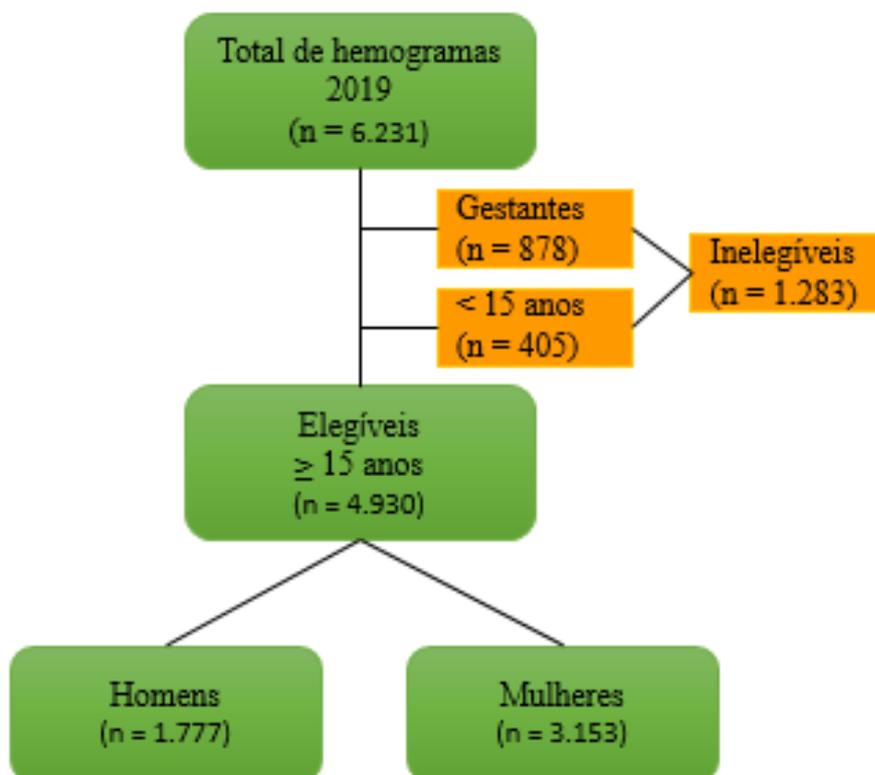
Parâmetro	IRE	IR - LAPAC	IR - PNCQ
Leucócitos (global)	3250 - 10100	4000 - 10500	4000 - 10000
Neutrófilo (relativo)	31,6 - 72,6	40 - 70	
Neutrófilo (absoluto)	1151 - 6176	1300 - 6000	2000 - 7000
Linfócitos (relativo)	17,4 - 54,2	20 - 45	
Linfócitos (absoluto)	1030 - 3497	1000 - 3500	1000 - 3000
Monócitos (relativo)	4 – 12,4	2.0 - 10.0	
Monócito (absoluto)	208 - 852,9	Até 1000	200 - 1000
Eosinófilos (relativo)	0,3 – 6,6	0.5 - 6	
Eosinófilos (absoluto)	19,44 - 411,7	Até 500	20 - 500
Basófilos (relativo)	0 – 1	0.0 - 2	
Basófilos (absoluto)	0 - 63	Até 100	20 - 100
Plaquetas (/mm³)	131.000 – 356.000	150.000 – 450.000	150.000 – 400.000

IRE – Intervalo de referência estimado, IR- Intervalo de referência, LAPAC – Laboratório Piloto de Análises Clínicas, PNCQ – Programa Nacional de Controle de Qualidade

4.7 Frequência de resultados alterados do hemograma estimada pelos IR's

Com o intuito de comparar os resultados obtidos através do IRE com os outros dois IR analisados neste estudo foram estimadas as porcentagens de aumento ou diminuição do número de hemácias, leucócitos totais e plaquetas. Esta comparação foi realizada utilizando-se um outro banco de dados, referente aos hemogramas realizados no ano de 2019, que totalizam 6.211. Deste banco total foram retiradas as gestantes, que somam 876 (14,1%), restando 5.335 resultados (Figura 3).

Figura 3 – Fluxograma de seleção amostral para o testar o IRE, Ouro Preto, Brasil, 2019.



Para a análise do eritrograma, foram removidos 405 (6,5%) indivíduos menores de 15 anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION et. al., 2011). Dessa forma, foram utilizados 4.930 resultados, sendo 1.777 (36,0%) do sexo masculino e 3.153 (63,9%) do sexo feminino. Para a análise do leucograma também foi realizada a exclusão referente à idade, mudando-a apenas para 13 anos, totalizando assim, 5.006 resultados analisados (PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE et. al., 2019).

Para testarmos o IRE este foi comparado ao utilizado pelo LAPAC e o do PNCQ sendo observado que a frequência de anemia utilizando-se o novo IR foi de 11,2% na população avaliada; 15,7%, utilizando o IR do LAPAC e 9,1% pelo IR do PNCQ. A porcentagem de policitemia da população estudada baseando-se no novo IR foi de 2,5%, no do LAPAC foi de 0,5% e no do PNCQ, 4,8%.

Já a frequência de leucopenia foi de 2,8% para o novo IR e de 8,1% para o LAPAC e PNCQ, isso se justifica pois o *cut off* destes dois últimos é o mesmo. Porém, o limite superior é diferente, e a porcentagem de leucocitose foi de 4,4%

para o novo IR, 3,2% utilizando-se o do LAPAC e 4,7% pelo do PNCQ. A frequência de plaquetopenia foi 1,8% com o novo IR e de 3,8% para o LAPAC e também para o PNCQ, que também compartilham o mesmo *cut off*. Já a trombocitose, teve uma frequência de 6,8% para o novo IR, 1,1% para o LAPAC e 2,7% para o PNCQ (Tabela 7).

Tabela 7 – Percentual de resultados alterados no hemograma utilizando cada Intervalo de Referência, Ouro Preto, 2019.

	% (IC95%)		
	IRE	IR - LAPAC	IR - PNCQ
Anemia - ♂	9,1 (7,84 – 10,52)	11,9 (10,54 – 13,56)	7,3 (6,17 – 8,59)
Anemia - ♀	12,3 (11,19 – 13,49)	17,8 (16,46 – 19,12)	10,2 (9,16 – 11,27)
Anemia - ♂ + ♀	11,2 (10,30 – 12,06)	15,7 (14,68 – 16,71)	9,1 (8,37 – 9,98)
Policitemia - H	2,5 (1,83 – 3,28)	0,8 (0,49 – 1,36)	2,9 (2,22 – 3,79)
Policitemia - ♀	2,6 (2,06 – 3,17)	0,3 (0,16 – 0,56)	5,8 (5,03 – 6,66)
Policitemia - ♂ + ♀	2,5 (2,12 – 3,00)	0,5 (0,33 – 0,74)	4,8 (4,19 – 5,38)
Leucopenia	2,8 (2,39 -3,30)	8,1 (7,39 – 8,91)	8,1 (7,39 – 8,91)
Leucocitose	4,4 (3,83 – 4,97)	3,2 (2,73 – 3,71)	4,7 (4,11 – 5,29)
Plaquetopenia	1,8 (1,44 – 2,17)	3,8 (3,33 – 4,39)	3,8 (3,33 – 4,39)
Trombocitose	6,8 (6,18 – 7,58)	1,1 (0,82 – 1,39)	2,7 (2,26 – 3,15)

♂ – sexo masculino, ♀ - sexo feminino, ♂ + ♀ – sexo masculino e feminino, IC- intervalo de confiança, IRE – Intervalo de referência estimado, LAPAC – Laboratório Piloto de Análises Clínica, M – Mulheres, PNCQ – Programa Nacional de Controle de Qualidade.

4.8 Concordância entre os IR's

Após observar os resultados dos IR's e categorizar os resultados avaliados do hemograma da população entre normal e alterado, foi estimada a concordância entre os IRs (Tabelas 8 e 9). Para o parâmetro número de hemácias, a melhor concordância foi observada entre o IRE e LAPAC (88,5% Hm-M). A pior concordância foi entre o IR do LAPAC e o IR do PNCQ (61,1%, Hm-M). A dosagem de hemoglobina foi mais concordante entre o IRE e o do PNCQ (97,7% Hb-H) e baixa entre o IR do LAPAC e PNCQ (86,9% Hb-M). Para o parâmetro hematócrito a concordância entre o IRE e o IR do LAPAC foi a pior para os homens (73,2%), mas, para mulheres a concordância foi boa (93,7%). A melhor concordância para o hematócrito foi entre os IR do LAPAC e PNCQ (100%). Para os índices hematimétricos foi observada uma melhor concordância nos resultados do IRE e o do IR do LAPAC para VCM, CHCM e RDW, sendo a pior entre o IRE e o IR do PNCQ para estes índices. Já para o HCM foi observado o inverso, sendo a melhor concordância entre o IRE e o IR do PNCQ (90,4%) e a pior entre o IRE e o IR do LAPAC (78,7%) (Tabela 8).

Tabela 8 – Concordância entre os IR's para os parâmetros do eritrograma.

Eritrograma (Concordância)			
	IRE x IR- LAPAC	IRE x IR-PNCQ	IR-LAPAC x IR-PNCQ
Hm - ♂	81,10%	80,90%	77,90%
Hm - ♀	88,50%	72,60%	61,10%
Hb - ♂	95,50%	97,70%	93,20%
Hb - ♀	92,30%	94,60%	86,90%
Ht - ♂	73,20%	90,00%	83,10%
Ht - ♀	93,70%	93,70%	100,00%
VCM	96,20%	77,60%	81,40%
HCM	78,70%	90,40%	88,40%
CHCM	98,50%	63,80%	64,40%
RDW	98,00%	81,20%	82,80%

♂ - sexo masculino, ♀ - sexo feminino, Hm - número de hemácias, Hb - hemoglobina, Ht - Hematócrito, VCM – volume corpuscular médio, HCM – hemoglobina corpuscular média, CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média e RDW - índice de anisocitose eritrocitária.

Já quando analisamos o leucograma as concordâncias são melhores, sendo superiores a 86% em todas as células, com exceção dos basófilos. As melhores concordâncias foram entre o IRE e o IR do LAPAC para neutrófilos, linfócitos e basófilos e entre os IR do LAPAC e PNCQ para leucócitos totais, monócitos e eosinófilos, além das plaquetas (Tabela 9).

Tabela 9 – Concordância entre os IR's para o leucograma e contagem de plaquetas.

Leucograma e contagem de plaquetas (Concordância)			
	IRE x IR-PNCQ	IR-LAPAC x IR-PNCQ	IRE x IR-LAPAC
Leucócito	93,50%	94,40%	98,50%
Neutrófilo	97,80%	86,30%	86,60%
Linfócito	99,60%	93,20%	93,50%
Monócito	93,90%	96,70%	97,20%
Eosinófilo	95,10%	96,90%	98,10%
Basófilo	94,20%	61,20%	67,00%
Plaqueta	92,20%	93,80%	98,40%

IRE – intervalo de referência estimado, LAPAC – Laboratório Piloto de Análises Clínica e PNCQ – Programa Nacional de Controle de Qualidade.

DISCUSSÃO

Certamente o hemograma é o exame laboratorial mais frequentemente prescrito, uma vez que oferece aos profissionais de saúde uma série de parâmetros que auxiliam na diferenciação de indivíduos saudáveis e não saudáveis, no diagnóstico e prognóstico de patologias, auxílio na condução de um tratamento, entre outros (BAKRIM et al., 2018; I et al., 2019; RASOULI; POURMOKHTAR; SARKARDEH, 2017). Para a sua interpretação são utilizados os IR, entretanto, a origem do intervalo nem sempre é especificada, e muitas vezes esses valores são utilizados sem observar a aplicabilidade dos mesmos para a população local (HOROWITZ, 2018; GIORNO, Ralph et al, 1980). No entanto, no Brasil, ainda se utiliza IR de outros países (BARBOSA et al., 2013). Dessa forma é de grande importância a estimativa desses IR's. Um dos maiores laboratórios do Brasil, o Hermes Pardini, utiliza como referência para os IR dois livros sendo estes Barbara J.Bain. Blood Cells a Paractical Guide, Third Edition. 2002 e Bain BJ, Bates I, Laffan MA, Lewis SM; Dacie and Lewis: Practical Haematology; eleventh ediction; Churchill Livingstone; 2012 que são de autores americanos. Da mesma forma o PNCQ utiliza o livro Dacie and Lewis – Practical Haematology. twelfth edition, 2017, também americano, para determinar o IR dos parâmetros do hemograma.

Com o intuito de elaborar um IR para os parâmetros do hemograma para um laboratório universitário que atende ao SUS, foram avaliados 13.535 exames. Foi utilizada a metodologia indireta para a estimativa do IR, esta metodologia têm a vantagem de utilizar um banco de dados pré-existente, reduzindo assim o custo para sua elaboração; entretanto, pode estar presente no banco uma série de indivíduos que não são saudáveis, comprometendo assim, os resultados. Geralmente antes de estimar o IR pela metodologia indireta são removidos do banco de dados indivíduos não saudáveis como, por exemplo, os anêmicos (OZARDA et al., 2018). A metodologia direta tem a grande vantagem de ser mais assertiva nas escolhas dos dados, uma vez que são feitas entrevistas, análises e preenchidos formulários com uma base para decisão de exclusão e tem como desvantagens o grande tempo e recurso financeiro que se deve investir para a obtenção de resultados. No presente estudo foram excluídos os indivíduos com anemia buscando assim minimizar a influência destes indivíduos não saudáveis na estimativa dos IR's do eritrograma. Além deste grupo de anêmicos, foram

removidas as gestantes, que apresentam alterações fisiológicas no hemograma (SOUZA, 2002), e os menores de 15 anos, que de acordo com a WHO apresentam valores inferiores de hemoglobina (WORLD HEALTH ORGANIZATION et. al., 2011).

Com a finalidade de testar o IRE foi verificada a frequência de diminuição e aumento nos valores de hemoglobina, leucócitos e plaquetas em outro grupo de pacientes, comparando o IRE obtido ao utilizado pelo LAPAC e PNCQ. Em relação a hemoglobina verificou-se que a frequência de anemia foi de 11,2% com o IRE, de 15,7% com o IR do LAPAC e 9,1% com o IR do PNCQ. Dados da Pesquisa Nacional de Saúde realizada em 2013 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em parceria com o Ministério da Saúde avaliando 8060 pessoas, maiores de 18 anos, distribuídas em todos os estados, estimou uma prevalência nacional de 9,9% (MACHADO et al., 2019), que foi mais semelhante a encontrada com o IR do PNCQ, seguido do observado com o IRE e por último com o IR do LAPAC. Isto mostra que o ponto de corte inferior de Hb utilizado no LAPAC é alto e pode estar superestimando a prevalência de anemia na população.

Considerando o percentual de anemia em indivíduos do sexo masculino de 7,2%, do mesmo estudo acima mencionado, observa-se que a porcentagem de indivíduos anêmicos encontrada com o IR do PNCQ (7,3%) é o que mais se aproxima da nacional e em sequência o IRE (9,2%) seguido do IR do LAPAC (12,0%). Dessa forma pode-se inferir que o IR do LAPAC pode estar superestimando os casos de anemia na população, uma vez que o *cut off* para anemia baseado na concentração de hemoglobina é o mais alto (13,5 g/dL), sendo este superior ao da *World Health Organization* (WHO). Já para mulheres, o estudo brasileiro demonstrou uma prevalência de 12,3% e através do IRE também foi observado este percentual na população atendida pelo LAPAC (MACHADO et al., 2019). Já pelo IR do PNCQ este percentual foi de 10,2% e pelo IR do LAPAC 17,8%. Da mesma forma é possível que o IR do LAPAC esteja superestimando os casos de anemia. Vale ressaltar que a prevalência maior de anemia nas mulheres se justifica, pois, tendem a apresentar menor reserva de ferro que os homens devido ao fluxo menstrual e também a diferenças hormonais, tendo como consequência uma maior chance de se ter anemia em relação ao sexo masculino

(RODRIGUES, et. al., 2010). A concordância entre os valores de hemoglobina foi melhor entre o IRE e IR do PNCQ corroborando para os resultados anteriores, visto que os percentuais de anemia entre mulheres e homens foi mais semelhante utilizando estes IRs.

Com o limite superior mais alto, a porcentagem de indivíduos com policitemia foi menor com o IR do LAPAC em relação aos outros IR's. Já a concordância no caso da hemoglobina foi maior entre o IRE e o IR do PNCQ. A policitemia pode ocorrer em indivíduos com diarreia grave, queimaduras extensas, fibrose pulmonar, em neoplasias mieloproliferativas (policitemia vera), uso de tabaco, esteroides e eritropoietina (CHAUFFAILLE, Maria de Lourdes, 2010; LIESVELD, Jane, REAGAN, Patrick, 2017; Machado AG, Ribeiro PCP, 2004; Rizzo, J. D. et al, 2001). Como o LAPAC realiza principalmente exames de rotina, pacientes com diarreia grave e queimaduras extensas possivelmente não fazem parte do banco de dados analisados. A incidência de policitemia vera é relativamente muito baixa, de 2,3/100.000 pessoas por ano (Tefferi A, 2003), e por esses motivos o limite superior de Hb no IRE foi muito semelhante ao do PNCQ. Pacientes que fazem uso de esteroides e eritropoietina possivelmente representam uma pequena parcela da população avaliada, uma vez que, a eritropoietina é utilizada em anemias, como por exemplo anemias advindas de doença renal crônica ou a anemia relacionada ao câncer (Rizzo et al., 2001; Elliott; PHAM; MACDOUGALL, 2008), que são casos mais graves e com menor prevalência na população. Por outro lado, os esteroides são utilizados na clínica como reposição, além do seu uso indevido por atletas (MACHADO, A. G., RIBEIRO, P. C. P., 2004) podendo ter interferência na análise, porém acredita-se ser muito baixa. Sendo assim, o principal interferente nesse caso seria o tabagismo que pode ter influenciado um pouco o aumento do intervalo superior da Hb em nossa análise, quando comparado ao IR do PNCQ.

A leucopenia é a redução do número de leucócitos no sangue periférico que pode ocorrer devido a infecções virais e bacterianas, como hepatites, HIV e tuberculose, uso de medicamentos como anti-inflamatórios, antibacterianos, anticonvulsivantes e antidepressivos, poluentes ou até mesmo doenças autoimunes (Tele Saúde RS, 2017; NAOUM, 2007; CHRISTEN; BRÜMMENDORF; PANSE, 2017). A porcentagem de indivíduos com leucopenia utilizando o IRE foi

de 2,8% e através do IR do LAPAC e do PNCQ 8,1%, para ambos, isso porque tanto o LAPAC quanto o PNCQ utilizam do mesmo *cut off* (4.000 células/mm³). Como o *cut off* do IRE foi menor (3.250 células/mm³) consequentemente a porcentagem de indivíduos que apresentaram leucopenia também foi inferior. Esta diferença observada nos IRE para leucócitos pode ser devido à dificuldade de remover do banco de dados resultados de indivíduos não saudáveis, como foi realizado na estimação do IRE do eritrograma, no qual foram excluídos os anêmicos. Como nesse estudo, não se dispunha das informações clínicas dos pacientes, que permitissem esta avaliação prévia para a exclusão, em casos das doenças, infecções, utilização de medicamentos ou poluentes supracitados, um resultado compatível com tais condições não foi removido do banco de dados. O LAPAC, sabidamente, realiza em sua maioria, exames de rotina. Dessa forma, pode-se inferir que, a quantidade de usuários que estão com algum processo infeccioso é menor. Por outro lado, as classes farmacológicas supracitadas são de grande utilização, podendo ocasionar esta alteração. Informações sobre medicação utilizada pelo paciente são obtidas no momento da coleta de sangue, entretanto elas não estavam presentes no banco de dados fornecido, uma vez que não entram no sistema de informação do laboratório. Dessa forma, pode-se dizer que todos esses interferentes podem estar presentes dentro da população amostrada, e fazendo assim que o *cutt off* seja menor, gerando esta subestimação.

Por outro lado, se compararmos o IRE obtido para leucócitos totais nesse estudo e o encontrado na Pesquisa Nacional de Saúde, podemos observar que ambos têm seus *cut off* com valores inferiores quando comparados aos utilizados pelo PNCQ e LAPAC, além dos IR's para neutrófilos absoluto também serem inferior para ambos (Rosenfeld, L. G., et. al., 2019). A neutropenia étnica benigna, que é, uma condição encontrada na população preta e em seus descendentes, que se trata da redução da contagem de neutrófilos sem uma causa patológica. Esta situação pode justificar os baixos valores de leucócitos totais e neutrófilos absoluto obtidos nesse trabalho, uma vez que a população preta e parda somada representa 65,17% da população ouro-pretana, essa mesma condição, pode ter interferido no trabalho realizado a nível nacional, uma vez que 56,2% da população brasileira se auto declara pardo ou preta. Isso corrobora para a necessidade de um IR diferente da população americana ou europeia (GONZALEZ,

Luiz Ricardo, et al, 2010; IBGE, 2019).

A leucocitose pode ser dividida em três formas, leucocitose fisiológica, que é comum em RN, lactantes, em pessoas com quadros febris e após atividade física; em leucocitose reativa que tem como principais causas as infecções bacterianas, quadros inflamatórios, necrose e doenças metabólicas e por último a leucocitose patológica que está associada a doenças mieloproliferativas dentre estas a leucemia mielóide, policitemia vera e as doenças linfoproliferativas (NAOUM, 2007). A porcentagem de indivíduos com leucocitose foi de 4,4% pelo IRE, que ficou muito próxima a do IR do PNCQ 4,7; já com o IR do LAPAC esta porcentagem foi de 3,2%. Isso se justifica pelos valores de intervalos do IRE e do PNCQ serem próximos (10.100 células/mm³ e 10.000 células/mm³, respectivamente). O valor adotado pelo LAPAC é relativamente superior (10.500 células/mm³), podendo ser interpretado também como uma possível subestimação. Porém, se analisarmos a concordância entre os intervalos, os IR's do LAPAC e do PNCQ foram mais concordantes com 98,5%. Já em comparação do IRE com o do LAPAC e o PNCQ, o IRE foi mais concordante com o PNCQ (94,4%) e com o LAPAC uma concordância ligeiramente inferior (93,5%). É importante ressaltar que esta concordância entre os IR leva em conta os valores alterados (leucopenia e leucocitose) e os valores "normais".

As principais causas de plaquetopenia são as púrpuras trombocitopênicas que podem ser por insuficiência na produção de plaquetas (leucemia, drogas, infecções virais, anemia aplástica, doenças mieloproliferativas, radioterapia); aumento do consumo (destruição imunológica, coagulação intravascular disseminada); hiperesplenismo e plaquetopenia induzida por drogas que causam supressão medular (cloranfenicol, benzeno, acetaminofen, cefalotina, heparina, penicilina) (NAOUM, 2007). Como os IR do LAPAC e do PNCQ são os mesmos, a frequência desta alteração também foi 3,8% para ambos; já com o IRE obtivemos 1,8%, isto porque o valor de *cut off* do IRE ficou consideravelmente abaixo (131.000 /mm³), em relação os outros dois. Uma possibilidade deste *cut off* mais baixo é a presença de pacientes com dengue e, conseqüente plaquetopenia, que abaixaria o ponto de corte e como não se dispunha de dados clínicos, estes foram mantidos nas análises.

A trombocitose é uma doença que eleva o número de plaquetas no sangue e que tem como principais causas as doenças inflamatórias crônicas, infecção bacteriana e doenças mieloproliferativas (LIESVELD, Jane, REAGAN, Patrick, 2017; LIESVELD, Jane, REAGAN, Patrick, 2017). Para a trombocitose, possivelmente o IRE está com uma porcentagem superestimada, que nesse caso foi de 6,8%, enquanto o LAPAC apresentou 1,1% e o IR do PNCQ, 2,7%. Isso pode ter ocorrido, como também no leucograma, devido à dificuldade de se ajustar o banco de dados removendo os registros com alguma patologia. Da mesma forma, pode-se esperar o mesmo para os resultados de concordância, que foi maior entre o LAPAC e PNCQ (98,4%), por apresentarem um mesmo *cut off*.

É importante ressaltar que o presente estudo apresenta limitações que podem ter gerado interferências na estimação dos IR's, como a possível não exclusão da maioria dos indivíduos portadores de alguma patologia, que nesse trabalho conseguimos excluir apenas para a avaliação do eritrograma e mesmo assim as policitemias não foram removidas. Além disso, o banco de dados não continha informações sobre estado de saúde, utilização de medicamentos e drogas que permitissem uma avaliação mais criteriosa na exclusão de dados.

Apesar de todas as limitações, o presente estudo pode auxiliar em novos trabalhos e instigar pesquisas relacionadas. Além disso, pode trazer perspectivas para novos trabalhos utilizando outras metodologias como por exemplo a mineração de dados na tentativa de excluir registros de pessoas com patologias.

CONCLUSÃO

É possível concluir que a necessidade da criação de IR's "regionais" é de suma importância. A estimação de intervalos de referência através da metodologia indireta é uma boa alternativa para os laboratórios que possuem banco de dados, entretanto apresenta limitações que podem comprometer os resultados. Assim, é importante que os laboratórios, além dos dados do hemograma, registrem dados clínicos dos pacientes e outras informações como uso de medicamento, para que assim, seja possível descartar os dados de pessoas "não saudáveis" para uma estimação do IR.

REFERÊNCIAS:

BAKRIM, S. et al. Establishment of the hematology reference intervals in a healthy population of adults in the northwest of Morocco (Tangier-Tetouan region). **Pan African Medical Journal**, v. 29, p. 1–18, 2018.

BARBOSA, N. et al. **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE** Rio de Janeiro: IBGE, 2013.

BENTO, G. M.; TERUEL, R. Avaliação De Métodos De Remoção De Outliers E Seus Impactos Na Precisão Dos Métodos De Interpolação. p. 4, 2018.

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

CHAUFFAILLE, Maria de Lourdes LF. Neoplasias mieloproliferativas: revisão dos critérios diagnósticos e dos aspectos clínicos. **Revista Brasileira de hematologia e hemoterapia**, v. 32, n. 4, p. 308-316, 2010.

CHRISTEN, D.; BRÜMMENDORF, T. H.; PANSE, J. Leukopenie – ein diagnostischer Leitfaden für die Praxis Leukopenie – akuter Handlungs- Erste wichtige Schritte in der Differenzialdiagnostik Um eine diagnostizierte Leukopenie genauer einordnen. p. 1744–1749, 2017.

Elliott, s.; PHAM, E.; MACDOUGALL, I. C. Erythropoietins: A common mechanism of action. **Experimental Hematology**, Philadelphia, v. 36, n. 12, p. 1573-1584, dec. 2008. doi: 10.1016/j.exphem.2008.08.003.

EL-HAZMI, M. A. F.; WARSY, A. S. Normal reference values for hematological parameters, red cell indices, Hb A2 and Hb F from early childhood through adolescence in Saudis. **Annals of Saudi Medicine**, v. 21, n. 3–4, p. 165–169, 2001.

HOROWITZ, G. L. REFERENCE INTERVALS : PRACTICAL ASPECTS. **EJIFCC**, v. 19, p. 95–105, 2018.

I, N. S. B. et al. Valores de referência para exames laboratoriais de hemograma da população adulta brasileira : **Pesquisa Nacional de Saúde**. v. 22, n. Suppl 2, p. 1–13, 2019.

GIORNO, Ralph et al. Hematology reference values analysis by different statistical technics and variations with age and sex. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 74, n. 6, p. 765-770, 1980.

GONZALEZ, Luiz Ricardo, et al. "Neutropenia étnica na prática da Medicina do Trabalho: revisão." **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho• São Paulo• Vol 8.1 (2010): 47.**

JONES, G. R. D. et al. Indirect methods for reference interval determination - Review and recommendations. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 57, n. 1, p. 20–29, 2019.

KARITA, E. et al. CLSI-derived hematology and biochemistry reference intervals for healthy adults in eastern and southern Africa. **PLoS ONE**, v. 4, n. 2, 2009.

LIESVELD, Jane, REAGAN, Patrick, Eritrocitose secundária, **Manual MSD**, Kenilworth, NJ, EUA, Janeiro de 2017. Disponível em: <<https://www.msdmanuals.com/pt/profissional/hematologia-e-oncologia/dist%C3%BArbios-mieloproliferativos/eritrocitose-secund%C3%A1ria>> Acesso: 30 de junho de 2020.

LIESVELD, Jane, REAGAN, Patrick, Trombocitose essencial, **Manual MSD**, Kenilworth, NJ, EUA, Janeiro de 2017. Disponível em: <<https://www.msdmanuals.com/pt-pt/profissional/hematologia-e-oncologia/dist%C3%BArbios-mieloproliferativos/trombocitemia-essencial>> Acesso:

30 de junho de 2020.

LIESVELD, Jane, REAGAN, Patrick, Trombocitose reativa (trombocitemia secundária), **Manual MSD**, Kenilworth, NJ, EUA, Janeiro de 2017. Disponível em: <<https://www.msmanuals.com/pt/profissional/hematologia-e-oncologia/dist%C3%BArbios-mieloproliferativos/trombocitose-reativa-trombocitemia-secund%C3%A1ria>> Acesso: 30 de junho de 2020.

Machado AG, Ribeiro PCP. Anabolizantes e seus riscos. **Adolescência & Saúde**, 2004, 1(4): 20-22.

MACHADO, Í. E. et al. Prevalência de anemia em adultos e idosos brasileiros. **REVISTA BRASILEIRA DE EPIDEMIOLOGIA**, v. 22, n. Suppl 2, p. 1–15, 2019.

NAOUM, P. C. Interpretação laboratorial do hemograma. **Hematologia Clinica**, v. 3, p. 1–11, 2007.

OZARDA, Y. et al. Distinguishing reference intervals and clinical decision limits—A review by the IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 55, n. 6, p. 420–431, 2018.

Programa Nacional de Controle de Qualidade - PNCQ. Disponível em <<https://www.pncq.org.br/uploads/2019/VNH2019.pdf>> Acesso em 30 de abril de 2020.

Quais as causas e qual a investigação inicial de leucopenia? **TelessaúdeRS - UFRGS**, 24 de novembro de 2017. Disponível em: <<https://www.ufrgs.br/telessauders/perguntas/leucopenia/>>, Acesso em: 01 do julho de 2020.

RASOULI, M.; POURMOKHTAR, M.; SARKARDEH, S. Hematological reference intervals for healthy Iranian blood donors. **International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research**, v. 11, n. 4, p. 305–312, 2017.

Rizzo, J. D. et al. Erythropoietin: a paradigm for the development of practice guidelines. Hematology/ **The Education Program of the American Society of Hematology**, Washington, v. 2001, n. 1, p. 10-30, jan. 2001. doi:10.1182/asheducation-2001.1.10

RODRIGUES, LILIAN P., JORGE, S. R. P. Deficiência de ferro na mulher adulta
The iron deficiency in adult woman. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 55 11, p. 49–52, 2010.

Rosenfeld, L. G., Malta, D. C., Szwarcwald, C. L., Bacal, N. S., Cuder, M. A. M., Pereira, C. A., ... & Vecina Neto, G. (2019). Valores de referência para exames laboratoriais de hemograma da população adulta brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, 22, E190003-SUPL.

ROUSSEEUW, Peter J.; HUBERT, Mia. Anomaly detection by robust statistics. **WIRES Data Mining and Knowledge Discovery**. Lovaina, Belgium, p. 3-4, nov. 2017.

SOUZA, A. I. Alterações hematológicas e gravidez. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**, v. 24, n. 1, p. 29–36, 2002.

Tefferi A. Polycythemia vera: a comprehensive review and clinical recommendations. **Mayo Clin Proc** 2003; 78: 174-94.

TUKEY, John W. **Exploratory data analysis**. 1977.

WORLD HEALTH ORGANIZATION ET. AL. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. **World Health Organization**, 2011.