

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

AVALIAÇÃO DO ÍNDICE RETICULOCITÁRIO Ret-He EM GESTANTES
ATENDIDAS NA FACULDADE DE FARMÁCIA DA UFRGS

Ana Luiza Rodrigues Fragoso

Porto Alegre, 18 de dezembro de 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

AVALIAÇÃO DO ÍNDICE RETICULOCITÁRIO Ret-He EM GESTANTES
ATENDIDAS NA FACULDADE DE FARMÁCIA DA UFRGS

Ana Luiza Rodrigues Fragoso

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de Farmacêutico, pelo curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientação: Dra. Simone Martins de Castro

Coorientação: Suzane Dal Bó e Mariela Farias

Porto Alegre, 18 de dezembro de 2017

APRESENTAÇÃO

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFRGS e na Unidade de Bioquímica Clínica do Serviço de Diagnóstico Laboratorial do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. O texto foi elaborado segundo as normas da revista *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* apresentadas em anexo, na qualidade de “Artigo Original”. Adequações serão elaboradas após as correções e sugestões da banca revisora.

RESUMO

Introdução: Mulheres no período gestacional apresentam maior risco de desenvolver anemia por deficiência de ferro, a qual pode trazer riscos à saúde tanto da mãe quanto do feto em desenvolvimento. Por isso, é de extrema importância o diagnóstico precoce da anemia ferropênica nesse período. **Objetivo:** Avaliar o desempenho diagnóstico do Ret-He na detecção precoce da anemia ferropênica em um grupo de gestantes e estabelecer um intervalo de referência para o parâmetro em um grupo de pacientes controle. **Materiais e métodos:** Foram avaliadas 60 gestantes e 130 sujeitos controle. Hemograma e dosagem de ferritina foram realizados nas amostras coletadas. As análises estatísticas foram realizadas através de comparações entre os grupos e de curva ROC. **Resultados:** Foi encontrado um intervalo de normalidade para o Ret-He entre 29,75pg e 38,24pg, com mediana de 35 pg. As áreas sob a curva encontradas para os parâmetros avaliados pela curva ROC em relação ao padrão ouro (ferritina) foram de 0,732 para Ret-He, 0,586 para Hb, 0,551 para CHCM e 0,482 para VCM. **Conclusão:** Além de apresentar melhor desempenho diagnóstico em comparação com outros parâmetros utilizados tradicionalmente no diagnóstico da anemia ferropênica, o Ret-He mostrou-se uma excelente alternativa como ferramenta auxiliar no acompanhamento de gestantes no pré natal.

Palavras-chave: anemia, deficiência de ferro, gestantes, Ret-He, diagnóstico.

ABSTRACT

EVALUATION OF Ret-He RETICULOCITARY INDEX IN PREGNANT WOMEN ASSISTED AT UFRGS FACULTY OF PHARMACY

Introduction: Women in the gestational period have a higher risk of developing iron deficiency anemia, which may bring health risks to both the developing fetus and the mother. Therefore, the early diagnosis of iron deficiency anemia in this period is extremely important. **Objective:** To evaluate the diagnostic performance of Ret-He in the early detection of iron deficiency anemia in a group of pregnant women and establish a reference interval for it in a control group of patients. **Materials and methods:** 60 pregnant women and 130 control subjects were evaluated. Hemogram and ferritin dosage were performed on the collected samples. Statistical analyzes were performed through comparisons between groups and ROC curve. **Results:** A normal range for Ret-He between 29,75pg and 38,24pg was found, with a median of 35 pg. The areas under the curve found for the evaluated parameters by the ROC curve in relation to the gold standard (ferritin) were 0.732 for Ret-He, 0.586 for Hb, 0.551 for CHCM and 0.482 for VCM. **Conclusion:** In addition to presenting better diagnostic performance compared to other parameters traditionally used in the diagnosis of iron deficiency anemia, Ret-He proved to be an excellent alternative as an auxiliary tool in the follow-up of pregnant women in prenatal care.

Key words: *anemia, iron deficiency, pregnant women, Ret-He, diagnosis.*

1. INTRODUÇÃO

A anemia é caracterizada como uma condição na qual o número de glóbulos vermelhos sanguíneos ou sua capacidade de transportar oxigênio são insuficientes para alcançar as necessidades fisiológicas do ser humano¹. Estima-se que aproximadamente 30% da população mundial seja anêmica e que a maioria dessas anemias seja causada por deficiência de ferro². Em países em desenvolvimento a anemia ferropênica é normalmente causada por ingestão insuficiente de ferro pela dieta ou por infecções por parasitas intestinais. Já em países desenvolvidos, as causas mais prevalentes são dietas vegetarianas ou algumas doenças como hemorragia crônica ou má absorção de ferro³. Dentre as principais alterações laboratoriais presentes nesse quadro estão o aparecimento de hemácias microcíticas e hipocrômicas, diminuição dos níveis de hemoglobina e diminuição dos valores de ferritina sérica⁴.

Mulheres no período gestacional possuem maior risco de apresentar anemia ferropênica⁵. Isso se deve ao fato de que uma das alterações mais importantes que ocorre no corpo da mulher para suprir as necessidades requeridas pelo feto em desenvolvimento durante a gestação é o aparecimento da chamada anemia fisiológica, na qual ocorre um aumento do volume plasmático que não é acompanhado pela elevação na produção de hemácias que também está presente nesse período, gerando assim a hemodiluição, que caracteriza a anemia fisiológica comum nas gestantes^{6,7,8,9}. Com isso, o valor de referência da dosagem de hemoglobina na gestação se altera em relação às mulheres não grávidas. Enquanto que para as mulheres não grávidas o valor é de 12 g/dL¹⁰, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o valor de hemoglobina para grávidas normais é de 11 g/dL¹⁰. Já o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) considera os valores de 11 g/dL no primeiro e no terceiro trimestres de gestação, e de 10,5 g/dL no segundo trimestre¹¹. No Brasil, o Ministério da saúde determina o valor de hemoglobina para mulheres gestantes de 11 g/dL⁵.

Além disso, há também um crescimento da demanda de ferro pela gestante. Sabe-se que, durante a gestação, há um aumento da absorção de ferro pelo intestino¹² e que a amenorreia durante o período gestacional proporciona uma economia dos estoques de ferro do organismo⁶; contudo, na maioria das vezes não é o suficiente para suprir a nova demanda, levando a gestante ao desenvolvimento de anemia ferropênica. A deficiência de ferro na gravidez pode acarretar danos tanto ao feto quanto à mãe, sendo o

diagnóstico correto e precoce da anemia ferropênica na gestação de extrema importância.

Marcadores hematológicos tradicionais, tais como dosagem de hemoglobina (Hb), volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), não são capazes de indicar a anemia por deficiência de ferro precocemente, devido ao período de vida mais longo dos eritrócitos na circulação^{13,14} ou pela presença de interferentes como alterações no plasma das amostras¹⁵. A aspiração da medula foi considerada o padrão ouro para o diagnóstico de deficiência de ferro. Entretanto, por ser um método bastante invasivo, procurou-se substituí-la por métodos menos agressivos, tal como a dosagem de ferritina sérica, considerada hoje o padrão ouro para detecção de deficiência de ferro^{5,13,16}. Contudo, a dosagem de ferritina é um parâmetro que pode ser afetado por outras alterações fisiológicas, como, por exemplo, a presença de processos inflamatórios e infecciosos, onde seus níveis encontram-se aumentados^{14,16,17}, o que torna esse parâmetro limitante em determinados casos.

Dessa forma, o desenvolvimento e aprimoramento de metodologias utilizadas nos analisadores hematológicos podem permitir, por meio da utilização de novos parâmetros, o diagnóstico de situações de anemia o mais precocemente possível. Assim, torna-se muito importante o estudo, a implantação e a padronização destes novos parâmetros, com o objetivo de avaliar de forma mais completa alguns biomarcadores e suas correlações clínico-laboratoriais, como, por exemplo, os novos parâmetros reticulocitários fornecidos por alguns equipamentos.

A eritropoese é tradicionalmente monitorada pela contagem do número de reticulócitos no sangue periférico, dado que a diminuição na quantidade de reticulócitos circulantes representa uma menor atividade da medula óssea¹⁸. O Ret-He (*Reticulocyte hemoglobin equivalent*) é um parâmetro que reflete o conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos. Tendo em vista que essas células possuem uma vida normal de um a dois dias no sangue periférico, o Ret-He mostra-se uma boa medida da disponibilidade de ferro, podendo indicar precocemente uma eritropoese deficiente em ferro^{13,18,19}. Esse marcador também tem grande valor no monitoramento da resposta ao tratamento de reposição de ferro, pois, devido ao seu curto tempo de circulação no sangue periférico, pode auxiliar na observação da resposta da medula óssea pouco depois do início do tratamento^{18,20}.

Tendo em vista os riscos gerados pela anemia ferropênica, tanto à mãe quanto ao feto em desenvolvimento, faz-se importante a detecção precoce da deficiência de ferro nas pacientes gestantes. A concentração de hemoglobina nos reticulócitos tem se mostrado um bom parâmetro para essa detecção em outras populações de pacientes^{13,14,19,21,22,23}. Por esse motivo, este trabalho tem como objetivo avaliar a aplicação do parâmetro Ret-He em pacientes em diferentes períodos gestacionais, visando uma possível utilização deste marcador como uma forma precoce de diagnóstico da anemia ferropênica na gestação. Além disso, devido à ausência de um intervalo de referência definido para esse marcador, o presente trabalho possui como objetivo secundário estabelecer um intervalo de normalidade para o Ret-He em indivíduos saudáveis.

2. MATERIAIS E MÉTODOS:

Este trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (170328). Todos os participantes da pesquisa deram seu consentimento de participação por meio da assinatura do TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido).

Foram coletadas amostras de sangue total em K₃-EDTA de 60 gestantes, as quais realizaram exames de pré-natal no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFRGS. As gestantes foram divididas em três grupos, de acordo com o período gestacional. Nas amostras obtidas foram realizados hemograma, contagem de reticulócitos automatizada e suas subpopulações e dosagem de ferritina.

Para o grupo controle foram coletadas amostras de 65 homens e 65 mulheres, todos doadores do Banco de Sangue do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Neste grupo foram realizados hemograma e contagem de reticulócitos automatizado. A dosagem de ferritina foi realizada somente nas mulheres do grupo controle. Os dados obtidos foram utilizados para estabelecer o intervalo de normalidade para o Ret-He e para comparação com o grupo de gestantes. Todos os sujeitos, incluindo controles e gestantes, foram convidados a participar da pesquisa no momento da coleta na Faculdade de Farmácia ou no momento da doação no banco de sangue, realizando a assinatura do TCLE.

Os hemogramas e contagem de reticulócitos foram realizados na Unidade de Bioquímica Clínica do Serviço de Diagnóstico Laboratorial do Hospital de Clínicas de Porto Alegre no sistema automatizado de hematologia Sysmex XE10 Roche® (Sysmex Corporation, Kobe, Japão). O canal de reticulócitos utiliza a tecnologia de citometria de fluxo fluorescente para a contagem de reticulócitos, contagem de eritrócitos e cálculo do IRF (fração de reticulócitos imaturos) bem como do Ret-He. As amostras foram processadas no máximo 4 horas após a coleta. A dosagem de ferritina foi realizada na Faculdade de Farmácia da UFRGS, no equipamento COBAS E411, pela metodologia de eletroquimioluminescência. Para a dosagem de ferritina, o plasma foi congelado (-20°C) no dia da coleta até o momento das análises.

Para o cálculo do tamanho de amostra foi utilizado o programa WINPEPI, versão 11.44. O número de controles a serem avaliados segue o preconizado pelo CLSI (C24-A3) e a IFCC²⁴. A análise estatística dos resultados foi executada no software SPSS versão 18.0. Foi realizada a análise descritiva dos dados. A comparação entre homens e mulheres do grupo controle foi realizada através do teste de Mann Whitney. Para a comparação das variáveis entre os grupos foram utilizados os testes de Kruskal-Wallis (variáveis não paramétricas) e ANOVA (variáveis paramétricas). O Ret-He foi avaliado através da curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) comparado com a ferritina (intervalo de referência 13-150 ng/mL), padrão ouro para o diagnóstico de anemia ferropênica.

3. RESULTADOS

Foi analisado um total de 60 gestantes (20 em cada trimestre de gestação) e 130 pacientes controle (65 homens e 65 mulheres). A mediana da idade das gestantes foi de 26,5, variando de 17 a 41 anos. No grupo controle a idade mediana foi de 36,0 variando de 16 a 66 anos.

Para avaliar a influência da utilização de sulfato ferroso pelas gestantes, no momento da aplicação do TCLE foi questionado às pacientes se faziam a suplementação de ferro. Do total de gestantes, 35% realizavam a utilização de sulfato ferroso e 55% não realizavam. Os 10% restantes não souberam fornecer a informação.

Para o grupo controle, foram obtidos valores de mediana do Ret-He de 35,20 pg para homens e de 35,00 pg para mulheres ($p=0,310$). Baseado nesses dados, o intervalo de confiança foi calculado abrangendo todos os sujeitos do grupo controle. O valor da mediana do Ret-He obtido para os dois grupos foi de 35,00 pg, e foram calculados os percentis 2,5% e 97,5%, obtendo-se um intervalo entre 29,75 pg e 38,24 pg.

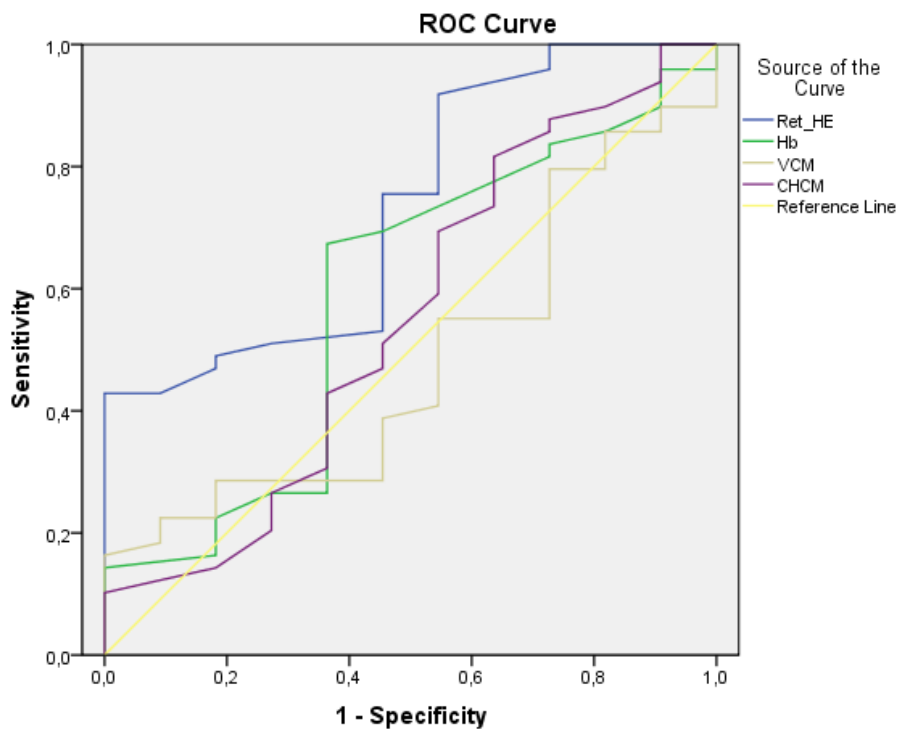
A tabela 1 apresenta os valores de média (\pm desvio padrão) e mediana (percentis 25% e 75%) para os parâmetros analisados em cada grupo.

Tabela 1 – Valores eritrocitários e de ferritina de média (\pm desvio padrão) e mediana (percentis 25% e 75%) por grupo de gestantes e no grupo de mulheres controle.

	Gestantes 1º trimestre (n=20)		Gestantes 2º trimestre (n=20)		Gestantes 3º trimestre (n=20)		Mulheres controle (n=65)		p
	Média (\pm SD)	Mediana (25%-75%)	Média (\pm SD)	Mediana (25%-75%)	Média (\pm SD)	Mediana (25%-75%)	Média (\pm SD)	Mediana (25%-75%)	
RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	4,16 ($\pm 0,41$)	4,13 (3,91-4,44)	3,89 ($\pm 0,24$)	3,82 (3,69-4,09)	3,94 ($\pm 0,25$)	3,91 (3,76-4,10)	4,61 ($\pm 0,32$)	4,61 (4,42-4,82)	0,000
Hb (g/dL)	12,31 ($\pm 0,94$)	12,15 (11,73-13,10)	11,79 ($\pm 0,77$)	11,80 (11,18-12,40)	11,70 ($\pm 0,73$)	11,55 (11,08-12,23)	13,64 ($\pm 0,90$)	13,50 (13,05-14,30)	0,000
VCM (fL)	88,06 ($\pm 3,98$)	88,40 (85,55-90,45)	89,04 ($\pm 3,42$)	89,25 (86,65-91,98)	88,93 ($\pm 3,04$)	89,30 (87,23-91,30)	88,35 ($\pm 3,55$)	88,50 (85,70-91,30)	0,755
CHCM (g/dL)	33,67 ($\pm 0,86$)	33,70 (33,10-34,08)	34,03 ($\pm 0,54$)	34,05 (33,70-34,50)	33,38 ($\pm 0,80$)	33,30 (32,80-34,00)	33,60 ($\pm 0,83$)	33,60 (33,10-34,20)	0,072
Ret-rel (%)	1,98 ($\pm 0,81$)	1,97 (1,78-2,43)	2,20 ($\pm 0,57$)	2,08 (1,82-2,52)	2,01 ($\pm 0,31$)	1,97 (1,77-2,30)	1,54 ($\pm 0,59$)	1,40 (1,21-1,91)	0,000
Ret-abs ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	0,078 ($\pm 0,036$)	0,080 (0,070-0,095)	0,079 ($\pm 0,025$)	0,080 (0,066-0,100)	0,136 ($\pm 0,170$)	0,083 (0,075-0,092)	0,071 ($\pm 0,028$)	0,065 (0,053-0,086)	0,011
IRF (%)	11,51 ($\pm 4,11$)	10,9 (8,40-13,40)	16,56 ($\pm 4,38$)	17,15 (12,88-19,70)	18,70 ($\pm 4,36$)	18,10 (14,98-22,58)	8,32 ($\pm 3,05$)	8,10 (6,40-10,15)	0,000
Ret-He (pg)	35,13 ($\pm 1,68$)	35,5 (34,05-36,35)	35,06 ($\pm 1,84$)	34,9 (34,00-36,68)	33,23 ($\pm 2,22$)	33,95 (32,00-34,88)	34,81 ($\pm 1,59$)	35,00 (34,15-35,70)	0,006
Ferritina (ng/mL)	182,49 ($\pm 135,00$)	153,35 (33,06-226,93)	98,71 ($\pm 97,76$)	70,57 (29,74-138,28)	21,35 ($\pm 16,19$)	13,64 (9,54-33,61)	125,72 ($\pm 132,46$)	84,14 (43,27-161,95)	0,000

Legenda: RCB, contagem total de eritrócitos; Hb, hemoglobina; VCM, volume corpuscular médio; CHCM, concentração da hemoglobina corpuscular média; Ret-rel, contagem relativa de reticulócitos; Ret-abs, contagem total de reticulócitos; IRF, fração de reticulócitos imaturos; Ret-He, conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos; SD, desvio padrão; p, significância

O gráfico da curva ROC está representado na figura 1. Os valores de área sob a curva (AUC) e seus respectivos intervalos de confiança (95%) estão representados na tabela 2.



Diagonal segments are produced by ties.

Figura 1 – Gráfico da curva ROC.

Tabela 2 – Área sob a curva ROC (AUC) e seus intervalos de confiança (95%).

	AUC	Intervalo de confiança (95%)
Ret-He	0,732	0,573 – 0,891
Hb	0,586	0,391 – 0,781
CHCM	0,551	0,346 – 0,756
VCM	0,482	0,305 – 0,660

Legenda: Hb, hemoglobina; VCM, volume corpuscular médio; CHCM, concentração da hemoglobina corpuscular média; Ret-He, conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos

A tabela 3 apresenta determinados pontos de corte do Ret-He e suas respectivas sensibilidades e especificidades.

Tabela 3 – Intervalos do Ret-He e suas respectivas sensibilidades e especificidades.

Ponto de corte (pg)	Especificidade	Sensibilidade
30,40	1,000	0,273
31,90	0,939	0,346
34,95	0,490	0,818
35,25	0,429	1,000

4. DISCUSSÃO

A acurácia diagnóstica para a deficiência de ferro do Ret-He vem sendo estudada por diversos autores, sendo que a avaliação desse parâmetro tem se mostrado um teste com grande potencial para o auxílio da detecção de estágios iniciais da anemia por deficiência de ferro^{13,14,19,21,22,23} e para o acompanhamento do tratamento de reposição^{20,21,22}.

Intervalos de normalidade para o Ret-He já foram determinados por outros autores^{13,23,25,26}. O intervalo encontrado no presente estudo de 29,75 pg a 38,24 pg se assemelha ao estabelecido por Scherer et al. (2015), que propuseram um intervalo de 30,30 pg a 36,96 pg para um grupo de pacientes saudáveis.

A anemia por deficiência de ferro no período gestacional pode levar a conseqüências graves no feto, como retardo no crescimento, nascimento prematuro e morte intrauterina, e também na mãe, como sintomas cardiovasculares, performance física e mental reduzidas, deficiência da função imunológica e necessidade de transfusão após o parto¹⁶. Por essa razão, é de extrema importância que o diagnóstico da anemia ferropênica seja dado o mais precocemente possível nessas pacientes. Mesmo assim, poucos são os estudos da aplicação de Ret-He em relação às gestantes.

O padrão ouro considerado atualmente para o diagnóstico desse tipo de anemia é a dosagem de ferritina sérica^{3,5,8,13,16}. Contudo, o parâmetro mais utilizado para essa avaliação na rotina clínica em gestantes é a dosagem de hemoglobina, de acordo com o protocolo preconizado pelo Ministério da Saúde para o pré-natal²⁷. Outros parâmetros também são utilizados como auxílio no diagnóstico da anemia ferropênica, como VCM e CHCM, assim como no monitoramento do tratamento da doença. Entretanto, eles podem apresentar limitações, em virtude do maior tempo de vida do eritrócito maduro

na circulação^{13,14} ou de alterações no plasma das amostras (lipemia, icterícia e/ou hemólise)¹⁵.

Em comparação com os parâmetros supracitados (Hb, VCM, CHCM), este estudo demonstrou que o Ret-He apresentou o melhor desempenho na detecção de anemia em gestantes. Estudos prévios têm demonstrado um excelente desempenho do Ret-He no diagnóstico da deficiência de ferro. Brugnara et al. (2006) avaliaram a performance do Ret-He no diagnóstico de deficiência de ferro em pacientes cronicamente tratados com hemodiálise. Os autores afirmam que, em comparação com parâmetros tradicionalmente utilizados para o diagnóstico da anemia ferropênica, o Ret-He apresentou um excelente desempenho (AUC = 0,913). Dalimunthe et al. (2016) também investigaram a utilização do Ret-He no diagnóstico da deficiência de ferro em pacientes submetidos a hemodiálise, mostrando boa performance diagnóstica (AUC = 0,818). Além disso, nesse último estudo, o Ret-He também foi avaliado como um marcador precoce de resposta à suplementação de ferro, obtendo-se bom desempenho em relação a esse objetivo.

Evaristi et al. (2007) avaliaram a acurácia de novos marcadores, incluindo o conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos (CHr em equipamentos Advia[®]), para o diagnóstico de deficiência de ferro em mulheres logo após o parto, afirmando que o marcador apresentou bom desempenho, com AUC de 0,79, em relação a outros parâmetros tradicionalmente utilizados no diagnóstico da anemia ferropênica, incluindo hemoglobina, VCM e ferritina. Corroborando o autor, o presente trabalho apresentou desempenho semelhante do Ret-He na população de gestantes estudada, com AUC de 0,73, superior aos outros parâmetros avaliados (Hb, VCM e CHCM).

Evaristi et al. (2007) determinaram ainda um ponto de corte para o Ret-He de 31,9 pg, com sensibilidade de 80,7% e especificidade de 71,3%, semelhante a valores encontrados em outros estudos^{13,21,22}. Diferindo desses achados, no presente trabalho observou-se, nesse ponto de corte, uma excelente especificidade, de 93,9%, porém uma baixa sensibilidade, de 34,6%. Já no ponto de 35,25 pg obteve-se a maior sensibilidade, de 100%, mas uma baixa especificidade, de 42,9%. Um dos fatores que pode justificar a discrepância nos resultados é a diferença do tamanho amostral das pesquisas. Outros fatores, como o reduzido número de gestantes anêmicas na população estudada e a interferência de fatores biológicos da dosagem de ferritina, também podem ter exercido influência nos resultados encontrados.

A OMS recomenda a suplementação de ferro para mulheres grávidas durante todo o período gestacional²⁸. Da mesma forma, no Brasil, o Programa Nacional de Suplementação de Ferro recomenda a suplementação profilática de ferro como parte do pré-natal durante toda a gestação²⁹. Das 60 gestantes avaliadas no presente trabalho, 35% afirmaram ter utilizado sulfato ferroso em algum período gestacional, o que pode ter interferido na observação do desenvolvimento da anemia ferropênica nessa população.

Outro fator potencialmente interferente é o fato de que a ferritina age como um reagente de fase aguda^{14,16,17}, estando aumentada na presença de processos inflamatórios e infecciosos. Devido a isso, há no período gestacional um aumento dos níveis desse marcador no mês anterior ao parto⁷, o que pode mascarar a presença de anemia ferropênica nesse período. Da mesma forma, a ocorrência de processos inflamatórios e infecções no período gestacional também podem ter interferido na observação da deficiência de ferro por meio da dosagem de ferritina, visto que esses dados não foram avaliados neste estudo.

Além de possuir melhor desempenho que os marcadores tradicionais para diagnóstico da anemia ferropênica^{13,14,19,21,22,23} e de também mostrar-se de grande utilidade no acompanhamento do tratamento de pacientes realizando tratamento de reposição de ferro^{20,21,22}, o Ret-He possui grande potencial como uma ferramenta auxiliar no acompanhamento de gestantes no pré-natal. A diminuição progressiva dos valores de Ret-He da paciente pode sugerir o início do desenvolvimento da deficiência de ferro, sendo indicada uma investigação mais aprofundada, utilizando as dosagens de ferro tradicionais. Ainda pode-se salientar que, uma vez que o acompanhamento das gestantes em relação à anemia ferropênica se dá pela avaliação do hemograma²⁷, e que o Ret-He está inserido no hemograma de equipamentos que fornecem contagem de reticulócitos, este torna-se uma alternativa de baixo custo e que não requer coleta adicional de amostra, o que é vantajoso em relação aos outros marcadores utilizados tradicionalmente.

5. CONCLUSÃO

Tendo em vista a importância do diagnóstico precoce da anemia ferropênica na gestação, objetivando evitar danos à saúde da mãe e do feto, pode-se sugerir que o Ret-He é uma alternativa com excelente potencial como ferramenta auxiliar no diagnóstico precoce da deficiência de ferro em gestantes, especialmente no acompanhamento do pré-natal. A observação periódica dos valores do Ret-He, inserido nos hemogramas de rotina do pré-natal, pode facilitar a observação do início do desenvolvimento de anemia ferropênica na gestante, quando a diminuição progressiva dos valores de Ret-He apontaria para a necessidade de uma investigação mais aprofundada, utilizando as dosagens de ferro convencionais.

6. REFERÊNCIAS

- 1- WHO. World Health Organization. Anaemia. Disponível em: <http://www.who.int/topics/anaemia/en/>.
- 2- WHO. World Health Organization. Iron Deficiency Anaemia. Disponível em: <http://www.who.int/nutrition/topics/ida/en/>.
- 3- Camaschella C. Iron-deficiency anemia. *N Engl J Med.* 2015; 372:1832-43. DOI: 10.1056/NEJMra1401038.
- 4- Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia: Fundamentos e prática. São Paulo: Atheneu; 2001.
- 5- Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas: Anemia por deficiência de ferro. Ministério da Saúde. Portaria SAS/MS nº 1.247, de 10 de novembro de 2014.
- 6- Souza AI, Filho MB, Ferreira LOC. Alterações hematológicas e gravidez. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2002; 24(1): 29-36. DOI:10.1590/S1516- 84842002000100006.
- 7- Lee AI, Okam MM. Anemia in pregnancy. *Hematol Oncol Clin N Am.* 2011; 25: 241–259. DOI:10.1016/j.hoc.2011.02.001.
- 8- Rodrigues LP, Jorge SRPF. Deficiência de ferro na gestação, parto. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2010; 32(2): 53-56.
- 9- Sifakis S, pharmakides G. Anemia in Pregnancy. *Acad Sci.* 2000; 900: 125–136. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06223.

- 10- WHO. World Health Organization. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. Disponível em: <http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin/en/>.
- 11- CDC. Centers for Disease Control and Prevention. CDC report: Recommendations to prevent and control iron deficiency. Disponível em: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00051880.htm>.
- 12- Barrett JFR, Whittaker JGW. Absorption of non haem iron from food during normal pregnancy. *BMJ*. 1994; 309: 79. DOI: 10.1136/bmj.309.6947.79.
- 13- Igartua EU, Hoffmann JJML, Izquierdo-Álvarez S, Escanero JF. Reticulocyte hemoglobin content (MCHr) in the detection of iron deficiency. *J Trace Elem Med Biol*. 2017; 43: 29-32. DOI: 10.1016/j.jtemb.2016.11.001.
- 14- Peerschke EIB, Pessin MS, Maslak P. Using the Hemoglobin Content of Reticulocytes (RET-He) to Evaluate Anemia in Patients With Cancer. *Am J Clin Pathol*. 2014; 142: 506-512. DOI: 10.1309/ajcpcvz5b0boyjgn.
- 15- Berda-haddad Y, Faure C, Boubaya M, et al. Increased mean corpuscular haemoglobin concentration: artefact or pathological condition? *Int Jnl Lab Hem*. 2017; 39: 32–41. DOI:10.1111/ijlh.12565.
- 16- Breyman C. Iron Deficiency and Anaemia in Pregnancy: Modern Aspects of Diagnosis and Therapy. *Blood Cells Mol Dis*. 2002; 29(3): 506-516. DOI: 10.1006/bcmd.2002.0597
- 17- Ervasti M, Kotisaari S, Heinonen S, Punnonen K. Use of advanced red blood cell and reticulocyte indices improves the accuracy in diagnosing iron deficiency in pregnant women at term. *Eur J Haematol*. 2007; 79: 539–545. DOI:10.1111/j.1600-0609.2007.00964.x.
- 18- Buttarello M. Laboratory diagnosis of anemia: are the old and new red cell parameters useful in classification and treatment, how? *In. Jnl Lab Hem*. 2016; 38(1): 123–132. DOI:10.1111/ijlh.12500.
- 19- Grotto HZW, Torino ABB, Gilberti MFPG, Costa E, Lima GAF. Evaluation of erythrocyte and reticulocyte parameters as indicative of iron deficiency in patients with anemia of chronic disease. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2015; 37(2): 77–81. DOI: 10.1016/j.bjhh.2015.02.004.

- 20- School M, School M, Gaag D, Bartels P. Effects of iron supplementation on red blood cell hemoglobin content in pregnancy. *Hematol Rep.* 2012; 4(24): 91-94. DOI:10.4081/hr.2012.e24.
- 21- Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. Erythrocyte and reticulocyte indices in the assessment of erythropoiesis activity and iron availability. *Int Jn. Lab Hem.* 2013; 35: 144–149. DOI:10.1111/ijlh.12013.
- 22- Dalimunthe NM, Lubis AR Usefulness of Reticulocyte Hemoglobin Equivalent in Management of Regular Hemodialysis Patients with Iron Deficiency Anemia *Rom J Intern Med.* 2016; 54(1): 31–36. DOI: 10.1515/rjim-2016-0003.
- 23- Brugnara C, Schiller B, Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. *Clin Lab Haem.* 2006; 28: 303–308. DOI: 10.1111/j.1365-2257.2006.00812.x.
- 24- Ferreira CES, Andriolo A. Intervalos de referência no laboratório clínico. *J Bras Patol Med Lab.* 2008; 44(1): 11-16. DOI: 10.1590/s1676-24442010000600002.
- 25- Morkis IVC, Farias MG, Scotti L. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2016; 38(4): 310–313. DOI: 10.1016/j.bjhh.2016.07.001.
- 26- Scherer PS, Moraed D, Munhoz TP, Sgnaolin V. New red blood cell and reticulocyte parameters and reference values for healthy individuals and in chronic kidney disease. *J Bras Patol Lab.* 2015; 51(2): 77-84. DOI: 10.5935/1676-2444.20150014.
- 27- Ministério da Saúde. Assistência pré-natal: Manual técnico. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cd04_11.pdf
- 28- WHO. World Health Organization. Guideline: Daily iron and folic acid supplementation in pregnant women. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77770/1/9789241501996_eng.pdf.
- 29- . Ministério da Saúde. Programa nacional de suplementação de ferro: Manual de condutas gerais Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_suplementacao_ferro_condutas_gerais.pdf.

ANEXO – INSTRUÇÕES DA REVISTA DE PUBLICAÇÃO

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

O Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML), continuação do Jornal Brasileiro de Patologia, de periodicidade bimestral (fevereiro, abril, junho, agosto, outubro e dezembro), é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), da Sociedade Brasileira de Patologia (SBP) e da Sociedade Brasileira de Citopatologia (SBC). É indexado no Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), no Periodica e no Chemical Abstracts e é integrante da base de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO). Destina-se à publicação de trabalhos científicos que contribuam para o desenvolvimento da área de Medicina Laboratorial e aceita as seguintes categorias: artigos originais, de revisão, de atualização, experimentais, relatos de caso, comunicações breves e cartas aos editores. Os trabalhos podem ser submetidos nos idiomas português, inglês ou espanhol, mas o texto completo será publicado apenas em inglês, com resumo em português ou espanhol.

ANÁLISE DOS TRABALHOS

O manuscrito recebido será enviado para, pelo menos, dois avaliadores independentes, pares científicos, de renome e com conhecimento específico na área contemplada pelo artigo. Após análise pelos avaliadores, o editor-chefe do JBPML entrará em contato com o autor principal comunicando os passos a serem seguidos na aceitação do trabalho para publicação ou sua eventual rejeição.

ÉTICA

Estudos realizados com seres humanos, incluindo órgãos e/ou tecidos isoladamente, bem como prontuários clínicos ou resultados de exames clínicos, deverão estar de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Quando pertinente, o trabalho deverá ter aprovação do comitê de ética da instituição onde foi realizada a pesquisa, em consonância com a Declaração de Helsinki, atualizada em 2008.

Nos trabalhos experimentais envolvendo animais, devem ser respeitados os princípios

éticos de experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e as normas estabelecidas no Guide for Care and Use of Laboratory Animals (Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council, Washington, D.C., atualizada em 2011). As drogas e substâncias químicas eventualmente utilizadas na realização do trabalho devem ser identificadas com precisão. Não devem ser utilizados nomes ou iniciais do paciente nem informados nomes comerciais, de empresas e/ou registros de hospitais.

RESPONSABILIDADE DA AUTORIA E CONFLITO DE INTERESSES

De acordo com as diretrizes elaboradas pelo International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), atualizada em 2013, a autoria deve ser validada para: a) concepção e projeto do trabalho ou aquisição, análise e interpretação dos dados; b) redação inicial do artigo ou revisão crítica do seu conteúdo; c) aprovação final da versão para publicação; d) responsabilidade para todos os aspectos do trabalho, garantindo que questões relacionadas à acurácia ou integridade de qualquer parte do trabalho sejam adequadamente investigadas e analisadas. Todos os autores listados no artigo devem preencher os quatro critérios de validação de autoria para serem designados como tal. Os participantes do trabalho que não preencherem os quatro critérios devem ser incluídos na secção de Agradecimentos (Acknowledgements). O autor principal deve especificar a contribuição de cada um nas diferentes etapas do estudo.

Do mesmo modo, o autor principal deve declarar ou negar a existência de possíveis conflitos de interesse. Caso exista algum conflito, ele deve ser especificado como nota no final do artigo.

RESUMOS E UNITERMOS

Independentemente do idioma no qual o trabalho foi escrito, devem constar dois resumos: um em português (Resumo) e outro em inglês (Abstract). Os resumos devem identificar os objetivos, os procedimentos e as conclusões do trabalho (máximo de 250 palavras para artigos originais, artigos de revisão e artigos de atualização; e máximo de 100 palavras para relatos de caso e comunicações breves). Caso o trabalho tenha sido escrito em espanhol, deverá haver um resumo também nesse idioma. Os unitermos, palavras que representam o assunto tratado no trabalho, devem ser em número de três a seis, utilizando o vocabulário controlado Descritores em Ciências da

Saúde (DeCS) da BIREME, acrescidos de outros termos, quando necessário. Devem ser apresentados em português e inglês. Caso o trabalho tenha sido escrito em espanhol, deverá haver descritores também nesse idioma.

AGRADECIMENTOS

Devem ser breves, diretos e dirigidos apenas à pessoa ou à instituição que contribuiu substancialmente para a elaboração do trabalho. Devem ser incluídos após as conclusões e antes das referências bibliográficas.

ESTRUTURA DO TEXTO

Artigos originais

São contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa original que possam ser replicados. Os artigos podem conter até 4 mil palavras. A sua estrutura formal deve seguir o esquema de apresentação do texto para esse tipo de artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências Bibliográficas.

O uso de subtítulos é recomendado, particularmente na Discussão. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser claramente apontadas. Sugere-se o detalhamento do tópico Material e Método. Para esses artigos, exige-se a apresentação de resumos estruturados em português e inglês, com cabeçalhos obedecendo à apresentação formal do artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências. O Abstract (resumo em inglês) deve ser precedido pelo título em inglês. As referências bibliográficas devem aparecer no final do texto, obedecendo às normas especificadas a seguir

Comunicações breves

São relatos curtos que devem apresentar: 1) dados de estudos preliminares com achados sugestivos que garantam uma investigação mais definitiva; 2) estudos de replicação; e 3) estudos negativos de tópicos importantes. Esses artigos devem ter até 1.500 palavras, incluir resumo não estruturado e, no máximo, uma tabela ou figura, além das referências bibliográficas.

Artigos de revisão

Serão aceitos apenas mediante convite.

Avaliações críticas sistematizadas da literatura sobre determinado assunto, devem incluir conclusões e ter até 5 mil palavras. A organização do texto, com exceção de Introdução, Discussão e Conclusão, fica a critério do autor. Para esses artigos, exige-se um resumo estruturado no idioma do texto e outro em inglês. Uma lista extensa de referências bibliográficas deve aparecer no final do texto.

Relatos de caso

São trabalhos de observações clinicolaboratoriais originais, acompanhados de análise e discussão. Devem conter até 1.500 palavras. A estrutura deve apresentar, no mínimo, os seguintes tópicos: Introdução, Relato(s) dos(s) caso(s) e Discussão. Incluir um resumo não estruturado no idioma do texto e outro em inglês.

Cartas aos editores

Inclui cartas que visam a discutir artigos recentes publicados na revista ou a relatar pesquisas originais ou achados científicos significativos. Cartas breves, com no máximo 500 palavras (incluindo referências, sem tabelas ou figuras), serão consideradas se estiver explícita a frase “para publicação”.

REFERÊNCIAS

As referências bibliográficas devem aparecer no final do artigo, e ser numeradas sucessivamente pela ordem em que são mencionadas pela primeira vez no texto. Devem seguir as normas do Estilo Vancouver. Os títulos dos periódicos deverão ser referidos na forma abreviada de acordo com o Index Medicus (List of Journals Indexed in Index Medicus). Se a lista de referências não seguir a norma adotada, os trabalhos serão imediatamente rejeitados, sem revisão de conteúdo.

Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados, quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências

bibliográficas; apenas mencionados no texto ou em nota de rodapé. A lista de referências deve seguir o estilo dos exemplos abaixo.

Exemplos:

- **Artigos de periódicos (um só autor):** Fry PH. O significado da anemia falciforme no contexto da ‘política racial’ do governo brasileiro 1995-2004. *Hist Cienc Saude Manguinhos*. 2005; 12: 347-70. PubMed PMID: 16353330.
- **Artigos de periódicos (até seis autores):** Barbosa AJA, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Lima GF Jr, Oliveira CA. Immunocytochemical identification of *Campylobacter pylori* in gastritis and correlation with culture. *Arch Pathol Lab Med*. 1988 May; 112(5): 523-5. PubMed PMID: 3282485.
- **Artigos de periódicos (mais de seis autores):** Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, et al. Indirect immunofluorescence determination of the frequency of anti-*H. pylori* antibodies in Brazilian blood donors. *Braz J Med Biol Res*. 1992; 25(7): 683-9. PubMed PMID: 1342599.
- **Artigo de periódico on-line:** Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2006 Jan; 27(1): 34-7. Disponível em: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>.
- **Livros no todo (dois autores):** Eyre HJ, Lange DP. *Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery*. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; 2002.
- **Capítulos ou parte de livro editado por outro autor:** Mendenhall WM. Treatment of head and neck cancer. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, editors. *Cancer: principles and practice of oncology*. 9th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 729-80.
- **Parte de livro em meio eletrônico:** São Paulo (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. *Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente*.

In: São Paulo (Estado). Entendendo o meio ambiente. São Paulo; 1999. v. 1. Disponível em: <http://www.bdt.org/sma/entendendo/atual/htm>.

- **Evento em meio eletrônico:** Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editores. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

- **Tese ou dissertação:** Silva MAL. Estudo da identificação de haplótipos e a relação com as manifestações clínicas em pacientes com doença falciforme. 2008. [dissertação]. Programa de pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.

- **Citações no texto:** Devem ser identificadas por algarismos arábicos (números-índice). Podem também ser acrescentados o nome do autor e o ano. As referências com mais de um autor devem conter o sobrenome do autor seguido da expressão et al., como, por exemplo, Higashi et al.

Tabelas e figuras

As tabelas deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçadas por seu título, recomendando-se a não repetição dos mesmos dados em gráficos. Na montagem das tabelas, seguir as normas de apresentação tabular estabelecidas pelo Conselho Nacional de Estatística e publicadas pela Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 1993).

As ilustrações (gráficos, fotografias, desenhos etc.) deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como figuras. Devem ser suficientemente claras para permitir sua produção. Os gráficos deverão vir preparados em programa processador de gráficos. Deverão ser indicados os locais aproximados no texto onde as ilustrações serão intercaladas como figuras.

O SGP aceita a importação de tabelas, imagens e gráficos em arquivo eletrônico nos seguintes formatos: jpg, gif, psd, tif e png, e com resolução de no mínimo 300 dpi.

O direito à privacidade do paciente não deve ser infringido. Imagens que eventualmente permitam a identificação pessoal somente poderão ser utilizadas com

consentimento por escrito do paciente ou responsável, quando da submissão do manuscrito

Abreviações e nomes de medicamentos

As abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. Empregar o nome genérico de medicamentos e indicar a fonte de componentes não disponíveis para prescrição.

As unidades de medida, inclusive suas abreviaturas, devem ser expressas no sistema métrico decimal e, quando o autor assim o desejar, também no Sistema Internacional (SI) entre parênteses.

Contato com a secretaria do JBPML

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
Tel.: +55 (21) 3077-1400 e-mail: jbpml@sbpc.org.br.