

Letícia Pereira Dias Arruda^{1,2}
Andrêssa Silvino Ferreira Assis²

¹Pós-graduação em Análises Clínicas, Programa de Residência Multiprofissional em Saúde do Adulto com Ênfase em Doenças Crônico-degenerativas, Hospital Universitário, Universidade Federal de Juiz de Fora, Brasil.

²Laboratório de Análises Clínicas, Hospital Universitário, Universidade Federal de Juiz de Fora, Brasil.

✉ **Letícia Arruda**

Av. Barão do Rio Branco, 1191/903, Juiz de Fora, Minas Gerais
CEP: 36035-000
✉ pdias.leticia@gmail.com

Submetido: 07/04/2022
Aceito: 14/06/2022

RESUMO

Introdução: Os intervalos de referência (IRs) disponibilizados em laudos de exames laboratoriais orientam a interpretação dos resultados, respaldando a avaliação clínica realizada por profissionais de saúde. **Objetivo:** Validar IRs de parâmetros bioquímicos, com base nas características da população local, bem como em informações disponíveis nas bulas dos reagentes e na literatura científica. **Material e Métodos:** Foi realizado um estudo observacional, descritivo e transversal para padronização de IRs de trinta e quatro parâmetros bioquímicos, executados pelo laboratório de análises clínicas de um hospital universitário. Participaram do estudo quarenta indivíduos adultos, pareados pelo sexo, que responderam um questionário sobre o estado geral de saúde. Uma amostra de sangue foi coletada de cada participante e analisada conforme os padrões do laboratório. **Resultados:** Os dados obtidos com os voluntários saudáveis permitiram a validação dos IRs de albumina, alanina aminotransferase, amilase, aspartato aminotransferase, bilirrubina direta, bilirrubina indireta, bilirrubina total, cálcio iônico, capacidade total e latente de fixação de ferro, creatinquinase fração MB, cloro, ferro, fosfatase alcalina, fósforo, gama glutamiltransferase, glicose, lipoproteína de alta densidade, lactato, lactato desidrogenase, lipase, magnésio, potássio, proteínas totais, saturação da transferrina, sódio, triglicérides e ureia, de ambos os sexos. Ácido úrico foi validado apenas para o sexo masculino e creatinquinase total (CK) foi validado apenas para o sexo feminino. **Conclusão:** Os IRs contidos nas bulas destes reagentes representam a população atendida pelo laboratório e podem continuar sendo utilizados. Em contrapartida, os IRs dos analitos colesterol total, lipoproteína de baixa densidade, cálcio, ácido úrico feminino e CK masculino não foram validados e necessitam de novos estudos para a validação dos intervalos de referência utilizados.

Palavras-chave: Técnicas de Laboratório Clínico; Testes de Química Clínica; Valores de Referência.

ABSTRACT

Introduction: The reference intervals (RIs) provided in laboratory test reports orientate the interpretation of results, supporting the clinical evaluation performed by health professionals. **Objective:** Validate RIs of biochemical parameters, based on the characteristics of the local population, as well as on information available in the package inserts of the reagents and in the scientific literature. **Material and Methods:** An observational, descriptive, and cross-sectional study was carried out for the standardization of RIs of thirty-four biochemical parameters, performed by the Clinical Analysis laboratory of a university hospital. Forty adult individuals, matched by sex, participated in the study, who answered a questionnaire about their general health status. A blood sample was taken from each participant and analyzed according to laboratory standards. **Results:** Data obtained from healthy volunteers allowed the validation of the RIs of albumin, alanine aminotransferase, amylase, aspartate aminotransferase, direct bilirubin, indirect bilirubin, total bilirubin, ionic calcium, total and latent iron-binding capacity, creatine kinase MB fraction, chlorine, iron, alkaline phosphatase, phosphorus, gamma glutamyltransferase, glucose, high density lipoprotein, lactate, lactate dehydrogenase, lipase, magnesium, potassium, total proteins, transferrin saturation, sodium, triglycerides and urea, of both sexes. Uric acid has been validated for males only and total creatine kinase (CK) has been validated for females only. **Conclusion:** The RIs contained in the package inserts of these reagents represent the population assisted by laboratory and can continue to be used. The RIs of total cholesterol, low-density lipoprotein, calcium, female uric acid and male CK analytes were not validated and require further studies to validate the reference intervals used.

Key-words: Clinical Laboratory Techniques; Clinical Chemistry Tests; Reference Values.

INTRODUÇÃO

O laboratório clínico está inserido na cadeia de assistência à saúde, sendo responsável por análises bioquímicas, hematológicas, imunológicas, microbiológicas, parasitológicas e de urianálises.^{1,2} O serviço realizado pelo laboratório é considerado essencial por oferecer resultados que auxiliam a equipe médica na tomada de decisões clínicas relativas à internação de pacientes, à determinação de diagnóstico e prognóstico de doenças, ao monitoramento terapêutico, à evolução dos pacientes e à avaliação de critérios de cura ou alta hospitalar.²⁻⁴ A dinâmica laboratorial é complexa e necessita de acompanhamento de programas de garantia da qualidade, compreendendo as fases pré-analítica, analítica e pós-analítica.^{1,2} A fase pré-analítica envolve a solicitação do exame laboratorial e a orientação do paciente, bem como a coleta, a identificação, o preparo e a centrifugação das amostras clínicas, seguido do transporte e armazenamento apropriados.^{1,2} A fase analítica, por sua vez, compreende a execução de um conjunto de procedimentos laboratoriais específicos, a fim de se realizarem as análises requisitadas.^{1,5} A fase pós-analítica se inicia a partir da obtenção de resultados confiáveis e termina com a liberação do laudo para o profissional solicitante, a fim de auxiliá-lo em suas decisões clínicas.^{1,5}

Os laudos de exames laboratoriais devem conter, dentre os requisitos mínimos exigidos pela legislação vigente, os resultados das análises acompanhados dos intervalos de referência (IRs). No Brasil, essa exigência foi estabelecida pela Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 302, de 13 outubro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), sendo também recomendada pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) em seu Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC).^{1,6} Nos Estados Unidos da América (EUA), os laboratórios são regulamentados por uma lei definida em 1988 (CLIA 88) que, além de determinar a obrigatoriedade da apresentação dos IRs, orienta os laboratórios sobre o processo de criação e de avaliação periódica de seus valores próprios.⁷ Nos EUA, existe ainda um consenso do *Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organizations* (JCAHO) e do *College of American Pathologists* (CAP) sobre a responsabilidade do laboratório em estabelecer esses intervalos.^{8,9}

O IR é definido pela Organização Mundial de Saúde (OMS), pela Federação Internacional de Química Clínica (IFCC) e pelo Instituto de Padronização Clínica e Laboratorial (CLSI) como um valor ou resultado obtido pela observação ou determinação quantitativa de um analito em uma população selecionada, com base em critérios bem definidos.^{10,11,12} Comumente, o IR representa a condição de normalidade ou saúde para os

pacientes e médicos. Na maioria dos testes laboratoriais, o IR é definido pelo intervalo entre o limite superior e o inferior, entre os quais se enquadram os resultados de 95% da população de estudo, composta por indivíduos aparentemente hígidos.

A disponibilização dos IRs é fundamental, pois orienta a interpretação dos exames laboratoriais e respalda a avaliação clínica dos pacientes pelos profissionais de saúde.^{1,11} Neste contexto, é imprescindível que os IRs informados nos laudos representem a população que é submetida às análises. Para tanto, cada laboratório de análises clínicas deve determinar os IRs que corresponda à população onde está inserido.¹³ No entanto, no Brasil, tradicionalmente, os IRs para os exames laboratoriais são retirados das bulas dos kits reagentes ou de dados encontrados na literatura. Na maioria dos casos, esses valores são obtidos através de estudos realizados com populações de outros países, com hábitos de vida e misturas étnicas bastante diferentes dos brasileiros e por isso podem não representar fielmente a nossa população.¹⁴

Para determinar IRs que correspondam à sua população, os laboratórios de análises clínicas podem trabalhar na determinação de valores próprios ou na validação dos intervalos disponíveis em bulas de kits reagentes e na literatura. A determinação de IRs próprios é mais onerosa e trabalhosa, pois é necessário avaliar as variáveis biológicas dos participantes e todos os fatores que possam interferir nas análises, além disso, essa metodologia envolve a participação de, no mínimo, cento e vinte indivíduos aparentemente saudáveis.^{15,16} Por outro lado, a validação de IRs especificados na bula dos kits reagentes em conjunto com uma avaliação criteriosa da literatura é uma opção economicamente mais viável, visto que exige a testagem de vinte indivíduos aparentemente hígidos.^{10,12}

A validação dos IRs é fundamental para a garantia da qualidade dos testes laboratoriais, além de ser preconizada pelas normas de acreditação laboratorial.^{10,6} Ainda de acordo com o CLSI, o laboratório deve elaborar um documento que descreva em detalhes o estudo dos IRs e propor atualizações sempre que modificações da dinâmica laboratorial afetarem os IRs em uso.¹⁰ Neste contexto, destaca-se a importância do presente estudo, que buscou a validação de IRs de parâmetros bioquímicos, com base nas características da população local, bem como em informações disponíveis nas bulas dos reagentes e na literatura científica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo observacional, descritivo e transversal para padronização de IRs de trinta e quatro parâmetros bioquímicos, executados pela Unidade de Análises Clínicas e Anatomia Patológica (UACAP), do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU-UFJF/Ebserh), localizado em

Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HU-UFJF/Ebserh, sob o parecer substanciado número 4.731.246, e todos os participantes da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Todos os dados obtidos nesse estudo foram avaliados respeitando o sigilo das informações.

Para realização do estudo foram incluídos quarenta indivíduos com faixa etária entre dezoito e sessenta anos, aparentemente hígidos, pareados pelo sexo, sendo vinte homens e vinte mulheres. Em contrapartida, foram excluídos pacientes que declararam ser tabagistas, etilistas crônicos, usuários de medicamentos de uso contínuo, gestantes e portadores de doenças crônicas, tais como: diabetes, obesidade e hipertensão. O perfil dos voluntários do estudo foi obtido, com base no questionário (Apêndice A) preenchido por cada participante, abrangendo dados referentes ao sexo, faixa etária, altura, peso, índice de massa corporal (IMC) e outras questões referentes ao estado geral de saúde.

Os participantes do estudo foram orientados quanto à realização de jejum de oito a doze horas e a não consumirem bebidas alcoólicas ou realizarem exercício físico nos dois dias anteriores à coleta de sangue. Em seguida foram submetidos à coleta de sangue venoso (cinco mililitros) para a realização dos testes bioquímicos. As amostras de soro foram obtidas após centrifugação do sangue total a mil e quinhentas rotações por minuto durante cinco minutos. As dosagens foram realizadas no analisador bioquímico CT-600i (Wiener Lab., Argentina), seguindo as instruções do fabricante, no mesmo dia da coleta. As amostras de soro foram mantidas refrigeradas (dois a oito graus) por três dias, sendo descartadas após este período. A qualidade dos resultados obtidos foi assegurada pela realização de controles internos e externos realizados na UACAP.

Os trinta e quatro parâmetros bioquímicos avaliados nesse estudo foram: amilase, ácido úrico, albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), bilirrubina direta, bilirrubina indireta, bilirrubina total, cálcio total, cálcio iônico, capacidade latente de ligação de ferro (UIBC), capacidade total de fixação de ferro (TIBC), cloro, creatinina, creatina quinase total (CK), creatina quinase fração MB (CK-MB), colesterol total, ferro, fosfatase alcalina, fósforo, glicose, gama glutamil transferase (GGT), lactato, lactato desidrogenase (LDH), lipase, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), magnésio, potássio, proteínas totais, saturação de transferrina, sódio, triglicerídeos e ureia.

Os dados coletados foram armazenados em um banco de dados criado no programa SPSS (versão 25.0) para realização de análises estatísticas. Os testes Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors e de Shapiro-Wilk foram aplicados para avaliar a normalidade

da amostra. Em ambos os testes, a distribuição dos dados foi considerada normal para valores de $p > 0,050$ e não normal para valores de $p < 0,050$. Os testes de Dixon e de Tukey foram utilizados para avaliar a presença de possíveis dados discrepantes (*outliers*). O teste de Dixon foi escolhido para avaliar os analitos que apresentaram distribuição não normal. Este teste avaliou a relação de D/R, onde D representa a diferença entre um valor extremo (máximo ou mínimo) e o dado subsequente da amostra e R representa a amplitude dos dados, ou seja, a diferença entre o valor máximo e o mínimo da amostra. Se a relação D/R for maior que 0,33, o dado deve ser considerado um *outlier*.¹¹ O teste de Tukey foi empregado para avaliar os analitos que apresentaram distribuição normal. Esse teste identifica os *outliers* com base nos quartis de 25% (Q1) e de 75% (Q3). A diferença entre Q3 e Q1, definida como intervalo interquartil (IQR – *Inter-quartile range*), foi multiplicada por um fator pré-determinado igual a 1,5. Os valores mínimos (Q1-IQR*1,5) e máximos (Q3+IQR*1,5) foram determinados para estabelecer o intervalo aceitável dos dados e identificar os *outliers*.¹⁷ Os *outliers* identificados nesse estudo foram eliminados e, quando necessário, até quatro novos voluntários foram selecionados, a fim de substituir os dados perdidos e garantir vinte resultados de participantes de cada sexo sem *outliers*.

Os IRs descritos nas bulas dos reagentes foram considerados validados para aplicação na UACAP quando não mais do que 10% dos resultados avaliados se apresentaram fora desses limites, excluindo-se os *outliers* e garantindo o número mínimo de 20 análises.

RESULTADOS

O perfil etário e antropométrico dos quarenta voluntários participantes do estudo, sendo 20 homens e 20 mulheres, pode ser observado na tabela 1. A análise dos dados por sexo revelou variações, com idade média maior e altura e peso médios menores entre as mulheres. Cerca de 50% dos participantes apresentaram IMC fora da faixa considerada normal (18,5 e 24,9), sendo dois com valor abaixo de 18,5 e 17 com valores maiores que 24,9.

O estado geral de saúde dos participantes foi avaliado a partir das respostas fornecidas por eles no questionário aplicado antes da coleta da amostra de sangue. A análise das informações obtidas mostrou que a maioria dos voluntários ($\geq 80\%$) não apresentava doenças crônicas (39/40), não era fumante (38/40), não fazia uso contínuo de medicamentos (34/40), vitaminas ou fitoterápicos (32/40) e não apresentava restrição alimentar (36/40) ou problemas recentes de saúde (35/40) (Figura 1). Os participantes que relataram utilizar medicamentos, suplementos e/ou fitoterápicos foram orientados a tomarem os mesmos após a coleta. Apenas uma voluntária, que fazia uso de contraceptivo oral, não pode seguir essa recomendação, visto que a

Tabela 1: Perfil etário e antropométrico avaliado por sexo nos participantes do estudo.

Sexo	Idade (anos)	Altura (metros)	Peso (quilogramas)	IMC*
	Média (mín.-máx.)	Média (mín.-máx.)	Média (mín.-máx.)	Média (mín.-máx.)
Ambos	32,8 (19-56)	1,70 (1,53-1,87)	71,9 (44-96)	24,2 (18-34)
Feminino	33,7 (24-50)	1,64 (1,53-1,80)	66 (44-94)	24,1 (18-34)
Masculino	31,9 (19-56)	1,77 (1,69-1,87)	77,9 (61,5- 96)	24,3 (18-29)

*IMC: índice de massa corporal. Mín.: mínimo. Máx.: máximo.

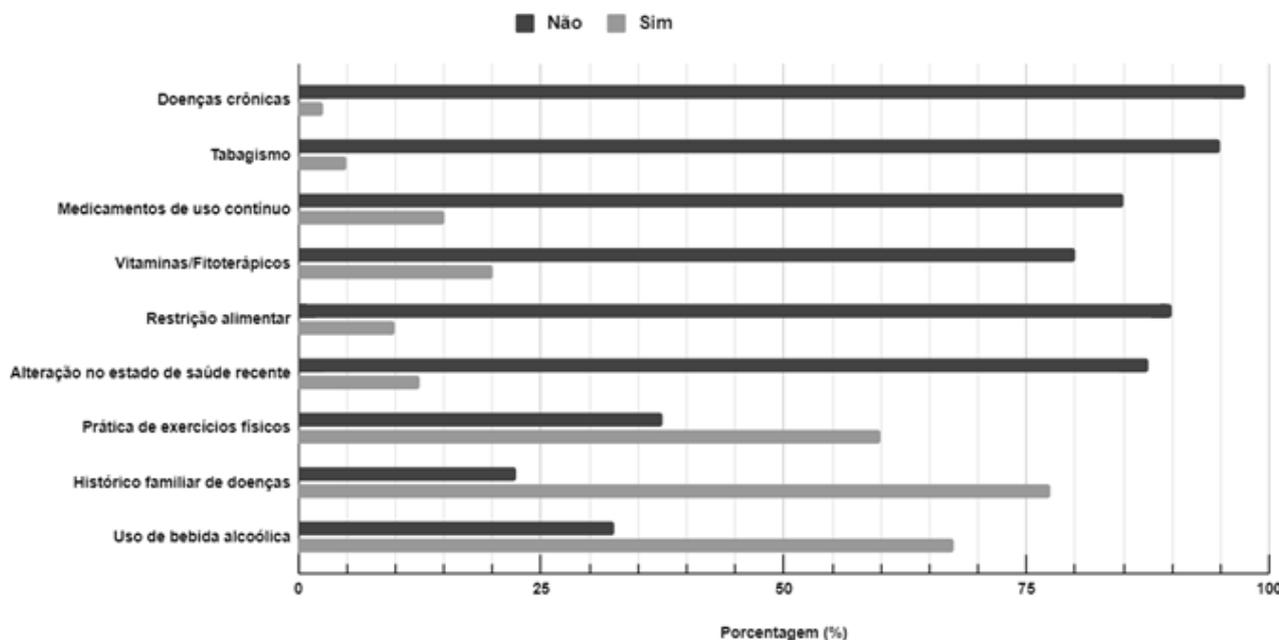


Figura 1: Avaliação do estado geral de saúde dos participantes do estudo.

alteração de horário pode prejudicar a sua eficácia. Com relação à restrição alimentar, três voluntários relataram intolerância à lactose e um apresentava alergia a ovo. Alguns voluntários (5/40) relataram ter apresentado alguma alteração do estado de saúde nos 30 dias que antecederam a coleta, tais como: alergia, gripe, infecção pelo novo coronavírus, infecção urinária e problemas psicológicos. Quando questionados a respeito de hábitos saudáveis, 75% (30/40) dos participantes revelaram se considerar saudável e 60% (24/40) declararam ser praticantes de atividades físicas, no mínimo duas vezes por semana. Quanto ao histórico familiar, 77,5% (31/40) participantes relataram casos de diabetes *mellitus*, hipertensão arterial e câncer, isolados ou em associação. O consumo de bebidas alcoólicas foi informado por 67,5% (27/40) dos voluntários, variando entre consumo diário (37,5%), aos finais de semana (20%) e em eventos sociais (10%).

Dentre os 34 analitos bioquímicos analisados

nesse estudo, 26 foram considerados independentes do sexo por apresentarem nas bulas dos reagentes, disponibilizadas pelo fabricante, IRs idênticos para homens e mulheres. Para este grupo de analitos, os dados de quarenta participantes foram avaliados pelo teste de normalidade descrito por Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors, por ser o mais indicado para conjuntos de dados com número amostral maior que trinta. A análise estatística mostrou que 15 analitos apresentaram distribuição normal ($p > 0,050$) e 11 analitos apresentaram distribuição não normal ($p < 0,050$). Valores discrepantes foram identificados e excluídos em sete analitos de distribuição normal e dois de distribuição não normal. Após a exclusão dos *outliers*, 23 analitos independentes do sexo que apresentaram no mínimo 90% dos resultados dentro do IR descrito nas bulas foram validados (Tabela 2). Apenas três analitos (cálcio total, colesterol total e colesterol LDL) não foram validados por apresentarem mais de 10% dos resultados

Tabela 2: Relação de analitos bioquímicos independentes do sexo com intervalo de referência validados e não validados.

Análito	Valor de p^{*1}	Número de Outliers	Resultados fora do IR^{*2}(%)	Validação	Intervalo de referência
Albumina	0,062	1	-	Sim	3,5 a 4,8 g/dL
Amilase	0,200	1	-	Sim	Inferior à 125 U/L
Bilirrubina Direta	0,004	-	5,0	Sim	Inferior à 0,2 mg/dL
Bilirrubina Indireta	0,001	-	5,0	Sim	Inferior à 1,0 mg/dL
Bilirrubina Total	0,022	-	10,0	Sim	Inferior à 1,0 mg/dL
Cálcio Total	0,200	-	30,0	Não	8,5 a 10,5 mg/dL
Cálcio Iônico	0,200	-	-	Sim	4.0 a 5.4 mg/dL
CK-MB^{*3}	0,000	-	7,5	Sim	Inferior à 25 U/L
Cloro	0,002	-	-	Sim	94 a 112 mEq/L
Colesterol Total	0,200	-	32,5	Não	Inferior à 190 mg/dL
Ferro	0,200	-	5,0	Sim	50 a 170 µg/dL
Fosfatase Alcalina	0,011	1	-	Sim	65 a 300 U/L
Fósforo	0,200	-	-	Sim	2,5 a 5,6 mg/dL
Glicose	0,200	2	-	Sim	65 a 100 mg/dL
HDL^{*4}	0,168	-	-	Sim	Acima de 40 mg/dL
Lactato	0,027	-	5,0	Sim	4,5 a 19,8 mg/dL
LDH^{*5}	0,200	1	5,1	Sim	230 a 460 U/L
LDL^{*6}	0,169	1	10,2	Não	Inferior à 130 mg/dL
Lipase	0,063	1	-	Sim	13 a 60 U/L
Magnésio	0,001	-	-	Sim	1,7 a 2,5 mg/dL
Potássio	0,038	-	5,0	Sim	3.6 a 5.5 mEq/L
Proteínas Totais	0,200	-	-	Sim	6,1 a 7,9 g/dL
Sódio	0,000	-	-	Sim	134 a 149 mEq/L
TIBC^{*7}	0,200	-	5,0	Sim	250 a 425 ug/dL
Triglicerídeos	0,046	1	5,1	Sim	Inferior à 150 mg/dL
Ureia	0,150	3	-	Sim	10 a 50 mg/dL

*¹ Valor de p obtido no teste de Normalidade de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors. *² Intervalo de referência. *³ Creatina quinase fração MB. *⁴ Lipoproteína de alta densidade. *⁵ Lactato desidrogenase. *⁶ Lipoproteína de baixa densidade. *⁷ Capacidade total de fixação de ferro.

fora do IR.

Oito analitos bioquímicos apresentaram em suas bulas IRs específicos para homens e mulheres, sendo considerados dependentes do sexo (ácido úrico, AST, ALT, UIBC, creatinina, CK, GGT e saturação de transferrina). Portanto, nesse conjunto de dados foram analisados 16 IRs, sendo oito de homens e oito de mulheres. As análises foram baseadas nos resultados de vinte indivíduos de cada sexo, aplicando o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, por ser indicado para conjuntos de dados com número amostral menor que 30. A análise estatística mostrou que 12 analitos apresentaram distribuição normal ($p > 0,050$) e quatro não normal ($p < 0,050$). Valores discrepantes foram identificados e excluídos em dois analitos com distribuição normal e três com distribuição não normal. Os *outliers* e/ou resultados fora dos IRs foram

substituídos, utilizando dados obtidos com quatro novos participantes do sexo masculino para os analitos ALT, AST, CK, creatinina e GGT. Após análise desses dados, 14 analitos dependentes do sexo que apresentaram no mínimo 90% dos resultados dentro do IR descrito nas bulas foram validados (Tabela 3). Dois analitos (ácido úrico feminino e CK masculino) não foram validados por apresentarem mais de 10% dos resultados fora do IR e por apresentarem número amostral válido menor do que 20, devido a perdas com *outliers*.

No total, o presente trabalho validou 88,1% (37/42) dos IRs de bula propostos pelo fabricante para 34 parâmetros bioquímicos, que são executados na rotina laboratorial da UACAP do HU-UFJF/Ebserh.

DISCUSSÃO

Tabela 3: Relação de analitos bioquímicos dependentes do sexo com intervalo de referência validados e não validados.

Analito	Valor de p^{*1}	Número de Outliers	Resultados fora do IR ^{*2} (%)	Validação	Intervalo de referência
Ácido úrico	H ^{*3} : 0,251	-	-	Sim	H: 3,5 a 7,2 mg/dL
	M ^{*4} : 0,542	1	10,5	Não	M: 2,0 a 6,0 mg/dL
ALT^{*5}	H: 0,000	1	10,0	Sim	H: Inferior à 41 U/L
	M: 0,111	-	-	Sim	M: Inferior à 31 U/L
AST^{*6}	H: 0,762	-	-	Sim	H: Inferior à 38 U/L
	M: 0,123	-	-	Sim	M: Inferior à 32 U/L
CK^{*7}	H: 0,000	1	25,0	Não	H: Inferior à 195 U/L
	M: 0,192	-	10,0	Sim	M: Inferior à 170 U/L
Creatinina	H: 0,687	1	-	Sim	H: 0,7 a 1,3 mg/L
	M: 0,149	-	-	Sim	M: 0,6 a 1,1 mg/L
GGT^{*8}	H: 0,007	1	-	Sim	H: 11 a 50 U/L
	M: 0,004	-	-	Sim	M: 7 a 32 U/L
Saturação da Transferrina	H: 0,074	-	10,0	Sim	H: 20 a 50 %
	M: 0,785	-	-	Sim	M: 15 a 50 %
UIBC^{*9}	H: 0,954	-	5	Sim	H: 140 a 330 ug/dL
	M: 0,094	-	-	Sim	M: 140 a 346 ug/dL

*1 Teste de Normalidade de Shapiro-Wilk. *2 Intervalo de referência. *3 Homens. *4 Mulheres. *5 Alanina aminotransferase. *6 Aspartato aminotransferase. *7 Creatina quinase total. *8 Gama glutamil transferase. *9 Capacidade latente de ligação de ferro.

Os IRs apresentados em laudos de exames clínicos devem representar de forma fidedigna a população atendida pelo laboratório, a fim de auxiliar a avaliação clínica dos pacientes pelos profissionais da saúde.¹⁸ Nesse sentido, é responsabilidade do laboratório garantir que os IRs utilizados sejam representativos para os seus pacientes. Diante do exposto, o presente estudo selecionou adultos saudáveis residentes em Juiz de Fora, a fim de validar na população local os IRs de trinta e quatro analitos bioquímicos, que são rotineiramente realizados pela UACAP do HU-UFJF/Ebserh. A maior dificuldade do estudo foi selecionar, em um curto período, voluntários aparentemente hígidos, que se enquadrassem em todos os pré-requisitos determinados por este estudo e representassem de forma homogênea a população adulta atendida pelo laboratório.

Seguindo a recomendação do CLSI, um questionário foi aplicado a todos os voluntários do estudo com a finalidade de avaliar e selecionar indivíduos saudáveis.¹⁰ Para verificar a percepção dos participantes sobre a própria saúde e a qualidade de vida, foi inserida no questionário a seguinte pergunta: "Você se considera saudável?". Apenas 75% dos participantes relataram se considerar saudáveis, corroborando o fato de a "saúde" ser uma condição relativa e, portanto, não possuir uma definição universal. Tal fato reforça a importância do estabelecimento de critérios rigorosos de inclusão e exclusão, com intuito de reduzir ao máximo a participação de pacientes não saudáveis nos estudos de validação.

Ainda que nem todos os participantes tenham se considerado saudáveis, a análise do questionário respondido por eles mostrou que o estado geral de saúde dos envolvidos no estudo foi satisfatório. O que pode ser percebido pelo fato da maioria dos participantes (>80%) não ter relatado a existência de doenças crônicas, não ser tabagista, não fazer uso contínuo de medicamentos, vitaminas ou fitoterápicos e não ter apresentado alterações recentes de saúde. No entanto, mais da metade dos voluntários relatou consumir bebidas alcoólicas pelo menos uma vez na semana. Este resultado ratifica o encontrado pelo II Levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil, realizado em 2005, que apontou uma taxa de consumo de álcool de 74,6% na população brasileira.¹⁹ Apesar do consumo de bebidas alcoólicas ser um importante problema de saúde pública, impactos relevantes nos exames bioquímicos não foram verificados na população estudada. Vale ressaltar que nenhum dos participantes foi considerado como alcoólatra e que todos foram orientados a não consumir bebidas alcoólicas nos dias anteriores à coleta de sangue. Diante disso, todos os participantes foram considerados aptos a participar do estudo.

Os critérios de exclusão definidos por este estudo não foram suficientes para evitar a participação de voluntários com colesterol total e LDL acima dos limites considerados aceitáveis (190mg/dL e 130mg/dL, respectivamente) pelo Consenso Brasileiro para a Normatização da Determinação Laboratorial do Perfil

Lipídico.²² No total, mais de 30% dos resultados de colesterol total e mais de 10% dos dados de colesterol LDL extrapolaram os IRs estabelecidos na literatura, impossibilitando validação destes analitos em ambos os sexos. Além disso, cerca de 42% dos participantes apresentaram IMC acima da faixa considerada saudável (18,5 e 24,9), um parâmetro frequentemente utilizado pelos profissionais da saúde para identificar o sobrepeso e a obesidade.^{21,22} Estes dados corroboram a prevalência de 50,6% de participantes com sobrepeso, encontradas por Gonçalves et al²³, em um estudo realizado no Paraná, no qual 339 servidores públicos foram analisados a fim de verificar a associação do sobrepeso com diversos fatores, entre eles a hipercolesterolemia.²³

Considerando as normas estabelecidas pelo CLSI para validação de IRs o analito cálcio total não atingiu os critérios para validação, pois apresentou 27,5% dos resultados abaixo do IR analisado. Segundo Paula e Foss²⁴, a diminuição dos níveis de cálcio normalmente está relacionada com alguma alteração na secreção de hormônios calcitropicos (paratormônio e vitamina D 1,25OH), pois o corpo humano não secreta nenhuma substância com efeito hipocalcemiante significativo. Além disso, a hipocalcemia também pode estar relacionada com a dieta e com distúrbios de absorção intestinal, entre outros.²⁴ Como não foi possível realizar a dosagem destes analitos nos pacientes em questão, não se pode afirmar a causa desta hipocalcemia. Além disso, apesar de todos os participantes do estudo serem aparentemente hígidos, não se descartam possíveis doenças de base desconhecidas pelos participantes.

A exclusão dos *outliers* dos analitos creatinina e GGT do sexo masculino com posterior substituição com valores de novos pacientes do mesmo sexo, garantiu um número amostral de 20 pacientes sem resultados discrepantes. Estes analitos apresentaram menos de 10% das amostras fora do IR analisado, garantindo sua validação. Os analitos AST para o sexo masculino e bilirrubina direta, embora não tenham apresentado *outliers*, ficaram com menos de 90% das dosagens dentro dos IRs referidos nas bulas dos kits reagentes. Para estes analitos a substituição por resultados de novos participantes do mesmo sexo também foi realizada e garantiu a validação dos IRs.

De acordo com as respostas obtidas no questionário, 60% dos participantes do estudo praticavam atividade física pelo menos duas vezes na semana. Uma análise minuciosa destes dados mostrou que 65% dos homens e 55% das mulheres se enquadravam nessa categoria, sendo que 40% dos homens e 5% das mulheres se exercitavam pelo menos quatro vezes na semana. Tais resultados indicam que os homens eram praticantes mais assíduos de exercícios físicos, o que pode causar danos musculares, gerando um aumento nas concentrações sanguíneas de diversas proteínas. Dentre elas, podemos citar a CK e a ALT, que podem ser encontradas em maior quantidade nos

hepatócitos e em menor quantidade nos músculos, sofrendo elevações transitórias após exercício físico.²⁵ Alterações semelhantes foram descritas por Boulesteix e colaboradores (1990) em um estudo de avaliação de anormalidades em exames de triagem de trinta mil doadores de sangue. Estes doadores eram militares, que praticaram atividade física nas 47 horas (tempo de meia-vida da enzima ALT) antecedentes ao exame.²⁵ No presente estudo, 20% dos participantes do sexo masculino apresentaram valores aumentados para CK e ALT, simultaneamente. O analito ALT apresentou 20% dos dados acima do IR, sendo um destes dados um *outlier*. Estes valores foram substituídos pelas dosagens de quatro novos participantes do sexo masculino, recrutados ao longo do estudo, o que garantiu uma amostra com 20 participantes sem resultados discrepantes. Esse novo dado amostral apresentou apenas 10% dos resultados fora do IR, possibilitando a validação do analito ALT para o sexo masculino. Por outro lado, o analito CK apresentou 40% dos dados acima do IR, sendo um destes dados um *outlier*. Mesmo após as substituições possíveis, o IR para CK no sexo masculino não foi validado, pois mais de 10% dos dados continuaram fora do aceitável.

Dentre os analitos dependentes do sexo, o único que não foi validado para o sexo feminino foi o ácido úrico, devido a identificação e exclusão de um *outlier*. Esta exclusão acarretou numa amostra com apenas dezenove dosagens válidas, ferindo um dos critérios da validação.

A seleção de novos voluntários para substituição de *outliers* e de resultados fora dos valores aceitáveis poderia ter contribuído para a validação dos IRs dos analitos colesterol total, LDL e cálcio de ambos os sexos; ácido úrico feminino e CK masculino, que não foram validados neste estudo. No entanto, não foi possível aplicar esta estratégia para um número maior do que quatro participantes, devido às limitações de custo e de tempo. Cabe destacar que todos os recursos permanentes e de consumo utilizados na realização deste trabalho foram disponibilizados pela UACAP. A autorização para a realização do estudo foi concedida pelo gestor com base nas considerações da norma PALC da SBPC/ML, que recomenda que todo laboratório deve avaliar e, quando apropriado, verificar se os IRs informados pelo fabricante são adequados para a população local atendida. Estudos futuros podem vir a contribuir com a validação dos IRs dos analitos que não puderam ser validados neste estudo.

CONCLUSÃO

Com o presente trabalho foi possível validar os IRs dos analitos albumina, ALT, amilase, AST, bilirrubina direta, bilirrubina indireta, bilirrubina total, cálcio iônico, CK-MB, cloro, ferro, fosfatase alcalina, fósforo, GGT, glicose, HDL, lactato, LDH, lipase, magnésio, potássio,

proteínas totais, saturação da transferrina, sódio, TIBC, triglicerídeos, UIBC e ureia, de ambos os sexos. Os IRs dos analitos ácido úrico e CK foram validados apenas para o sexo masculino e feminino, respectivamente. Portanto, os IRs contidos nas bulas destes kits reagentes representam a população atendida pela UACAP do HU-UFJF e podem continuar sendo utilizados pelo laboratório, contribuindo para a qualidade e a confiabilidade dos resultados liberados.

FINANCIAMENTO

Esta pesquisa foi realizada utilizando materiais permanentes e consumíveis disponíveis na UACAP do HU-UFJF. A autorização para a realização do estudo foi concedida pela chefia da unidade com base nas considerações da norma PALC da SBPC/ML, que recomenda que todo laboratório deve avaliar e, quando apropriado, verificar se os IRs informados pelo fabricante são adequados para a população local atendida.

AGRADECIMENTOS

Ao Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora pela excelência na formação de profissionais de saúde, pela viabilização de pesquisas de qualidade e pelo atendimento exemplar aos usuários do Sistema Único de Saúde.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não ter conflito de interesses em relação ao presente artigo.

REFERÊNCIAS

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). RDC n° 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre regulamento técnico para funcionamento de laboratórios clínicos [Internet]. [citado em 2020 nov 07]. Diário Oficial da União. 2005. Acesso em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_302_2005_COMP.pdf/7038e853-afae-4729-948b-ef6eb3931b19
2. Aragão DP, Araujo RML. Orientação ao paciente antes da realização de exames laboratoriais. *Rev Bras Análises Clínicas*. 2019; 51(2):98-102. doi: 10.21877/2448-3877.201900759
3. Ferreira VBM. Variação biológica na interpretação dos resultados laboratoriais dos pacientes do IPEC portadores de AIDS/HIV [Dissertação]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas; 2008.
4. Ramos LR, Oliveira MV, Souza CL. Avaliação de variáveis pré-analíticas em exames laboratoriais de pacientes atendidos no Laboratório Central de Vitória da Conquista, Bahia, Brasil. *Jornal*

Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. 2020; 56:1-8. doi: <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20200009>

5. Shcolnik W. Erros laboratoriais e segurança do paciente: revisão sistemática [Dissertação]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca; 2012.
6. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (BR). Brasil: Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos [Internet]. [citado em 2021 fev 02]. c2021. Available from: http://bibliotecasbpc.org.br/arcs/pdf/NormaPALC2021_web.pdf.
7. Centers for Medicare & Medicaid Services, Centers for Disease Control and Prevention. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: fecal occult blood (FOB) testing: Final rule. *Fed Regit*. 2017; 82(202):48770-3.
8. College of American Pathologists (EUA). Laboratory general checklist: CAP accreditation program [Internet]. [citado em 2021 fev 02]. Northfield: College of American Pathologists; 2017. Acesso em: <https://elss.cap.org/elss/ShowProperty?nodePath=/UCMCON/Contribution%20Folders/DctmContent/education/OnlineCourseContent/2017/LAP-TLTM/checklists/cl-gen.pdf>.
9. Escott-Stump S, Krauss B, Pavlinac J, Robinson G. Joint commission on accreditation of healthcare organizations: friend, not foe. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 2000; 100(7):839. doi: 10.1016/S0002-8223(00)00243-1
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (EUA). Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline [Internet]. [citado em 2021 fev 02]. 3th. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. Acesso em: https://clsi.org/media/1421/ep28a3c_sample.pdf
11. Ferreira, CEDS, Andriolo A. Intervalos de referência no laboratório clínico. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2008; 44:11-16.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (EUA). How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline [Internet]. [citado em 2021 fev 02]. 2nd. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2000. Available from: https://docs.ufpr.br/~taconeli/CE06219/Artigo_FR3.pdf
13. Jones GR, Haeckel R, Loh TP, Sikaris K, Streichert T et al. Indirect methods for reference interval determination: review and recommendations. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2018; 57(1):20-9. doi: <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0073>
14. Geffré A, Friedrichs K, Harr K, Concordet D, Trumel C, Braun JP. Reference values: a review. *Veterinary clinical pathology*. 2009; 38(3):288-98. doi: 10.1111/j.1939-165X.2009.00179.x

15. Horowitz GL. Reference intervals: practical aspects. *Electronic Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2008; 19(2):95.
16. Solberg HE, PetirClerc C. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values: part 3: preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1988; 26(9):593-8.
17. Ozarda Y. Reference intervals: current status, recent developments and future considerations. *Biochemia medica*. 2016; 26(1):5-16. doi: <https://doi.org/10.11613/BM.2016.001>
18. Ritchie RF, Palomaki G. Selecting clinically relevant populations for reference intervals. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2004; 42(7):702-9. doi: <https://doi.org/10.1515/CCLM.2004.120>
19. Campos JADB, Loffredo LCM, Almeida JC. Razão de prevalências: alcoolismo nas diferentes regiões geográficas do Brasil segundo o sexo. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2007. 28(3):347-50.
20. Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, Sociedade Brasileira de Diabetes, Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (BR). Consenso brasileiro para a normatização da determinação do perfil lipídico [Internet]. [citado em 2022 jan 22]. 2016. Acesso em: http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/consenso_jejum_dez2016_final.pdf.
21. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic [Internet]. [citado em 2022 fev 03]. Geneva: c2000. Acesso em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42330>
22. Duarte MEC, González MG. Relación entre el IMC, las funciones motoras y cognitivas en niños escolares. *Revista Universitaria de la Educación Física y el Deporte*. 2021; 14(2). doi: 10.28997/ruefd.v14i2.3
23. Gonçalves ECDA, Silva DAS, Nunes HEG, Lima TRD, Capdeboscq MC, Rinaldi W. Overweight and factors associated in civil servants from Southern Brazil. *Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano*. 2016; 18:277-86. doi: <https://doi.org/10.5007/1980-0037.2016v18n3p277>
24. Paula FJ, Foss MC. Tratamento da hipercalcemia e hipocalcemia. *Medicina*. 2003; 36(2/4):370-4. doi: <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v36i2/4p370-374>
25. Boulesteix G, Bourin P, Fabre G, de Vaucouleurs AB, Molinié C et al. Marqueurs des hépatites virales B et D et taux des alanine aminotransférases: chez les donneurs de sang en milieu militaire: bilan sur 30 000 dons de sang en 1989. *Revue française de transfusion et d'hémobiologie*. 1990; 33(1):9-20. doi: 10.1016/s1140-4639(05)80001-2

APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO

- 1) Nome completo:
- 2) Idade:
- 3) Qual a sua altura?
- 4) Qual o seu peso?
- 5) Você tem algum problema crônico de saúde? (por exemplo, pressão alta, problema de tireoide, doença no fígado ou outras?)
 Não Sim. Se sim, qual(is)?
- 6) Possui histórico familiar de diabetes, doenças cardíacas, câncer ou outras?
 Não Sim. Qual(is)?
- 7) Você se considera saudável? Não
 Sim
- 8) Você se exercita regularmente? Se sim, com qual frequência?
 Não Sim. _____ dias por semana
- 9) Você usa algum medicamento diariamente?
 Não Sim. Qual(is)?
- 10) Você toma suplementos vitamínicos ou remédios à base de plantas?
 Não Sim. Qual(is)?
- 11) Você é fumante? Não Sim
- 12) Consome bebidas alcoólicas? Se sim, com que frequência?
 Não Diariamente Socialmente Uma vez por semana Nos finais de semana
- 13) Possui alguma restrição alimentar? (por exemplo, é vegetariano, vegano, celíaco, intolerante à lactose, alérgico à proteína do leite, etc.)
 Não Sim. A qual(is) alimentos?
- 14) Apresentou algum problema de saúde no último mês? Se sim, o que aconteceu?
 Não Sim
- 15) Gostaria de receber o resultado dos seus exames que serão realizados nessa pesquisa?
 Não Sim