

ANÁLISE COMPARATIVA DO VPM AUTOMATIZADO COM A MICROSCOPIA UTILIZANDO O ANALISADOR NIHON KOHDEN CELLTAC G.

COMPARATIVE ANALYSIS OF AUTOMATED VPM WITH MICROSCOPY USING THE NIHON KOHDEN CELLTAC G ANALYZER.

**Gregory Jaeger^{1*}; Luis Fernando Zittel¹; Maicon Adriano Gasparelo¹; Paulo Cézar
Gregório²; Railson Henneberg³**

1 - Biomédico, pós-graduado em Hematologia – Faculdades Pequeno Príncipe

2 - Farmacêutico, Doutor em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Professor da Universidade Federal do Paraná – Setor de Análises Clínicas.

3 - Farmacêutico, Doutor em Análises Clínicas, Professor da Universidade Federal do Paraná – Setor de Análises Clínicas.

RESUMO:

Os parâmetros plaquetários avaliados pelos analisadores hematológicos, tem sido amplamente utilizado, principalmente para correlacionar o volume plaquetário médio (VPM) com situações clínicas que envolvem o aumento do tamanho das plaquetas. O objetivo deste estudo foi comparar os valores do VPM liberados pelo analisador Nihon Kohden Celltac G modelo MEK 9.100 com a avaliação do tamanho das plaquetas em extensões sanguíneas. Foram avaliados dados de 400 hemogramas de pacientes saudáveis ou em acompanhamento terapêutico ambulatorial. As amostras foram divididas em dois grupos: (i) VPM normal (7 a 11fL) (n=200) e (ii) VPM acima do intervalo de referência (> 11 fentoliter (fL)) (n=200). A análise do VPM e a confecção da lâmina foram realizadas em até 2 horas após a coleta. Foram contadas 100 plaquetas por lâmina e classificadas de acordo com a porcentagem de macroplaquetas e plaquetas gigantes encontradas. O intervalo de valores do VPM no grupo estudado foi de 7,6 e 16,3 fL ($10,6 \pm 1,6$). No grupo (i), 92% das extensões sanguíneas não apresentaram alterações plaquetárias; em 10 amostras a alteração encontrada foi classificada como discreta e apenas 1 lâmina apresentou a presença de macroplaquetas. No grupo (ii), 134 amostras foram classificadas pela presença de macroplaquetas; 17 amostras apresentaram tanto macroplaquetas quanto plaquetas gigantes e 32 lâminas foram classificadas como presença discreta. Apenas 8% das amostras (n=16) com VPM alto foram classificadas como ausente. Os resultados indicam que há correlação entre o VPM e a presença de alterações de tamanho das plaquetas quando a mesma é realizada de forma padronizada.

Palavras-chave: Volume plaquetário médio, Plaquetas, Macroplaquetas, Plaqua gigante, Nihon Kohden Celltac G.

ABSTRACT:

The platelet parameters evaluated by hematological analyzers have been widely used, especially to correlate the mean platelet volume (MPV) with clinical situations involving increased platelet size. The aim of this study was to compare the MPV values released by the Nihon Kohden Celltac G model MEK 9,100 analyzer with the evaluation of platelet size in blood stretches. Data from 400 blood counts of healthy patients or patients in outpatient therapeutic follow-up were evaluated. Samples were divided into two groups: (i) normal PMV (7 to 11fL) (n=200) and (ii) PMV above the reference range (> 11 phentoliter (fL)) (n=200).

MPV analysis and slide preparation were performed within 2 hours after collection. One hundred platelets were counted per slide and classified according to the percentage of macroplatelets and giant platelets found. The range of MPV values in the studied group was 7.6 and 16.3 fL (10.6 ± 1.6). In group (i), 92% of the blood smears did not present platelet alterations; in 10 samples the alteration found was classified as mild and only 1 slide presented the presence of macroplatelets. In group (ii), 134 samples were classified by the presence of macroplatelets; 17 samples presented both macroplatelets and giant platelets and 32 slides were classified as discrete presence. Only 8% of samples (n=16) with high MPV were classified as absent. The results indicate that there is a correlation between MPV and the presence of platelet size changes when it is performed in a standardized manner.

Keywords: Mean platelet volume, Platelets, Macroplatelets, Giant platelet, Nihon Kohden Celltac G.

1. INTRODUÇÃO

Os analisadores hematológicos, além de substituírem totalmente as contagens manuais, fornecem novos parâmetros que mudam a interpretação laboratorial e clínica do hemograma. Os novos parâmetros foram desenvolvidos para a série vermelha, leucocitária e plaquetária (VAN DER MEIJDEN; HEEMSKERK, 2019). Dentre os novos parâmetros da série plaquetária está o volume plaquetário médio (VPM). O VPM mede o volume médio das plaquetas (tamanho), e está relacionado a problemas cardíacos porque plaquetas com maior VPM agregam mais facilmente e podem levar a formação de trombos plaquetários (RAMAKRISHNAN et al., 2020), que é um fator de risco independente para o infarto agudo do miocárdio e para a obstrução arterial coronariana na angina instável (CARRILLO-ESPER et al., 2013; WENDLAND; FARIAS; MANFROI, 2009). A doença cardiovascular (CV) é uma das principais causas de mortalidade ou incapacidade e têm grande importância devido aos seus diversos riscos (WADA et al., 2018).

O monitoramento da quantidade e do VPM podem ajudar na avaliação do prognóstico de pacientes com doença arterial coronariana, uma vez que essa condição está associada com a ativação plaquetária e a eventos cardíacos e vasculares como a aterosclerose e trombose arterial (KORNILUK et al., 2019; RODRIGUES et al., 2013). Na aterosclerose ocorrem estímulos aos megacariócitos da medula óssea, relacionado à síndrome coronariana aguda, devido ao alto consumo de plaquetas circulantes na aterogênese, piorando o prognóstico do paciente (KORNILUK et al., 2019).

Diante do exposto, O objetivo deste estudo foi comparar os valores do VPM liberados pelo analisador automático Nihon Kohden Celltac G modelo MEK 9.100 com a avaliação do tamanho das plaquetas em extensões sanguíneas e, com isso, avaliar a confiabilidade do VPM automatizado para que o mesmo possa ser expresso no laudo do hemograma sem a necessidade de revisão microscópica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal do Paraná (UFPR) sob o parecer CEP/SD-PB nº 4884646 e CAAE: 46418921.5.0000.0102.

Os resultados foram coletados na base de dados do Laboratório Góes, na cidade de Guarapuava - PR entre os meses de abril de 2021 e de abril de 2022 em um total de 400 amostras. Os dados laboratoriais dos pacientes obedeceram aos critérios de inclusão e exclusão abaixo relacionados.

Critérios de inclusão: Fizeram parte do estudo apenas os hemogramas coletados na matriz do Laboratório Góes em tubos à vácuo com anticoagulante EDTA. Com relação a condição clínica dos pacientes, todos ambulatoriais, e que se encaixam em um grupo de pessoas saudáveis ou com comorbidades e doenças pré-existentes em investigação ou tratamento.

Critério de exclusão: Os pacientes hospitalizados não foram selecionados para a pesquisa, bem como os pacientes que realizaram coleta domiciliar.

Os dados foram estratificados e selecionados em 02 grupos, um com valor de VPM normal (variação entre 7 e 11fL) (n=200) e outro grupo (n=200) com valores de VPM acima do intervalo de referência ($> 11\text{fL}$). Foram coletadas as idades dos pacientes e o resultado da contagem de plaquetas realizada pela automação.

O processamento do resultado e a análise morfológica das amostras foram realizadas em um intervalo não superior a 2 horas após a coleta e as extensões sanguíneas foram coradas pela técnica de May-Grünwald Giemsa.

Para a avaliação das plaquetas, foram contadas 100 plaquetas por lâmina e sua classificação foi realizada de acordo com a porcentagem de macroplaquetas e plaquetas gigantes encontradas. As amostras foram classificadas em (1) ausência de macroplaquetas; (2) presença discreta de macroplaquetas – número inferior a 10%; (3) presença de macroplaquetas – número superior a 10% e (4) presença de plaquetas gigantes e macroplaquetas, quando o número de macroplaquetas era superior a 10%, concomitante com a presença de ao menos 3% de plaquetas gigantes.

TABELA 1 - Método de classificação morfológica dos tamanhos plaquetários avaliados nas extensões sanguíneas

CLASSIFICAÇÃO	ACHADO MICROSCÓPICO
Presença de macroplaquetas	Superior a 10% de macroplaquetas
Presença discreta de macroplaquetas	Inferior a 10% de macroplaquetas
Ausência de macroplaquetas	Não houve presença de macroplaquetas
Presença de plaquetas gigantes e macroplaquetas	Superior a 10% de macroplaquetas e presença de pelo menos 3% de plaquetas gigantes

Fonte: Os autores (2022)

3. RESULTADOS

Nas 400 amostras coletadas, o valor do VPM ficou compreendido entre 7,6 e 16,3 fL, com média de 10,6 fL e desvio padrão médio (DPM) de 1,6. A população com VPM normal apresentou uma média de 3 fL a menos quando comparada com o grupo de VPM alterado conforme mostra a tabela 2.

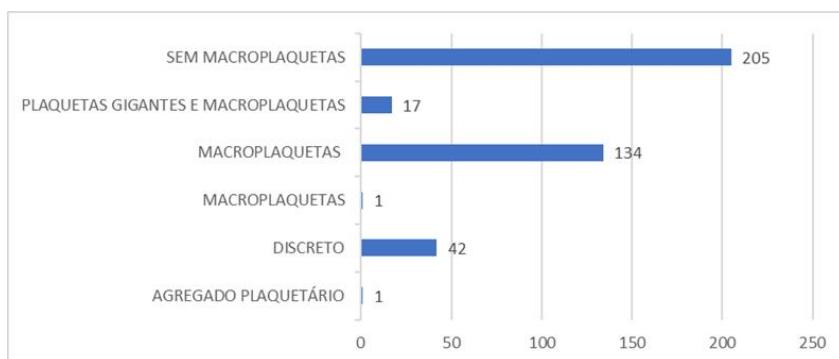
TABELA 2 - ESTRATIFICAÇÃO DE GRUPOS

GRUPOS	MÉDIA	DPM
Grupo total (n=400)	10,6	1,6
VPM normal (n=200)	9,03	0,5
VPM alterado (n=200)	12,22	0,6
VPM acima de 50 anos (n=197)	10,7	1,7
VPM abaixo de 50 anos (n=203)	10,4	1,5

DPM: desvio padrão médio.

Fonte: Os autores (2022).

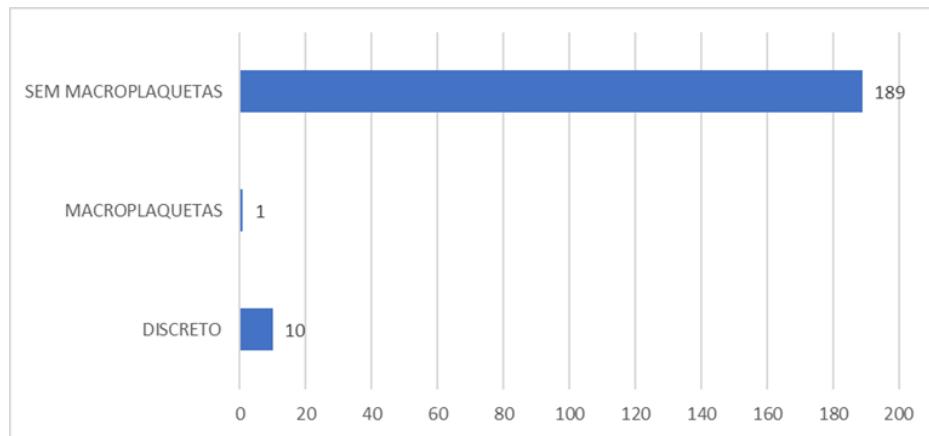
Nas amostras analisadas na microscopia ótica, 205 amostras (51,25%) não mostraram nenhuma alteração plaquetária e 195 amostras (48,75%) mostraram alguma alteração significativa, sendo que a presença de macroplaquetas estava presente em 135 amostras. A figura 1 mostra a distribuição das alterações do tamanho plaquetário nas amostras analisadas.



Fonte: Os autores (2022).

FIGURA 1 – Distribuição das alterações de tamanho plaquetário nas 400 amostras analisadas

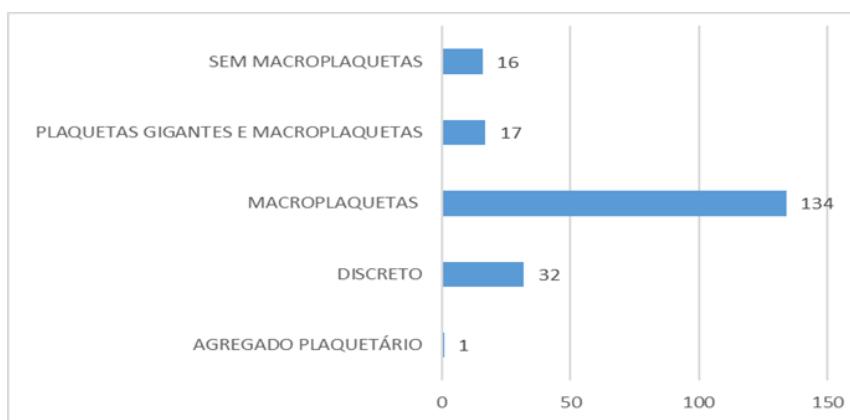
Estratificando os resultados com base no valor de referência do equipamento (7 a 11 fL), pode-se estabelecer dois grupos: um grupo com valores normais e um grupo com valores alterados. Com o VPM dentro dos limites de referência está 92,5% da população sem nenhuma alteração visualizada na extensão sanguínea. Apenas 11 amostras apresentaram alteração microscópica, sendo uma com alteração significativa de macroplaquetas. A figura 2 demonstra os valores do VPM do grupo normal.



Fonte: Os autores (2022).

FIGURA 2 – Valores do vpm do grupo normal

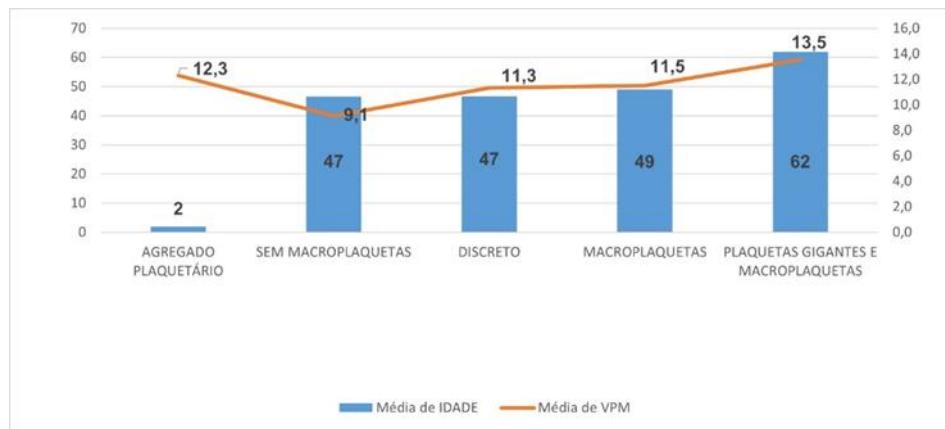
Nos resultados das amostras com VPM fora dos valores de referência foi possível observar que 16 amostras (8%) não apresentaram alterações microscópicas, 184 (92%) apresentaram alguma alteração significativa e a incidência de macroplaquetas foi de 67% ($n=134$). A figura 3 demonstra o grupo com VPM alterado.



Fonte: Os autores (2022)

FIGURA 3 – Grupo com vpm alterado

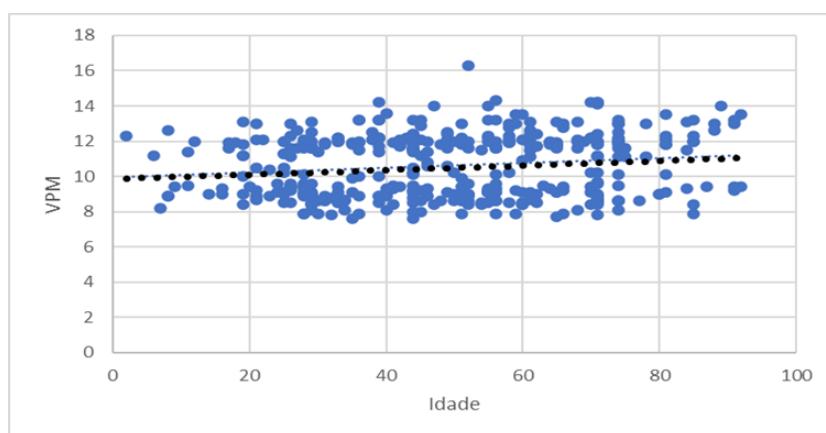
Considerando as demais variáveis coletadas para este estudo como idade e valor absoluto de plaquetas foi observado que a idade média de 47 anos pode ser dividida em dois grupos: VPM normal com ausência de alterações nas plaquetas, e um grupo com VPM alterado e presença discreta de macroplaquetas. A idade média de 62 anos é o grupo que apresenta valores de VPM aumentados e com alteração microscópica (Figura 4).



Fonte: Os autores (2022)

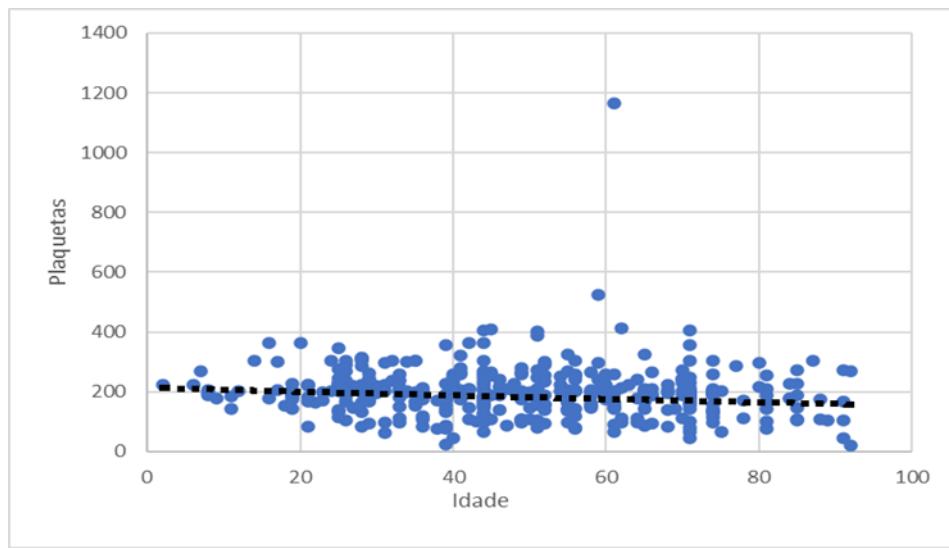
FIGURA 4 – Comparativo entre vpm, idade e alterações microscópicas

Ao comparar a idade com o VPM, é possível visualizar um aumento do VPM proporcional ao aumento da idade, apresentando uma linha média de tendência exponencial ascendente (Figura 5). Em contrapartida é observado uma tendência média exponencial descendente ao comparar a idade com as plaquetas do indivíduo (Figura 6).



Fonte: Os autores (2022)

FIGURA 5 – Correlação da idade e VPM



Fonte: Os autores (2022)

FIGURA 6 – Correlação da idade com plaquetas

4. DISCUSSÃO

Os equipamentos automatizados de hematologia têm proporcionado nos últimos anos importantes avanços e novas ferramentas que, se bem utilizadas, podem auxiliar no diagnóstico de situações clínicas através do hemograma (MLINARIC et al., 2018). Com a introdução dos parâmetros plaquetários o interesse pelo seu uso no diagnóstico de alterações plaquetárias tem aumentado, principalmente na relação do VPM com situações clínicas que envolvem o aumento do tamanho das plaquetas (NORIS; MELAZZINI; BALDUINI, 2016).

Confrontando a análise dos resultados do analisador hematológico e a visualização das alterações morfológicas das plaquetas por técnica padronizada, foi possível observar uma correlação entre valores altos de VPM e a presença de plaquetas com tamanhos aumentados na extensão sanguínea.

É importante ressaltar que os resultados obtidos da população estudada, são exclusivos para o equipamento NIHON KOHDEN CELLTAC G, modelo MEK 9100 e para as características da amostra estudada, o qual mostrou que a análise do VPM é útil para indicar a revisão microscópica da extensão sanguínea quanto a presença de plaquetas com tamanho aumentado. A aplicação destes resultados para outros equipamentos ou outro tipo amostral devem ser utilizadas com ressalvas.

Os resultados do presente trabalho indicam que uma vez que todos os cuidados pré-analíticos sejam observados (por exemplo, o tempo entre a coleta e a análise do hemograma) o uso do VPM automatizado pode ser útil para avaliação microscópica de plaquetas grandes ou gigantes na extensão sanguínea tornando este parâmetro uma importante ferramenta para avaliação de condições onde a ativação plaquetária exista.

5. REFERÊNCIAS

- CARRILLO-ESPER, R. et al. Volumen plaquetario medio. Su significado en la práctica clínica. Rev Invest Med Sur Mex, Enero-Marzo, v. 20, n. 1, p. 17– 20, 2013.
- KORNILUK, A. et al. Mean Platelet Volume (MPV): New Perspectives for an Old Marker in the Course and Prognosis of Inflammatory Conditions. *Mediators of Inflammation*, v. 2019, p. 1–14, 17 abr. 2019.
- MLINARIC, A. et al. Autovalidation and automation of the postanalytical phase of routine hematology and coagulation analyses in a university hospital laboratory. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, v. 56, n. 3, p. 454–462, 23 fev. 2018.
- NORIS, P.; MELAZZINI, F.; BALDUINI, C. L. New roles for mean platelet volume measurement in the clinical practice? *Platelets*, v. 27, n. 7, p. 607–612, 2 out. 2016.
- RAMAKRISHNAN, A. et al. Mean platelet volume and cardiac-surgery– associated acute kidney injury: a retrospective study. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie*, v. 67, n. 12, p. 1775–1788, 15 dez. 2020.
- RODRIGUES, B. R. et al. Análise do Volume Plaquetário Médio (VPM) em pacientes com Doença Arterial Coronariana. *Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba*, v. 15, n. 1, p. 192–197, 2013.
- VAN DER MEIJDEN, P. E. J.; HEEMSKERK, J. W. M. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. *Nature Reviews Cardiology*, v. 16, n. 3, p. 166–179, 14 mar. 2019.

WADA, H. et al. Mean platelet volume and long-term cardiovascular outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Atherosclerosis*, v. 277, n. August, p. 108–112, out. 2018.

WENDLAND, A. E.; FARIAS, M. G.; MANFROI, W. C. Volume plaquetário médio e doença cardiovascular. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 45, n. 5, p. 371–378, out. 2009.

***Autor para correspondência:**

Gregory Jaeger

Email: gregoryjaeger@hotmail.com

Faculdades Pequeno Príncipe

RECEBIDO: 11/04/2023 ACEITE: 16/06/2023