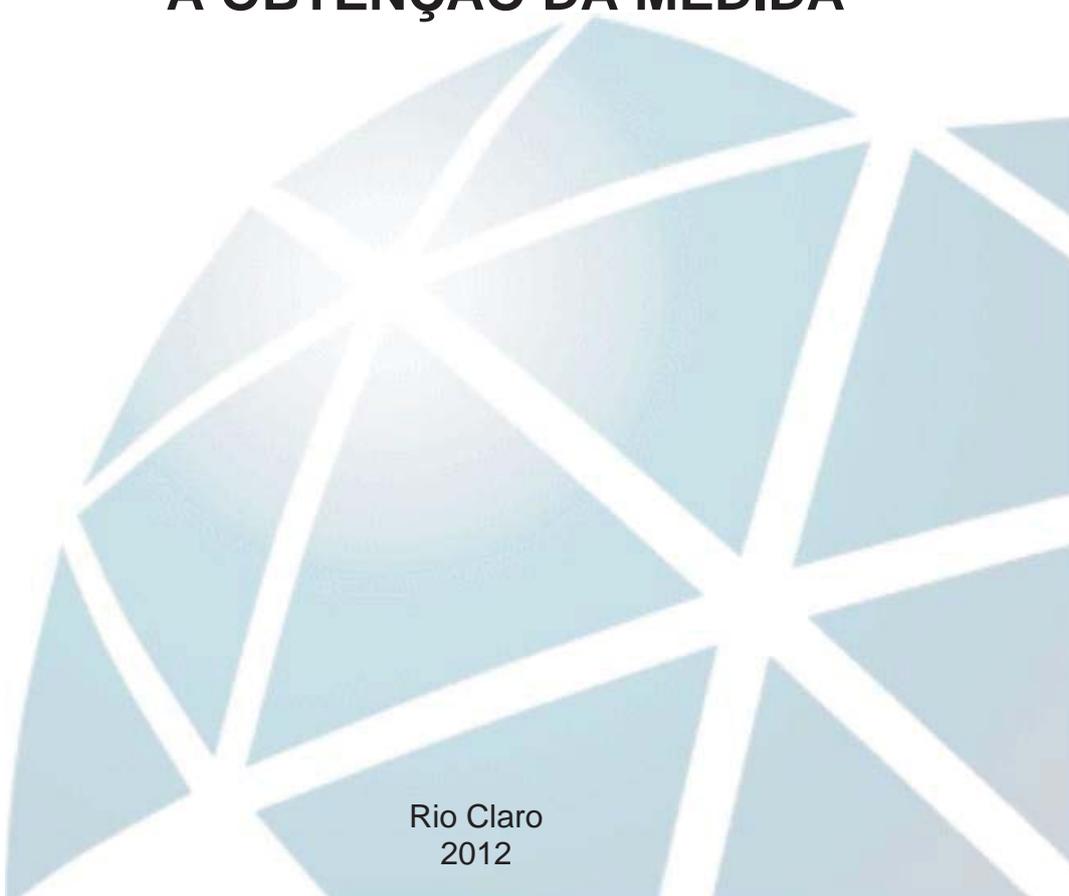

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANNIE BEATRIZ STEUDNER

**ESTUDO DA VISCOSIDADE DO SANGUE:
QUANTIDADE DE AMOSTRA NECESSÁRIA
À OBTENÇÃO DA MEDIDA**



Rio Claro
2012

Annie Beatriz Steudner

**ESTUDO DA VISCOSIDADE DO SANGUE: QUANTIDADE DE
AMOSTRA NECESSÁRIA À OBTENÇÃO DA MEDIDA**

Orientadora: Prof^a Dra. Ruth Ferreira Santos Galduróz

Co-orientador: Prof. Dr. José Carlos Fernandes Galduróz

Supervisor: Prof. Dr. Carlos Alberto Anaruma

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de Rio Claro, para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Rio Claro

2012

574.1 Steudner, Annie Beatriz
S842e Estudo da viscosidade do sangue : quantidade de amostra
necessária à obtenção da medida / Annie Beatriz Steudner. -
Rio Claro : [s.n.], 2012
51 f. : il., figs., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências
Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biotecnologia de Rio Claro

Orientador: Ruth Ferreira Santos Galduróz

Co-Orientador: José Carlos Fernandes Galduróz

1. Fisiologia. 2. Hemorreologia. 3. Viscometria. 4.
Viscosímetro rotacional. 5. Cone/prato. 6. Protocolo. I. Título.

Aos meus queridos pais, Cida e Siegfried

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, aos meus pais, Maria Aparecida e Siegfried, pelo chão e pelas asas. Meu maiores amigos, meus heróis, as pessoas que eu carrego comigo pra onde quer que eu vá, seja nos valores que me inspiraram, seja no amor que me ensinaram a ter ao fazer qualquer coisa. Os grandes mercedores dessa conquista.

À minha Oma, meu Opa, minha Vó Angélica e meu Nono, pela família maravilhosa e especial que construíram. Meu eterno amor e gratidão.

À minha orientadora, amiga e “mãe”, Ruth, pela eterna tranquilidade e bom humor, pelo acolhimento e confiança, e por tudo que eu aprendi nesse um ano de muito trabalho e muitas experiências (e muitas risadas, e angústias, e conversas... Obrigada Ruth, por tudo, tudo!). Ao meu co-orientador, José Carlos, pelos ótimos conselhos e por toda a disponibilidade em me ajudar, em todos os momentos. Sinto-me muito honrada pela oportunidade de tê-los tido como orientadores, vocês serão sempre amigos queridos e grandes exemplos!

A todos os meus companheiros de Grupo de Pesquisa, tanto da UNESP - Rio Claro como da UFABC, pelo eterno clima de amizade e ajuda, e principalmente à Fábria, Pati, Feng e Marcos, por serem grandes companheiros sempre, pelo trabalho incansável, por toda a ajuda e principalmente por terem se tornado meus grandes amigos... Muito obrigada!

A todos os meus amigos, em especial à Carol e a Flá, por serem parte de tudo, em todos os momentos, por acompanharem cada passo, por todo o amor; e à Renata, pela amizade verdadeira e por ser meu porto-seguro nessa vida.

Meu muitíssimo obrigado a todos os meus amigos de Rio Claro, por esses anos INCRÍVEIS, em que eu vivi tantas coisas, aprendi tanto, ri e chorei tanto... todos e cada um de vocês foram importantes, com toda a certeza! Não poderia deixar de agradecer ao Marcelo, pela vida compartilhada durante a minha graduação, e à Neide e seu Dâmaso, por todo o carinho e conselhos, que eu levo sempre comigo. Aos meus companheiros de Centro Acadêmico (Marina, Cazuzza, Fíi e Moyra), pelo ano louco (rs), em que vivemos, aprendemos e construímos tantas coisas. E em especial à Marina, minha companheira de república e da vida, e ao Sá-sá (Arnaldo Shindi), meu irmão de coração.

Aos meus grandes professores e mestres, vocês nunca serão esquecidos.

E, finalmente, aos anjos que estiveram comigo durante a graduação: Otto, Jade, Horus, Thor, Zé (meu preto), Tininha, Fred e Suzi. E ao meu Baloo, cuja carinha nevada não esconde os anos que compartilhou comigo... Que sorte a minha poder conviver com vocês!

RESUMO

Os valores encontrados para a viscosidade sanguínea tendem a aparecer com diferenças significativas, de acordo com o sexo, avançar da idade e uso de substâncias. Pelo fato de o sangue ser um fluido não newtoniano, não podemos expressar sua viscosidade em termos absolutos sem que sejam levadas em conta as condições em que a mensuração é feita. Estudos anteriores destacaram a importância esta medida, considerando o efeito da idade, o uso de substâncias, bem como sua relação com Fluxo Sanguíneo Regional Cerebral, o que pode indicar correlação com declínios cognitivos. Entretanto, a prática médica carece ainda de um método simples e clinicamente prático para a verificação desta medida, além de valores de referência. Como passo inicial no sentido de padronizar os procedimentos e condições do processo de medição, avaliamos a quantidade mínima de amostra necessária para a medição da viscosidade sanguínea, utilizando este equipamento. Um total de 20 amostras de sangue foram coletadas de indivíduos saudáveis, entre 18 e 60 anos, em tubos com EDTA, e cada amostra dividida em 9 sub-amostras (de 600 μ l, 550 μ l, 500 μ l, 450 μ l, 400 μ l, 350 μ l, 300 μ l, 250 μ l e 200 μ l), totalizando, portanto, um total de aproximadamente 180 medições. A quantidade de 200 μ l apresentou diferenças significativas com relação à primeira medida obtida, quando comparada com todas as demais quantidades ($p < 0,001$), o que indica que com o uso desta quantidade, não é possível obter resultados confiáveis, pois existe alteração nos valores de VS obtidos relacionada à quantidade de material utilizado. Considerando a menor quantidade, bem como, que estivesse dentro da faixa de variação aceitável de 0,2 mPa.s, e a qual não apresentasse diferença significativa quando comparadas às demais ($p > 0,05$), foi verificada a quantidade de **250 μ l** como a mais eficiente para medições de viscosidade utilizando o Viscosímetro Digital Brookfield DV-III ®, além de ter sido verificado que é possível ter grande controle sobre a oscilação de temperatura.

Palavras-chave: hemorreologia, viscometria, viscosímetro rotacional, cone/prato, protocolo.

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. Demonstrativo das médias, medida de variação (dp) e quantidade de amostras em cada medida.	35
Tabela 2. Demonstrativo das análises comparativas entre os resultados obtidos com diferentes quantidades de sangue utilizados para a mensuração.....	36-37
Tabela 3. Demonstrativo das médias \pm dp da temperatura, torque e tempo (minutos) corrido entre a coleta de material e a realização da medida, bem como os valores de “r”.	38

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	
1.1. O Sangue	14
1.2. Hemorreologia.....	16
1.2.1. O sangue como um fluido não newtoniano	17
1.3. Viscosidade Sanguínea (VS).....	19
1.3.1. Importância da Viscosidade Sanguínea	20
1.4. Mensuração da Viscosidade Sanguínea	21
2. OBJETIVO.....	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	
3.1. Local de realização do estudo	27
3.2. Coleta de sangue.....	27
3.3. Instrumentos	28
3.4. Equipamentos	28
3.4.1. Viscosímetro	29
3.4.2. Banho termostático	31
3.5. Mensuração da Viscosidade Sanguínea	32
3.6. Resíduos	34
3.7. Análise estatística.....	34
4. RESULTADOS	35
5. DISCUSSÃO.....	39
6. CONCLUSÃO.....	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
8. ANEXOS.....	
8.1. Anexo A – Modelo de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	46
8.2. Anexo B – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	48

1. INTRODUÇÃO

1.1. O Sangue

O sangue representa cerca de 7% do peso corporal de um indivíduo (LERNER, 1974). É constituído pelo plasma, a porção líquida amarelada e semitransparente responsável por 55% do volume sanguíneo, onde se encontram células especializadas em suspensão (glóbulos vermelhos (Fig. 1) – também chamados de eritrócitos ou hemácias -, glóbulos brancos e plaquetas) (LERNER, 1974). Sendo fluido e único entre os tecidos do corpo, sua função essencial é o transporte de substâncias, como hidrogênio, oxigênio, eletrólitos, substâncias nutritivas, entre outras, além de produtos do metabolismo celular (CONLEY, 1978 in MOUNTCASTLE, 1978).

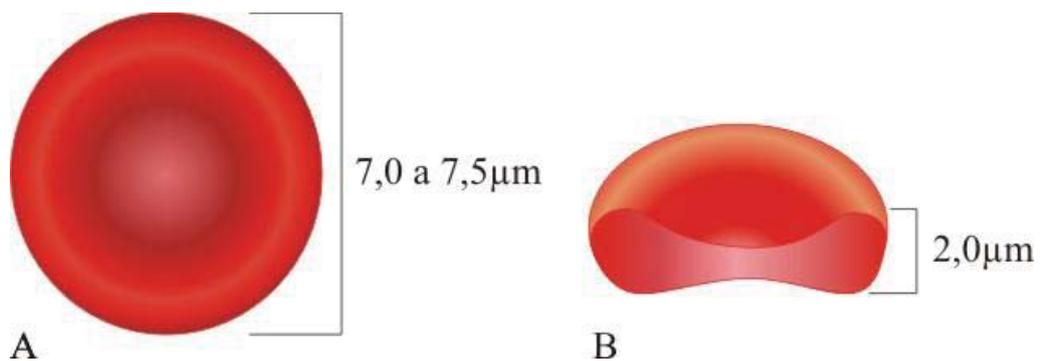


Figura 1: Glóbulo vermelho (eritrócito ou hemácia). A – Vista Superior; B – Vista em perspectiva com corte transversal, mostrando a espessura da célula e sua depressão central, que lhe confere um aspecto bicôncavo, quando vista lateralmente ao microscópio. Ilustração pela autora, baseada em Carvalho e Oliveira (2006) e Lerner (1974).

As hemácias são células anucleadas, com tempo médio de vida de 120 dias, de forma discoide, altamente especializadas para o transporte de gases respiratórios, e que contém o pigmento hemoglobina, capaz de se ligar ao oxigênio e gás carbônico e que confere a coloração característica ao sangue, conforme os gases a que estiver ligada (LERNER, 1974).

A fração volumétrica de hemácias no sangue recebe o nome de hematócrito e costuma representar 45% do volume total da emulsão polidispersa que constitui o sangue total (CARVALHO & OLIVEIRA, 2006; CONLEY in MOUNTCASTLE, 1978), porém esse valor pode aumentar a 65%, ou chegar a 15%, em anemias (LERNER, 1974).

São encontrados aproximadamente 5 milhões de hemácias por milímetro cúbico de sangue nos homens, e 4,5 milhões na mulher (LERNER, 1974). Porém, estas quantidades

podem variar, dependendo das condições, seja por um aumento no número de células, seja pela maior concentração do sangue (LERNER, 1974). A capacidade de deformação e de adaptação de diâmetro das hemácias quando da passagem do sangue através dos capilares (MELARAGNO FILHO, 1995), bem como a axialização destas nos vasos sanguíneos e o valor do hematócrito no sangue, representam fatores importantes de influência na viscosidade do sangue total (OLIVEIRA et al., 2010). O cálculo do movimento do sangue envolve a determinação do comportamento das hemácias, que se caracteriza, além da já citada deformação, pela orientação e agregação das células (CARVALHO & OLIVEIRA, 2006).

Além do hematócrito, outro fator de grande influência na viscosidade do sangue total é a viscosidade do plasma (REINHART, 2001). O plasma pode ser facilmente separado do hematócrito e ambos serem quantificados através da centrifugação da amostra sanguínea, quando pode ser também observado o processo de coagulação no plasma, evidenciando que é um processo essencialmente plasmático (LERNER, 1974).

Alterações na concentração de fibrinogênio, uma proteína da coagulação sanguínea (NELSON & COX, 2011), interferem na viscosidade plasmática, refletindo na viscosidade do sangue total (TRAVAGLI et al., 2007). Como em geral 90% do plasma é água (NELSON & COX, 2011), a hidratação do indivíduo também pode ser um fator considerável. Os outros 10% de sua composição são solutos plasmáticos: componentes inorgânicos, metabólitos orgânicos, produtos de excreção e proteínas (NELSON & COX, 2011). Uma ampla variedade de proteínas, lipoproteínas, nutrientes, metabólitos, íons inorgânicos e hormônios estão dissolvidos ou suspensos no plasma, além de muitas substâncias que frequentemente aparecem em quantidades-traço, como pigmentos biliares (NELSON & COX, 2011).

Ademais, o sangue também possui leucócitos ou glóbulos brancos, que podem ser agranulócitos (linfócitos, monócitos) ou granulócitos (eosinófilos, basófilos e neutrófilos). Sua quantidade no sangue varia de 5.000 a 10.000 células por milímetro cúbico, sem diferença entre homens e mulheres, porém este número pode variar, com alterações do número total de leucócitos ou de apenas um dos tipos (LERNER, 1974).

As plaquetas ou trombócitos aparecem em número de 25.000 por milímetro cúbico de sangue, e sua função se relaciona principalmente com o processo de coagulação sanguínea, porém, sua tendência de aglutinação pode acabar favorecendo a obstrução de vasos sanguíneos de pequeno calibre (LERNER, 1974).

As proporções dos elementos sanguíneos estão ilustradas na Figura 2.

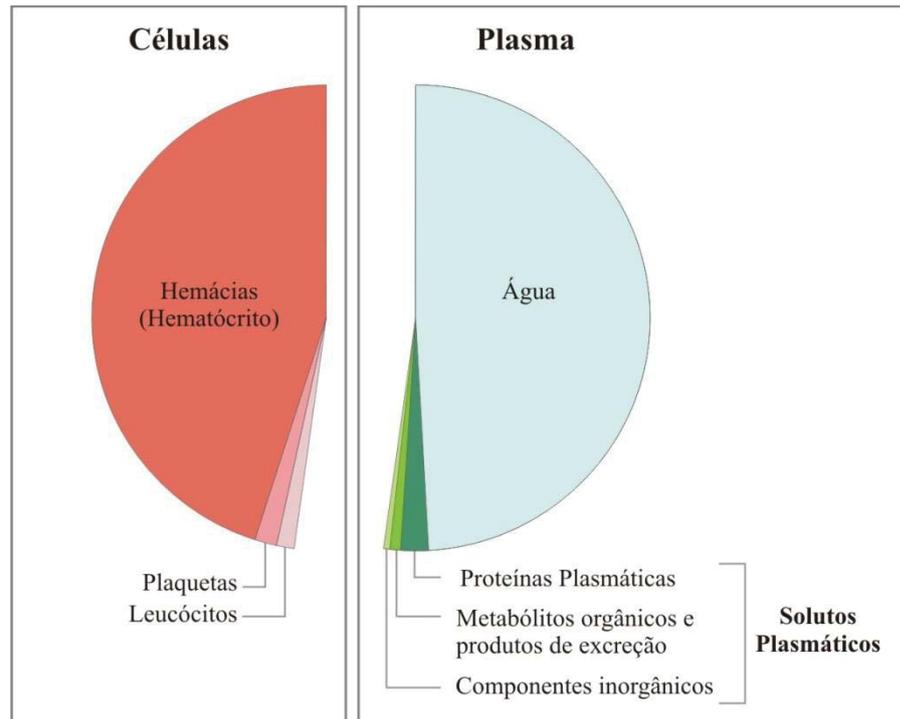


Figura 2. Proporções dos principais elementos que compõem o sangue. Ilustração recriada a partir de Nelson e Cox (2011), baseada também em informações de Lerner (1974).

1.2. Hemorreologia

Os gregos e chineses da antiguidade já conheciam a relevância do fluxo sanguíneo cerebral sobre as doenças neurológicas (MELARAGNO FILHO, 1995). Porém, somente quando Poiseuille e Hager estabeleceram as relações entre a queda de pressão, o fluxo cerebral e a resistência contraposta a esse fluxo, no início do século XX, é que surgiu o conceito básico da hemorreologia (CHIEN, 1986 apud MELARAGNO FILHO, 1995).

O termo *Reologia* foi proposto em 1929 por Eugene C. Bingham, para designar “a ciência da deformação e fluxo da matéria” (COPLEY, 1952 apud MARTINS E SILVA & SALDANHA, 2005), definição dentro da qual está compreendida a “resistência de um líquido ao fluir” (ROSENCRAZ & BOGEN, 2006). A medida desta resistência pode ser considerada sua *viscosidade*, termo que se originou da palavra latina para uma substância pegajosa utilizada como armadilha para capturar pássaros, preparada a partir de certas plantas da ordem Santalales (ROSENCRAZ & BOGEN, 2006), cujo nome popular é “visco” ou “visgo”, em português.

Vinte e dois anos após Bingham propor o termo *Reologia*, Alfred L. Copley (Fig. 3) propõe então o termo *Hemorreologia*, pela primeira vez, para designar “as propriedades deformáveis e de fluxo dos constituintes celulares e plasmáticos do sangue, bem como copropriedades reológicas das paredes vasculares em interação direta com o sangue”. (COPLEY, 1952 apud MARTINS E SILVA & SALDANHA, 2005). A 1ª Conferência Internacional em Hemorreologia ocorreu em 1966, na Universidade da Islândia, quando foi realizada a fundação da Sociedade Internacional de Hemorreologia e a definição do termo foi adotada, finalmente (MARTINS E SILVA & SALDANHA, 2005).

A *Hemorreologia Clínica* surgiu para englobar o “estudo das manifestações clínicas subsequentes a processos patológicos que interferem na funcionalidade normal do órgão vaso-sangue, a que acresce a participação do seu diagnóstico, terapêutica e prevenção” (MARTINS E SILVA & SALDANHA, 2005).

Mais tarde, em 1985, com os trabalhos de Siegfried Witte (Fig. 3), a hemorreologia passou a abranger também a “reologia de outros líquidos teciduais, os espaços intersticiais, as membranas celulares que os delimitam, juntamente com a linfa, os vasos linfáticos e as respectivas paredes”, o que foi denominado depois de *Peri-hemorreologia*. (COPLEY, 1989 apud MARTINS E SILVA & SALDANHA, 2005).

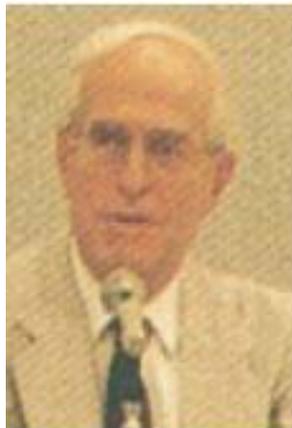


Figura 3: Alfred L. Copley e Siegfried Witte, expoentes da Hemorreologia. Alfred L. Copley (à esq.), cientista proponente do termo *hemorreologia*. Presidiu em 1966 a 1ª Conferência Internacional em Hemorreologia, e foi laureado em 1972 com a “Poiseuille Gold Medal” em Biorreologia. Copley também fundou, ao lado de Siegfried Witte (à dir., laureado com a “Fahraeus Medal Award” em Hemorreologia Clínica, em 1997) em 1981, o jornal “Clinical Hemorheology”, atualmente denominado “Clinical Hemorheology and Microcirculation”. Fonte: Martins e Silva e Saldanha (2005).

1.2.1. O sangue como um fluido não-newtoniano

O sangue é considerado um fluido não-newtoniano, pelo fato de a velocidade de cisalhamento não ser proporcional à tensão de cisalhamento (CONLEY in MOUNTCASTLE, 1978). Dessa forma, o sangue, ao fluir, apresenta camadas concêntricas que se movem no

interior dos vasos a velocidades diferentes, sendo que a camada mais interna apresenta a maior velocidade, enquanto as camadas mais periféricas movem-se com maior lentidão. A formação destas camadas evita que os elementos de uma se misturem aos da outra, o que gera a laminaridade do fluxo (SILVA JR., 1977), ilustrado esquematicamente na figura 4. A diferença na velocidade das camadas é a **taxa de cisalhamento** (*shear rate*), e a força aplicada a uma camada do fluido, que resulta que uma camada se mova em relação à outra, é a **tensão de cisalhamento** (*shear stress*) (ROSENCRANZ & BOGEN, 2006).

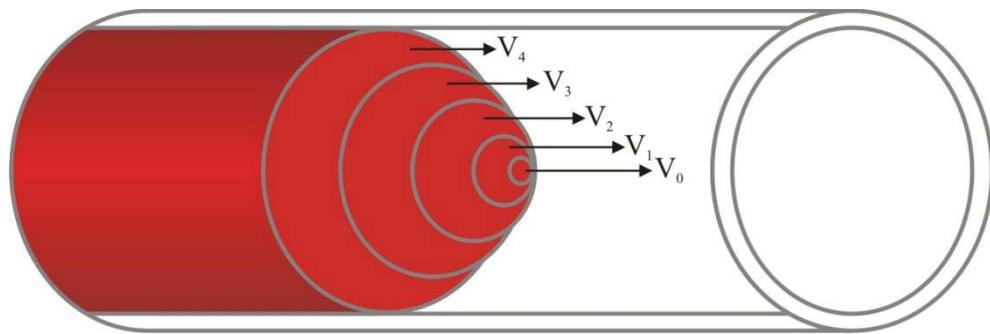


Figura 4. Esquema de velocidade parabólica do fluxo laminar. Esquema do fluxo de sangue no interior de um vaso, mostrando a velocidade parabólica do fluxo laminar, onde as porções (ou camadas) mais internas movem-se com maior velocidade enquanto aquelas próximas à periferia praticamente não se movem. Sendo assim, a velocidade das partículas diminui progressivamente do centro do fluxo para a periferia, formando uma parábola, de forma que todas as camadas adjacentes terão velocidade menor que V_0 ($V_0 > V_1 > V_2 > V_3 > V_4$, e assim sucessivamente), devido à fricção interna do fluido – ou *viscosidade*. A viscosidade, ou fricção interna, é também o que faz com que uma camada mova-se após a outra. Ilustração a partir das ilustrações e informações presentes em Aloian in Tavares (1984) e Rosencranz e Bogen (2006).

O sangue pode ser caracterizado como um fluido complexo, que apresenta características de fluidos Bingham, pseudo-plásticos e emulsões concentradas (CARVALHO & OLIVEIRA, 2006). Possui, ainda, um comportamento tixotrópico, devido à formação de uma microestrutura tridimensional e ao alinhamento das hemácias não serem instantâneos, o que tem por consequência a dependência da duração de tempo em que o cisalhamento é aplicado sobre as propriedades do material, já que esta estrutura tridimensional requer um tempo finito para de formar e se desconstruir (BARNES et al., 1997 apud SEQUEIRA, 2010). Um material que apresenta este mesmo comportamento e é de fácil acesso é o catchup, motivo pelo qual ele pode ser usado para treinamento do uso do equipamento.

1.3. Viscosidade Sanguínea (VS)

Quando se fala em viscosidade sanguínea (VS), estamos nos referindo à adesividade do sangue (WILMORE & COSTILL, 2001). Ela é um importante determinante da resistência ao fluxo sanguíneo, bem como da perfusão tecidual (WOOD et al., 1991; REINHART, 2001).

A VS depende basicamente de quatro fatores: 1. influência do hematócrito (a viscosidade cresce exponencialmente com seu aumento), 2. influência da temperatura (variando inversamente com esta), 3. diâmetro do vaso (a viscosidade será menor quanto menor for o diâmetro do vaso), e, finalmente, 4. axialização das hemácias (tendência destas a se acumularem no eixo do tubo, de forma que se forme uma zona marginal de plasma quase sem hemácias) (OLIVEIRA et al., 2010). Este último fenômeno tem por consequência o que se denomina de “plasma skimming” (ALOAN in TAVARES et al., 1984). Além destes fatores, a viscosidade sanguínea também sofre alterações devido à plasticidade das hemácias (sua capacidade de deformar-se) e pelo grau de agregação das mesmas (REINHART, 2001; CONLEY in MOUNTCASTLE, 1978). A viscosidade do sangue total é determinada, também, pela viscosidade plasmática, sendo esta considerada como o fator mais importante ao lado do hematócrito segundo Reinhart (2001), ambas sendo reguladas pelo organismo. Níveis altos de hematócrito, por exemplo, podem ser associados à taquicardia, eventos cardiovasculares, bem como redução do transporte de oxigênio e da perfusão no músculo cardíaco (CHAN et al., 2002).

Os valores encontrados para a VS em humanos tendem a aparecer com diferenças significativas, de acordo com o sexo do indivíduo e o avançar da idade (BERNASCONI et al., 1991; GALDURÓZ et al., 1995). Também pode aparecer com alterações com o uso de substâncias - sejam elas maléficas como fumo excessivo, que tende a aumentá-la (GUDMUNDSSON & BJELLE, 1993; SHIMADA et al., 2011), ou utilizadas com finalidade de melhoria em algum aspecto, como ingestão de *Ginkgo biloba* (GALDURÓZ et al., 2007, SANTOS et al., 2003). A *Ginkgo biloba* se mostrou efetiva na redução da VS após utilização crônica de seu extrato seco, bem como na melhoria cognitiva em idosos, e no aumento da perfusão cerebral em idosos não-demenciados (SANTOS et al., 2003).

Além desses fatores, também o exercício físico parece influenciar na VS, relacionando-se também com a sua diminuição (ANTUNES, 2003). De acordo com a literatura, pode ser que o treinamento aeróbio crônico gere uma expansão do volume do plasma, o que resultaria em hemodiluição e, desse modo, a VS seria diminuída e o fluxo sanguíneo aumentaria; porém um

aprofundamento destes estudos ainda é necessário (ANTUNES, 2003). Já o treinamento resistido empregado em um estudo feito por Cassilhas (2007) com um grupo de idosos não provocou alteração significativa nos valores de VS, assim como nos de eritrócito e hematócrito, apesar da melhora na função cognitiva obtida após o treinamento. Os trabalhos sobre VS ainda são poucos e, portanto, algumas questões acerca do assunto ainda não estão esclarecidas de modo satisfatório como, por exemplo, aquelas sobre a existência de uma ritmicidade circadiana, como ela se comporta de acordo com estado nutricional, idade, nível de hidratação, variações da temperatura corporal, alterações no sono, uso de drogas e outros mais (ANTUNES, 2003).

1.3.1. Importância da Viscosidade Sanguínea

A VS é uma variável importante, que pode aparecer alterada em diversas patologias (SANDHAGEN, 1989), como isquemias (MELARAGNO FILHO, 1995; LOWE et al, 1997, FISHER & MEISELMAN, 1991), diminuição de circulação (LOWE et al., 1997), problemas vasculares (POP et al., 2002), anemias (BADA et al., 1992; BRASS et al., 1991; STEIGER & NIRKKO, 1990) e demências (WEN et al., 2000). Melaragno Filho (1995) menciona a crescente importância do fator viscosidade sanguínea nas duas décadas anteriores, em condições normais ou patológicas, ao discutir sua relevância na hemorreologia clínica e seu papel sobre a isquemia cerebrovascular, citando que aquela “se reveste de importância no estudo da fisiopatologia da circulação cerebral e, também, no tratamento”. Seja por alterações nos níveis de fatores plasmáticos ou nos níveis de elementos figurados, a VS exerce uma função na resistência cerebrovascular e pode ter influência, portanto, sobre o fluxo sanguíneo cerebral e até mesmo na tensão arterial sistêmica (MELARAGNO FILHO, 1995).

Galduróz et al., em 1995, já apresentava grande número de referências que mostraram relação entre o aumento da VS e diversas doenças cardiovasculares, além do aumento do risco de ocorrência de acidente vascular cerebral (CLOIX et al., 1983; LETCHER et al., 1983; DEVEREUX et al., 1984; CIUFETTI et al., 1986; ERNST & MATRAI, 1987; ZANNAD et al., 1988; KEATINGE et al., 1986). Fisher and Meiselman (1991) verificaram que em pacientes com isquemia cerebral aguda, a VS do sangue total foi maior que os pacientes-controle de neurologia não-vascular, e concluíram que este fato poderia ser explicado pelo leve aumento do hematócrito encontrado nestes pacientes. A mesma metodologia utilizada por Galduróz (1995) foi posteriormente utilizada em estudo com ratos idosos, e, controlando

medidas como colesterol e triglicérides, encontraram-se também resultados que sugeriam a importância desta medida (ANDERSEN et al., 2004).

A VS se mostra relacionada até mesmo a declínios cognitivos relacionados ao envelhecimento (SANTOS et al., 2003; WEN et al., 2000), o que pode ser explicado pela diminuição do fluxo sanguíneo cerebral regional, que ocorre em casos em que a VS aparece aumentada (SANTOS-GALDURÓZ et al., 2012). O fato de o fluxo sanguíneo ser prejudicado por uma alta VS já havia sido apontado por Lowe et al. (1980), ao afirmar que uma maior VS tende a reduzir o fluxo sanguíneo de acordo com a lei de Poiseuille.

Lowe et al. (1997) mostrou que, uma vez que acréscimos no hematócrito e fibrinogênio podem promover incidentes cardiovasculares (doença cardíaca isquêmica e acidentes vasculares encefálicos isquêmicos (AVEi)), a VS aumentada poderia ser o mecanismo biológico através do qual isso acontece. Mais notável ainda, verificou que a VS possui associação mais forte com AVEi do que os fatores de risco convencionais: pressão sanguínea, fumo e colesterol. Os resultados indicaram que a VS pode predizer eventos cardiovasculares em populações idosas tanto quanto colesterol LDL ou pressão sanguínea diastólica, e até mais do que o fumo. Sugere-se a partir do estudo que se tente reduzir a VS, através de redução de níveis altos de hematócrito ou de fibrinogênio do plasma sanguíneo, na prevenção destes eventos cardiovasculares.

O fibrinogênio também foi citado por Fisher e Meiselman (1991) como associado a casos de AVEi grave, provavelmente com seu aumento tendo precedido o acidente; essa conclusão provém da observação do aumento deste, sem evidência de normalização no acompanhamento dos pacientes.

A VS também parece estar associada à maior suscetibilidade à isquemia cerebral que ocorre em pacientes que sofrem de apnéia obstrutiva do sono: nestes, foi verificado o aumento da VS na parte da manhã, o que não foi observado nos controles saudáveis (NOBILI et al., 2000). Os autores sugerem que este pode ser o mecanismo que relaciona ambas.

A VS total pode ser, portanto, um importante adjuvante em diagnóstico e prevenção.

1.4. Mensuração da Viscosidade Sanguínea

Pelo fato de o sangue ser um fluido não-newtoniano, não se pode expressar sua viscosidade em termos absolutos sem que sejam levadas em conta as condições em que a mensuração é feita (CONLEY in MOUNTCASTLE, 1978).

Para a mensuração da viscosidade do sangue, além da temperatura, um fator importante a levar em conta é o tempo da amostra de sangue no viscosímetro. A amostra está sendo submetida à força de cisalhamento e acaba tendo sua viscosidade modificada conforme o passar do tempo (EGUCHI & KARINO, 2008), não só pela sua característica tixotrópica, mas também pelo atrito com o sensor cônico de cisalhamento (*spindle*), que com o passar do tempo leva ao rompimento dos elementos figurados do sangue. Outro fator de relevância a ser observado é o tempo decorrido entre a coleta e a mensuração da VS, uma vez que este também produz alteração (FORESTO et al., 1999). Alguns estudos pilotos realizados por nosso grupo de pesquisa (Fig. 5 – A e B) corroboram com a afirmação feita por Foresto et al. (1999), apontando a variação que ocorre conforme o tempo decorrido pós-coleta até o momento da medição.

Gráfico A

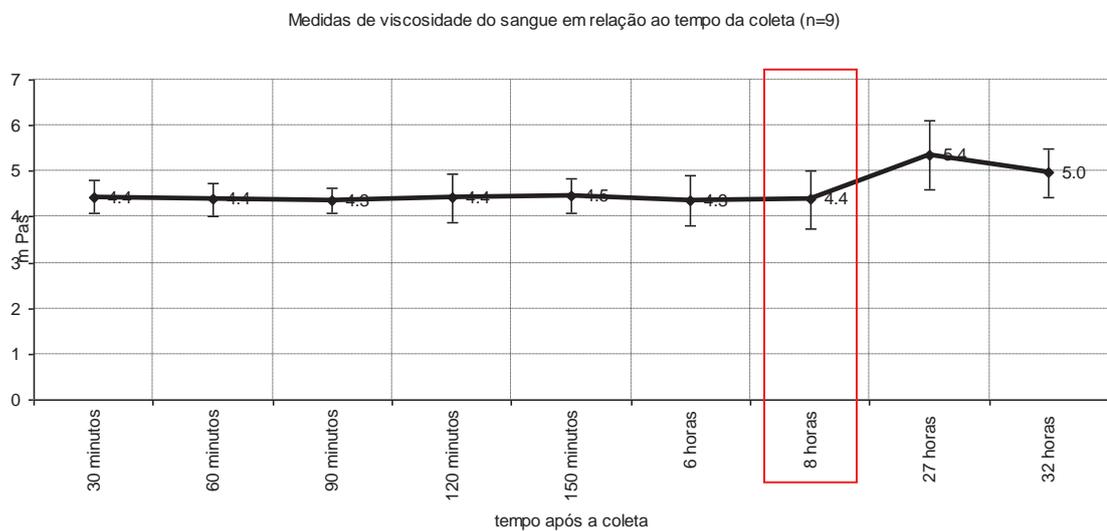


Gráfico B

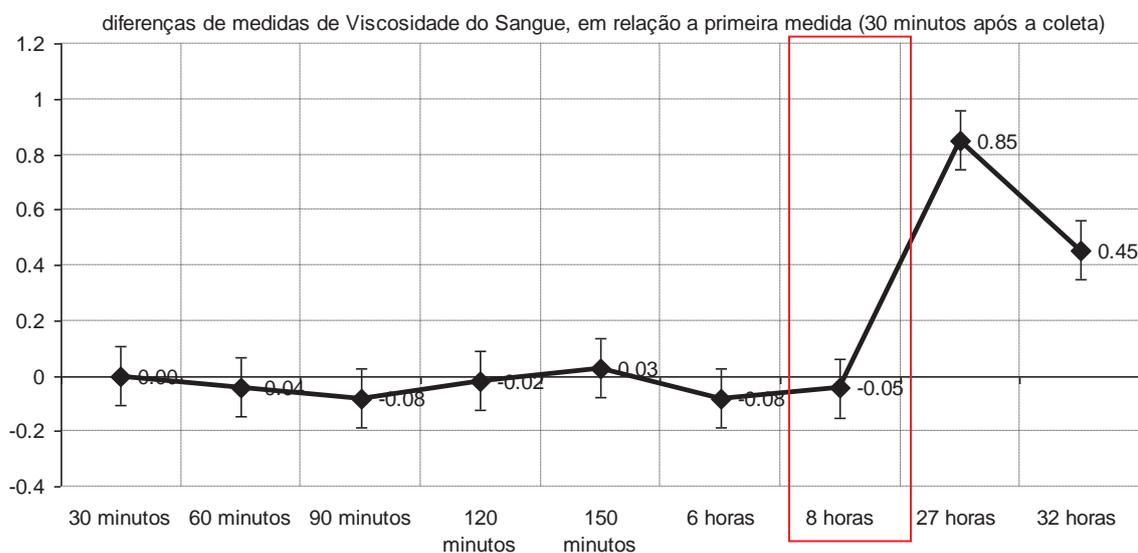


Figura 5: Variação dos valores de VS de amostras de sangue humano em tempos sucessivos pós-coleta, comparados à primeira medição (feita entre 0 e 30 minutos após a coleta). Foram avaliadas 9 amostras. Os valores em mPa.s obtidos das amostras estão indicados no **Gráfico A**, enquanto no **Gráfico B** estão indicadas as diferenças entre o valor encontrado no tempo indicado e o valor encontrado entre 0 e 30 minutos da coleta (primeira medição), assumido como referência. Até 8 horas (medidas destacadas em ambos os gráficos), a variação é aceitável, não significativa ($p \geq 0,9$); porém, após 27 horas, as amostras passam a apresentar uma variação significativa em relação à primeira medida ($p \leq 0,042$ e $p \leq 0,049$, para 27 e 32 horas respectivamente), sugerindo que mais estudos sejam feitos nesse sentido para testar o tempo máximo de viabilidade das amostras para avaliação da VS do sangue total.

A prática médica carece ainda de um método simples e clinicamente prático para verificação desta medida, bem como, se faz necessário à obtenção de valores de referência (SANDHAGEN, 1989; TRAVAGLI et al., 2007), o que pode justificar o porquê desta medida ser ainda subutilizada (TRAVAGLI et al., 2007). Rosencranz e Bogen (2006) citam a “surpreendente escassez de informação sobre técnicas práticas automatizadas ou semi-automatizadas para mensuração da viscosidade sanguínea na clínica laboratorial”. Apontam que nas últimas duas décadas, nenhum artigo de revisão em instrumentação para a mensuração da viscosidade foi encontrado, existindo nos livros-texto de técnicas laboratoriais somente uma visão por alto sobre o assunto, com enfoque em antigos métodos manuais, como os que realizam a viscometria por capilaridade. Também consideram surpreendente o pouco que existe sobre terminologia básica em viscosidade e considerações analíticas sobre a medição da VS, sérica e plasmática na literatura.

Os três tipos de reômetros mais comumente utilizados para mensuração da viscosidade sanguínea são, além dos referidos reômetros de capilaridade, os reômetros de cilindros concêntricos (Couette) e os reômetros de cone-e-prato (*cone/plate*) (SEQUEIRA, 2010) – este último tendo sido o tipo utilizado no presente estudo. Este tipo de reômetro consiste em um sistema rotatório que permite medir a viscosidade absoluta de fluidos - a resistência do fluido da amostra, quando submetido à rotação do sensor cônico, gera uma medida proporcional à viscosidade do fluido, dada em cP (centiPoise), pelo sistema CGS de unidades, ou em mPa.s (miliPascal-segundos), no Sistema Internacional (SI) (ANTUNES, 2003). Esse sistema rotacional é suspenso por uma mola, e o sensor cônico rotacionado registra a força perpendicular ao eixo de rotação que é efetivamente utilizada para fazê-lo girar, ou seja, o **torque**. Esta medida de torque é o que reflete a viscosidade do fluido da amostra (ROSENCRAZ & BOGEN, 2006).

O uso de viscosímetro rotacional com sistema cone/prato (*cone/plate*) apresenta a vantagem de poder utilizar-se o sangue total, ao invés de somente o plasma (de modo a desprezar as hemácias), como fazem outros métodos de medição de viscosidade (GALDURÓZ et al., 1995).

Para a população brasileira, foi realizado um estudo em 1995, por Galduróz et al., para que fossem verificados os valores encontrados na medida da viscosidade sanguínea de acordo com as variáveis: sexo e idade. Estes estudos originaram-se a partir da prática clínica, onde se recebia a informação verbal dos pacientes sobre o envelhecimento e o sangue que “fica mais grosso”. Porém, o equipamento utilizado nesta primeira etapa de estudos era de baixa precisão quanto ao controle da temperatura, fator importante de interferência nesta medida. Atualmente, já existem equipamentos, como o utilizado no presente trabalho, que possibilitam grande controle da temperatura no local onde está o material a ser verificado, aumentando o controle dos fatores de interferência.

Entretanto, faz-se necessário padronizar os procedimentos e condições do processo de medição, para que os valores encontrados em pacientes possam ser comparados de forma efetiva a valores de referência (a serem determinados futuramente a partir desta técnica). O uso do sangue total apresenta a vantagem de não ser necessário outro equipamento para tratamento prévio da amostra a ser analisada.

Para que o protocolo específico para o uso deste equipamento possa ser estudado e determinado, levando em conta todos os fatores de variação já citados, é necessária uma investigação preliminar sobre qual a quantidade de amostra possível de ser utilizada para a medição. Como já foi dito, existe uma carência grande de detalhamento da técnica para

mensuração da VS. Existem poucas especificações da quantidade de material utilizado para tanto na literatura. Para medições em viscosímetro rotacional de baixo cisalhamento 30 Couette (Contraves AG, Zurique, Suíça), com sistema 1-1 couette pêndulo-e-copo, Sandhagen (1989) utilizou a quantidade de 700 μ l para cada análise. Para viscosímetro cone/prato RVDV-III, porém, não foi ainda avaliada de forma sistemática a quantidade ideal de amostra a ser utilizada, levando em conta tanto a confiabilidade e repetibilidade dos resultados, como também o uso de uma menor quantidade de material. A avaliação da quantidade mínima necessária configura o primeiro passo para que se estabeleça um protocolo adequado, tornando possíveis as investigações consequentes sobre os demais fatores de variação.

2. OBJETIVO

O objetivo, portanto, foi determinar a quantidade mínima necessária de sangue para obtenção da medida de VS utilizando viscosímetro digital programável Brookfield RVDV-III Ultra, sem que haja variação, visando medidas confiáveis e reprodutíveis, com o objetivo não apenas de pesquisa, mas, sobretudo de atender à prática médica.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Local de realização do estudo

O estudo foi conduzido em laboratório da Universidade Federal do ABC – Unidade Atlântica, em Santo André, SP, com controle de temperatura ambiente por sistema de ar-condicionado, mantida a aproximadamente 25°C.

3.2. Coleta de sangue

Foram coletadas 20 amostras de sangue de voluntários saudáveis, com idades entre 18 e 60 anos. As amostras foram obtidas através de punção periférica da veia do antebraço, por profissional habilitado, no próprio laboratório. Não foram feitos controle de ingestão de alimentos ou substâncias, nem controle sobre o horário de coleta. Neste estudo buscou-se verificar se os valores da VS de uma mesma amostra se mantêm, ou aparece alterado, devido à quantidade utilizada para realizar a mensuração. Sendo assim, cada uma destas 20 amostras foi dividida em nove sub-amostras (de 600µl, 550µl, 500µl, 450µl, 400µl, 350µl, 300µl, 250µl e 200µl). É importante ressaltar, ainda, que cada um destes conjuntos de nove amostras pertencia a uma **mesma** amostra inicial. Foram realizadas, portanto, um total de aproximadamente 180 medições.

De acordo com o Comitê de Ética, um termo de consentimento escrito (ANEXO A) foi obtido de todos os doadores, após terem sido fornecidas as informações de todos os procedimentos do estudo, de seus riscos (incluindo possíveis desconfortos causados pela coleta sanguínea) e benefícios, e após todas as dúvidas dos participantes terem sido sanadas.

Quando a veia do voluntário foi difícil de ser identificada pela enfermeira, ou este apresentou qualquer desconforto com relação à coleta, a mesma não foi realizada.

A aplicação de um torniquete foi realizada levemente, e apenas por um tempo mínimo, sendo retirado poucos segundos após a colocação.

As amostras foram coletadas em tubos do tipo vacutainer de 4,0 ml com EDTA 0,1% (BD Vacutainer® K2 EDTA (K2E) 7.2mg, BD, Franklin Lakes, NJ, USA), um anticoagulante adequado por não alterar a viscosidade do sangue (RAND et al., 1964; ROSENBLATT et al., 1965). Foram coletadas 2 a 3 tubos de sangue por amostra.

Imediatamente após a coleta, o material foi homogeneizado, sendo invertido cerca de 10 vezes, e acondicionado em banho térmico entre 37,0°C e 37,2°C.

3.3. Instrumentos

- Papéis (comuns de secar as mãos)
- Pipeta 200 μ l – 1000 μ l
- Ponteiras 1000 μ l
- Béquer para água
- Pisseta contendo álcool etílico hidratado 70° INPM

3.4. Equipamentos

Foram utilizados para a medição da VS: um viscosímetro digital rotacional cone/prato (*cone/plate*) com sensor cônico de cisalhamento (*spindle*), e um banho termostático, acoplado ao primeiro (Fig. 6). Ambos são detalhados a seguir.



Figura 6: Equipamentos utilizados: banho termostático (à esq.) e viscosímetro rotacional (à dir.). O conjunto de equipamentos utilizado no presente trabalho foi, unicamente, o de número de série 8541603, que está localizado e registrado como patrimônio da Universidade Federal do ABC – UFABC, em São Paulo, sob o número 043491.

3.4.1. Viscosímetro

Foi utilizado o Viscosímetro Digital Programável RVDV-III Ultra (Brookfield Engineering Labs. Inc., Soughton, MA, USA), com sistema rotacional, do tipo cone/prato.

Dentre os viscosímetros existentes da marca Brookfield (Brookfield Engineering Laboratories/USA), foi selecionado um modelo da série adequada à faixa de viscosidade do sangue total. Existem quatro séries de viscosímetros disponíveis deste mesmo fabricante: LV (*Low Viscosity*), RV (*Regular Viscosity*), HA (*High Viscosity A*) e HB (*High Viscosity B*). Cada uma foi desenvolvida para medir uma determinada amplitude de valores de viscosidade; é importante citar que os resultados de viscosidade obtidos com o equipamento de um modelo (e sensor) não podem ser comparados àqueles obtidos com modelos distintos, pois a mesma substância terá sido medida em condições diferentes de cisalhamento. Portanto, para que se possa comparar resultados de pesquisas científicas na área de viscosidade sanguínea, deve-se atentar ao modelo do equipamento utilizado, bem como o sensor de cisalhamento correspondente, que devem ser os mesmos e adequados ao material em questão (COMUNICAÇÃO BRASEQ, 2011).

Descrição detalhada do equipamento utilizado no estudo:

Reômetro tipo giratório com mola de torção, versão cone/prato Wells/Brookfield, digital, microprocessado, programável, de bancada, modelo RVDV-III+CP, para medição de viscosidade absoluta e propriedades reológicas de fluidos newtonianos e não-newtonianos, com pequenas quantidades de amostras. Modelo com sensor de temperatura tipo RTD para medir a temperatura na faixa de $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $+300\text{ }^{\circ}\text{C}$, com precisão de $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ na faixa de -100 a $+149\text{ }^{\circ}\text{C}$ e de $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ na faixa de 150 a $300\text{ }^{\circ}\text{C}$. Possui 2600 diferentes velocidades de operação entre 0,01 e 250 rpm, selecionável em incrementos de 0,01 rpm na faixa de 0,01 até 1 rpm; e em incrementos de 0,1 rpm na faixa de 1 a 250 rpm, copo do tipo CPE-44Y com conexões para banho termostático externo. Faixa de medição de 1 a 983.000 mPa.s (cP).

Efetua sensoramento e leitura contínua de dados de medição. Escala de leitura de 0 a 100% de torque e diretamente de viscosidade em mPa.s ou cP (a selecionar). Tampa frontal com teclado de membrana com 20 teclas e visor do tipo LED, de alto brilho, com quatro linhas, que permite a leitura simultânea da viscosidade, da % torque, da temperatura em $^{\circ}\text{C}$ ou $^{\circ}\text{F}$ (a selecionar), da velocidade e/ou do cone selecionados, da taxa e/ou tensão de cisalhamento e do programa que está sendo executado. Possui ainda tecla para ligar/desligar o

motor, tecla “auto-range” que permite escolher a faixa de trabalho em função da velocidade e cone escolhidos, onze teclas alfanuméricas para permitir a entrada de dados e mais sete teclas com funções diversas. Mola de torção com torque de 7.187 dina.cm. É um equipamento que pode ser operado sem necessidade de qualquer controle externo ou pode ser conectado a um computador para controle totalmente automático.

Além disso, possui memória para armazenamento de dados e sistema de trava que impede alterações inadvertidas nos programas. Funções programáveis embutidas de tempo para torque e tempo para parada e indicação de leituras acima ou abaixo das faixas limite de trabalho. Saídas RS-232 serial bi-direcional para conexão a computador, analógicas para conexão a registrador gráfico, de 0 a 1 VCC para o torque e de 0 a 4 VCC para a temperatura, e paralela para impressora.

O equipamento vem com o software RheoLoader que permite descarregar na memória do reômetro programas desenvolvidos externamente. Pode ainda utilizar o software Rheocalc para funcionamento totalmente automático do reômetro através do computador. Equipamento robusto, silencioso, de fácil utilização e alta precisão, de $\pm 1\%$ da faixa de trabalho, com repetibilidade de $\pm 0,2\%$. Possui nível de bolha para o nivelamento do equipamento. Vem acompanhado de um suporte em forma retangular, com dois pés de altura regulável para ajuste do nível e com a fonte de alimentação embutida. O suporte possui uma haste com cremalheira, ao qual o reômetro é fixado, permitindo a movimentação do equipamento no sentido vertical. Pode operar na rede elétrica de 110 ou 220 VAC, 60 Hz. Marca Brookfield Engineering Laboratories / USA. (MANUAL DE INSTRUÇÕES DE OPERAÇÃO)

- Sensor cônico de cisalhamento (*spindle*) (Fig. 7)



Figura 7. Sensor cônico de cisalhamento (*spindle*). O modelo utilizado no estudo foi o CP40.

Haste tipo cone CPE-40, compatível com todos os modelos de viscosímetros cone e prato tipo Wells-Brookfield das séries DV-I+CP, DV-II+ProCP e reômetros da série DV-III+CP. Em aço inoxidável # 304, tem D de 0,8 °, raio de 2,4 cm, taxa de cisalhamento de 7,5N s-1

(N= rpm). Marca Brookfield Engineering Laboratories/USA. (MANUAL DE INSTRUÇÕES DE OPERAÇÃO)

3.4.2. Banho Termostático

O banho termostático utilizado foi o de modelo TC-602D, de circulação interna com agitação. Sua parte interna foi utilizada para manutenção de temperatura das amostras dentro dos tubos de coleta.

O banho termostático funciona em conjunto com o viscosímetro, conectado a este último por duas mangueiras de látex, através das quais flui a água até a cuba de medição (sistema de circulação externa em circuito fechado). Através deste sistema, é realizada a manutenção da temperatura da amostra a ser avaliada. Isso implica que a temperatura da cuba tenha, obrigatoriamente, o mesmo ajuste da temperatura do banho termostático, sendo que foi constantemente observada uma perda de calor de aproximadamente $0,2^{\circ}\text{C}$ na passagem da água do banho para a cuba.

Exemplo: se o banho termostático estiver ajustado para $37,0^{\circ}\text{C}$, a temperatura máxima que a amostra dentro da cuba alcançará será de $36,8^{\circ}\text{C}$. Esta perda depende, obviamente, da temperatura da sala; a referida perda de $0,2^{\circ}\text{C}$ foi observada à temperatura ambiente do laboratório, controlada por ar-condicionado em aproximadamente 25°C .

Descrição detalhada do equipamento utilizado no estudo:

Banho termostático de circulação, digital, microprocessado, modelo TC-602D, para ser utilizado em conjunto com viscosímetro/reômetro, seja através da colocação da amostra dentro do banho, utilizando a sua circulação interna com agitação, seja conectando-o a ao viscosímetro, através da circulação externa em circuito fechado. Controle de temperatura na faixa de -20°C até $+150^{\circ}\text{C}$, com estabilidade de $\pm 0,05^{\circ}\text{C}$ e com leitura de $0,5^{\circ}\text{C}$, permitindo tanto aquecimento como refrigeração. O mostrador tipo LED permite a leitura da temperatura em tempo real e/ou da temperatura programada em $^{\circ}\text{C}$ ou $^{\circ}\text{F}$. Possibilidade de pré-fixar 3 diferentes temperaturas de trabalho, com limite máximo de temperatura ajustável.

A bomba de circulação tem 2 velocidades, selecionáveis de 9 ou 15 l/m. Reservatório com capacidade de 6 litros e plataforma interna de suporte para 1 béquer de 600 ml ou similar, ou uma estante para 18 tubos. Dispõe de dispositivo de proteção de sobre temperatura e dispositivo de proteção de nível baixo de líquido. Dimensões externas de 40 x 21 x 58 cm (P

x L x A). Tampa superior inteiriça. 110 VAC, 60 Hz. Marca Brookfield Engineering Laboratories/USA. (MANUAL DE INSTRUÇÕES DE OPERAÇÃO)

- Padronização do viscosímetro

Sandhagen (1989) realizou, diariamente, análise de água pura degaseificada para padronização do viscosímetro, por ter viscosidade conhecida a 37°C (0,695 mPa.s) (FOLKOW & NEIL, 1971 apud SANDHAGEN, 1989) - ou 0,895 mPa.s, a 25°C (FISHER e MEISELMAN, 1991). Optamos, porém, durante os procedimentos do presente estudo, por realizar aferições periódicas (antes de cada série completa de 5 amostras, ou mais frequentemente, quando foi julgado necessário), com os fluidos-padrão fornecidos pelo fabricante (viscosidades 4,7 cP e 49,4 cP a 25°C) juntamente com o equipamento, para verificar a calibração do instrumento. Quando a leitura da medição dos mesmos não era condizente com a viscosidade esperada indicada na embalagem, à temperatura especificada, um técnico foi solicitado, e quando o problema não pode ser solucionado pelo mesmo, o equipamento foi enviado à representante no Brasil (BrasEq Brasileira de Equipamentos Ltda.).

Também foi verificada periodicamente a centralização do nível de bolha, na parte superior do equipamento, para garantir o nivelamento correto do mesmo.

3.5. Mensuração da Viscosidade Sanguínea

Os tubos a serem analisados foram mantidos durante todo o tempo à temperatura entre 37°C e 37,2°C, em banho termostático, exceto durante o procedimento de manuseio para a medição. A realização da medida se deu com temperatura controlada na cuba do viscosímetro, entre 36,5°C e 37,0°C.

Foram realizadas medidas com 600µl, 550µl, 500µl, 450µl, 400µl, 350µl, 300µl, 250µl e 200µl de material, para cada uma das 20 amostras.

O esquema geral de trabalho está ilustrado na Figura 8. A ordem da quantidade utilizada para medição foi escolhida aleatoriamente, de forma que a influência da passagem do tempo entre a coleta e a medição não prejudicasse a verificação da influência da quantidade de amostra utilizada. Todas as medições foram realizadas a 30 rotações por minuto (taxa de cisalhamento de 225 s⁻¹).

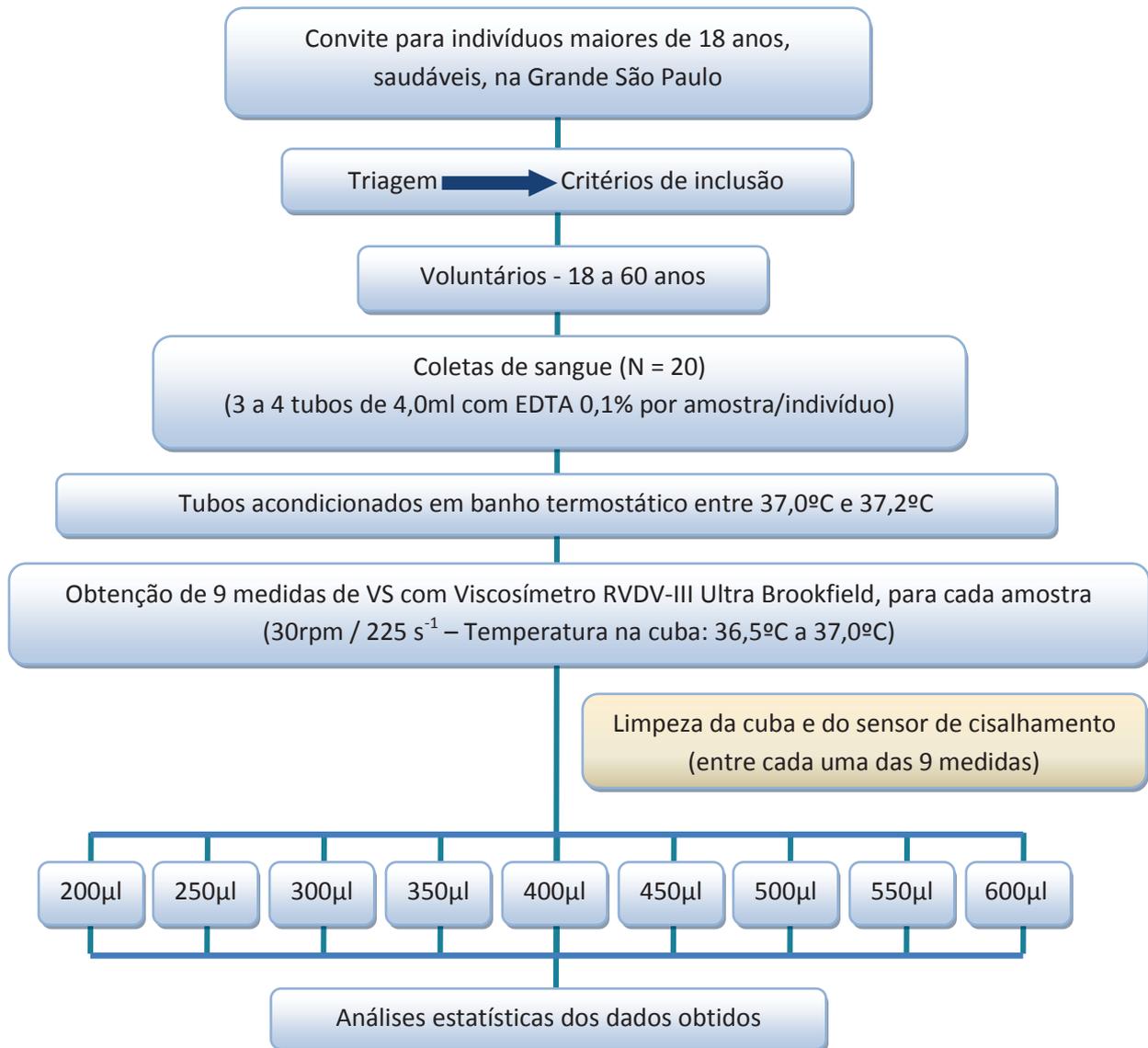


Figura 8: Esquema de trabalho desde o convite a voluntários até a obtenção e análise dos dados. Inicialmente, as amostras de sangue foram obtidas apenas da pesquisadora responsável pelo estudo (orientadora), depois, outros voluntários foram convidados.

Entre cada medição, foi realizada uma limpeza meticulosa da cuba e do sensor cônico, com papel embebido em água, depois papel seco e por fim papel embebido em álcool etílico hidratado 70° INPM, sem remoção do sensor cônico.

Foram anotados para cada amostra: temperatura na cuba (°C), viscosidade (dada em cP pelo equipamento; o valor é equivalente em mPa.s), torque (%), tempo entre coleta e medição

(min) e se ocorreu oscilação excessiva do valor mostrado pelo equipamento. As medições em que este último caso ocorreu foram desconsideradas.

3.6. Resíduos

A maior parte do material utilizado na coleta e na análise se enquadra, de forma geral, no subgrupo A1 de Resíduos Biológicos - Grupo A, segundo a classificação de resíduos baseada nas resoluções ANVISA 306/04 e CONAMA 358/05, por serem “resíduos com a possível presença de agentes biológicos que, por suas características, podem apresentar risco de infecção” (BRASIL, Ministério da Saúde, 2011).

Assim, os papéis utilizados para limpeza da cuba, bem como as ponteiros de pipetas utilizadas para manipulação da amostra, foram devidamente descartados em saco plástico branco leitoso com símbolo de infectante e com características definidas pela NBR 9191/2000, da ABNT. As agulhas utilizadas para coleta, assim como os tubos vacutainer com as sobras de amostra, foram descartadas em coletor para resíduo perfuro cortante de papelão rígido e plástico rígido, com características descritas na NBR/ABNT 13.853/97.

3.7. Análise estatística

Para a escolha das análises estatísticas, primeiramente, foi testada a normalidade dos dados. Assim, inicialmente, os resultados foram analisados por meio da estatística descritiva (média \pm desvio padrão (dp), ou mediana e amplitude). Para as medidas repetidas foi utilizado ANOVA de uma via para medidas repetidas. As correlações de *Spearman* foram utilizadas para as relações entre variáveis. O software utilizado para a análise foi o Statistica 10.0 (StatSoft, Inc. (2011). STATISTICA (data analysis software system), version 10), e o nível de significância adotado de 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

A quantidade de sangue necessária à medida da VS utilizando o Viscosímetro Digital Programável Brookfield RVDV-III Ultra foi avaliada. Os resultados obtidos são apresentados a seguir.

Na Tabela 1 são apresentadas as médias \pm dp das medidas obtidas com diferentes quantidades de material, tendo-se estabelecido como valor de controle de qualidade das medidas com diferentes quantidades, quando comparadas entre si, o valor máximo aceitável de 0,2 mPa.s, bem como, por análise da comparação das medidas o valor de $p < 0,05$.

Grupo de medida	Viscosidade		N
	Média	dp	
600 μ l	4,27	0,13	19
550 μ l	4,26	0,12	20
500 μ l	4,31	0,13	19
450 μ l	4,28	0,12	20
400 μ l	4,27	0,13	18
350 μ l	4,21	0,13	19
300 μ l	4,31	0,13	19
250 μ l	4,27	0,13	19
200 μ l	4,12	0,13	18

Tabela 1. Demonstrativo das médias, medida de variação (dp) e quantidade de amostras em cada medida.

Na Figura 9 são apresentadas às médias \pm dp das medidas obtidas com diferentes quantidades de material, quando comparadas entre si.

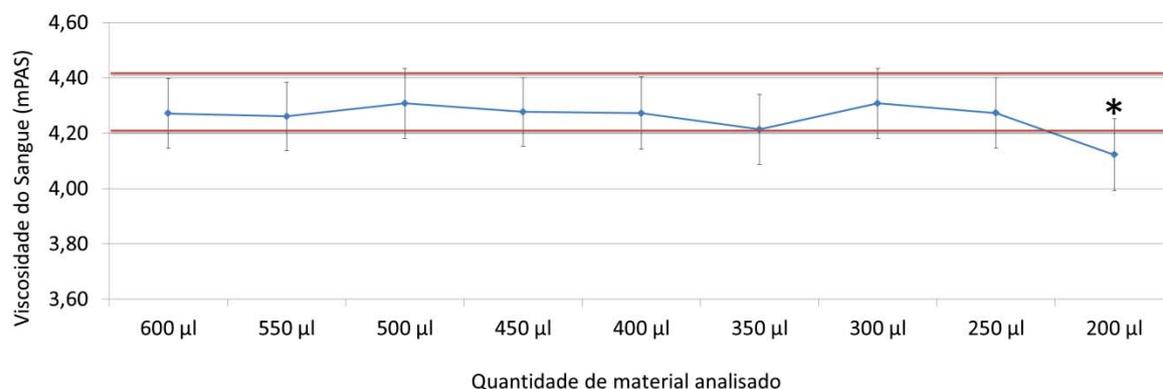


Figura 9. Demonstrativo das médias \pm dp das medidas realizadas com diferentes quantidades. Utilizando 200 μ l, foi observada uma diferença estatisticamente significativa com relação às demais.

Na tabela 2 são apresentadas às médias \pm dp das medidas obtidas com diferentes quantidades de material, e o resultado da análise comparativa das medidas. Foram observadas diferenças significativas quando comparada a quantidade de **200 μ l**, com todas as demais quantidades $p < 0,001$. Também na quantidade de 350 μ l observou-se diferença significativa entre esta e as quantidades de 500 μ l e 300 μ l.

Medida 1 x Medida 2	p
600 μ l X 550 μ l	0,8041
600 μ l X 500 μ l	0,3493
600 μ l X 450 μ l	0,8041
600 μ l X 400 μ l	1,0000
600 μ l X 350 μ l	0,1635
600 μ l X 300 μ l	0,3493
600 μ l X 250 μ l	1,0000
600 μl X 200 μl	0,0013
550 μ l X 500 μ l	0,2195
550 μ l X 450 μ l	0,6012
550 μ l X 400 μ l	0,8066
550 μ l X 350 μ l	0,2256

550 µl X 300 µl	0,2195
550 µl X 250 µl	0,8041
550 µl X 200 µl	0,0014
500 µl X 450 µl	0,4341
500 µl X 400 µl	0,3305
500 µl X 350 µl	0,0171
500 µl X 300 µl	1,0000
500 µl X 250 µl	0,3242
500 µl X 200 µl	0,3431
450 µl X 400 µl	0,3560
450 µl X 350 µl	0,8870
450 µl X 300 µl	0,4584
450 µl X 250 µl	0,8041
450 µl X 200 µl	0,0004
400 µl X 350 µl	0,1533
400 µl X 300 µl	0,3493
400 µl X 250 µl	1,0000
400 µl X 200 µl	0,0013
350 µl X 300 µl	0,0232
350 µl X 250 µl	0,1635
350 µl X 200 µl	0,0426
300 µl X 250 µl	0,3493
300 µl X 200 µl	0,0001
250 µl X 200 µl	0,0013

Tabela 2. Demonstrativo das análises comparativas entre os resultados obtidos com diferentes quantidades de sangue utilizados para a mensuração.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados das correlações entre os parâmetros: temperatura, torque, viscosidade do sangue e tempo corrido entre a coleta do material e a análise. Não foram observadas correlações significativas.

Medida	Média	dp	Temper.	Torque	VS	Tempo
Temperatura	36,72	0,06	---	-0,11	-0,10	0,00
Torque	3,90	0,47	-0,11	--	0,98	0,19
VS	--	--	-0,10	--	--	0,15
Tempo	181	88	0,00	--	--	--

Tabela 3. Demonstrativo das médias \pm dp da temperatura, torque e tempo (minutos) corrido entre a coleta de material e a realização da medida, bem como os valores de “r”. Não há correlação entre os parâmetros controlados.

5. DISCUSSÃO

Considerando o valor estabelecido de oscilação aceitável de 0,2 mPa.s, apenas a média das medidas obtidas com 200 μ l de amostra não é considerada válida, por corresponder a uma variação maior do que a determinada, sendo aceitáveis, portanto, as medidas obtidas com amostras de 250 μ l a 600 μ l.

Na análise comparativa entre as medidas obtidas com diferentes quantidades de material (Tabela 2 e Figura 9), a quantidade de 200 μ l apresentou diferenças significativas quando comparada com todas as demais quantidades ($p < 0,001$). Isso mostra que com essa quantidade, não é possível obter resultados confiáveis, pois existe alteração nos valores de VS obtidos relacionada à quantidade de material utilizado. A quantidade de 350 μ l mostrou, também, diferenças significativas quando comparadas com as quantidades de 500 μ l e 300 μ l, devendo estas diferenças serem estudadas através da realização de novas medidas com esta quantidade de material. Considerando a menor quantidade, bem como, que estivesse dentro da faixa de variação aceitável de 0,2 mPa.s, e a qual não apresentasse diferença significativa quando comparadas as demais ($p > 0,05$), foi verificada a quantidade de **250 μ l** como a possivelmente mais eficiente, considerando os fatores quantidade de material necessário e resultado. Este resultado fica ainda mais expressivo ao ser comparado com os registros da literatura, a exemplo de Sandhagen (1989), que utilizou 700 μ l de amostra para fazer a mesma avaliação.

Fazendo a correlação entre os parâmetros temperatura, torque, viscosidade do sangue e tempo decorrido entre a coleta do material e a mensuração (Tabela 3), pode-se notar a forte relação entre a viscosidade e o torque, visto o princípio de funcionamento do aparelho, que mede exatamente esta força sobre o sensor para traduzi-la em um valor de viscosidade. Considerando o fator temperatura, era de fato esperado que esta não se correlacionasse com a viscosidade ou torque, uma vez que ela foi rigorosamente controlada e mantida sempre na faixa de temperatura entre 36,5°C e 37,0°C, e, portanto, não fosse causa de alterações na VS. A temperatura também não se correlacionou com o tempo decorrido entre a coleta e a medição, uma vez que foi mantida praticamente constante.

O tempo decorrido também não se mostrou um interferente nos valores da VS, uma vez que foi tomado o cuidado de intercalar as quantidades no momento da medição, medindo-as em ordem aleatória dentro da série de uma mesma amostra, para que algumas quantidades não fossem sempre aquelas com menor tempo decorrido, e outras com o maior. Essa correlação, de acordo com os princípios apresentados anteriormente, parece existir (figura 5), e será verificado em um próximo estudo.

Um aspecto que deve ser ressaltado é a influência da limpeza adequada do equipamento nos valores obtidos. A limpeza da cuba deve ser meticulosa após cada medição, incluindo a rosca que a conecta ao equipamento, pois até mesmo o menor resquício de amostra nesta área pode interferir no fechamento, aumentando o espaçamento entre o sensor de cisalhamento e a cuba. A exatidão deste espaçamento, definido pelo ajuste de “gap” que é feito manualmente todas as vezes que o sensor de cisalhamento é removido e reconectado, é essencial para que a leitura feita pelo sistema do viscosímetro seja feita corretamente.

6. CONCLUSÃO

Com o Viscosímetro Digital Brookfield DV-III ® é possível realizar medições, com segurança de resultados, com a quantidade mínima de amostra sanguínea de **250µl** para obtenção do valor da VS, bem como, é possível ainda ter grande controle sobre a oscilação da temperatura.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALOAN, L. Árvore circulatória, dinâmica circulatória e pressão arterial. In: TAVARES, P.; FURTADO, M.; SANTOS, F. **Fisiologia Humana**. São Paulo: Atheneu, 1984.

ANDERSEN, M.L.; MARTINS, P.J.F.; D'ALMEIDA, V.; SANTOS-GALDURÓZ, R.F. (SANTOS, R.F.); BIGNOTTO, M.; TUFIK, S. Effects of paradoxical sleep deprivation on blood parameters associated with cardiovascular risk in aged rats. **Experimental Gerontology**, n. 39, p. 817-824, 2004.

ANTUNES, H.K.M. **A influência do exercício físico aeróbio em funções cognitivas e viscosidade do sangue em idosos normais**. 2003. 119p. Dissertação (Mestrado em Psicobiologia) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2003.

BADA, H. S.; KORONES, S.B.; POURCYROUS, M.; WONG, S.P.; WILSON, W. M.; FORD, D.L. Asymptomatic syndrome of polycythemic hyperviscosity: effect of partial exchange transfusion. **The Journal of Pediatrics**, n. 579, p. 385, 1992.

BERNASCONI, C.; DEL SANTO, A.; MARRALI, F.; LAFFRANCHI, M.; MILANI, S.; AGOSTINI, A. Reference limits for blood viscosity: influence of sex and age. **Clinical Hemorheology**, v. 11, p. 447-457, 1991.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Hematologia e hemoterapia: guia de manejo de resíduos. **Série A. Normas e Manuais Técnicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 236 p. : il., 2011.

BRASS, L. M.; PROHOVNIK, I.; PAVLAKIS, S.G.; DE VIVO, D.C.; PIONELLI, S.; MOHR, J.P. Middle cerebral artery blood velocity and cerebral blood flow in sickle cell disease. **Stroke**, n. 22, p. 27-30, 1991.

CARVALHO, J.A.A.; OLIVEIRA, T.T. Mecânica dos fluidos aplicada a escoamento do sangue na microcirculação. In: **POSMEC - Simpósio de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, 16º**, 2006, Uberlândia.

CASSILHAS, R. C. **O impacto do exercício físico resistido na função cognitiva dos idosos**. 2007. 50 f. Dissertação (Mestrado em Psicobiologia) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2007.

CHAN, J.; KNUSTSEN, S.F.; BLIX, G.G.; LEE, J.W.; FRASER, G.E. Water, other fluids, and fatal coronary heart disease. **American Journal of Epidemiology**, n. 155, v. 9, p. 827-834, 2002.

COMUNICAÇÃO BRASEQ. Diferença entre modelos de viscosímetros Brookfield. Jarinu: Braseq Ltda., 2011. Disponível em: <<http://braseq.blogspot.com.br/2011/09/diferenca-entre-modelos-de.html>>. Acesso em: 04 mai. 2012.

CONLEY, C. L. O sangue. In: MOUNTCASTLE, V.B. **Fisiologia Médica**. 13ª ed. [S.l.]: Guanabara-Koogan, 1978.

EGUCHI, Y.; KARINO, T. Measurement of rheologic property of blood by a falling-ball blood viscometer. **Annals of biomedical engineering**, v. 36, n. 4, p. 545-553, 2008.

FISHER, M.; MEISELMAN, H.J. Hemorheological factors in cerebral ischemia. **Stroke**, v. 22, p. 1164-9, 1991.

FORESTO, P.; RIQUELME, B.; D'ARRIGO, M.; VALVERDE, J.; RASIA, R. Estudio de las propiedades reológicas de la sangre durante la conservación. **Revista Argentina de Transfusión**, v. 25, n.2, p. 103-110, 1999.

GALDURÓZ, J.C.F.; SANTOS, R.F.; CARLINI, E.A. Os efeitos da idade e sexo sobre viscosidade sanguínea em voluntários normais. **Temas**, v. 25, n. 50, p. 159-166, 1995.

GALDURÓZ, J.C.F.; ANTUNES, H.K.; SANTOS, R.F. Gender- and age-related variations in blood viscosity in normal volunteers: a study of the effects of extract of *Allium sativum* and *Ginkgo biloba*. **Phytomedicine**, v. 14, n. 7-8, p. 447-451, 2007.

GUDMUNDSSON, M.; BJELLE, A. Plasma, serum and whole-blood viscosity: variations with age, sex, and smoking Habits. **Angiology**, v. 44, n. 5, p. 384-391, 1993.

LERNER, B. R. **Introdução ao Estudo da Fisiologia Humana**. São Paulo: Edart, 1974.

LOWE, G.D.O.; LEE, A.J.; RUMLEY, A.; PRICE, J.F.; FOWKES, F.G.R. Blood viscosity and risk of cardiovascular events: the Edinburgh Artery Study. **British Journal of Haematology**, n. 96, p. 168-173, 1997.

LOWE, G.D.O.; DRUMMOND, M.M.; LORIMER, A.R.; HUTTON, I.; FORBES, C.D.; PRENTICE, C.R. Relation between extent of coronary artery disease and blood viscosity. **British Medical Journal**, n. 280, p. 673-674, 1980.

LOWE, M.J., PHILLIPS, M.D., LURITO, J.T., MATTSON, D., DZEMIDZIC, M., MATHEWS, V.P. Multiple sclerosis: low-frequency temporal blood oxygen level-dependent fluctuations indicate reduced functional connectivity initial results. **Radiology**, v. 224, n.1, p. 184-192, 2002.

MANUAL DE INSTRUÇÕES DE OPERAÇÃO Viscosímetro Digital Programável Brookfield Modelo DV-III Ultra.

MARTINS E SILVA, J.; SALDANHA, C. Biorreologia e Hemorreologia – origens e evolução. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação**, v. 20, n. 3, 2005.

MELARAGNO FILHO, R. Importância da Hemorreologia Clínica no estudo do fluxo sanguíneo cerebral em condições normais e na isquemia cerebrovascular. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, São Paulo, v. 53, n. 1, Mar. 1995.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5ª ed. [S.l.]: Sarvier, 2011.

NOBILI, L.; SCHIAVI, G.; BOZANO, E.; DE CARLI, F.; FERRILLO, F.; NOBILI, F. Morning increase of blood viscosity in obstructive sleep apnea syndrome. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, v. 22, n. 1, p. 21 – 27, 2000.

OLIVEIRA, M.A.B.; ALVES, F.T.; SILVA, M.V.P.; CROTI, U.A.; GODOY, M.F.; BRAILE, D.M. Conceitos de física básica que todo cirurgião cardiovascular deve saber: parte I - mecânica dos fluídos. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, São José do Rio Preto, v. 25, n. 1, p. 1-10, 2010.

POP, G.A.M., DUNCKER, D.J., GARDIEN, M., VRANCKX, P., VERSLUIS, S., HASAN, D., SLAGER, C.J. The clinical significance of whole blood viscosity in (cardio)vascular medicine. **Netherlands Heart Journal**, v. 10, n. 12, 2002.

RAND, P.W.; LACOMBE, E.; HUNT, H.E.; AUSTIN, W.H. Viscosity of normal human blood under normothermic and hypothermic conditions. **Journal of Applied Physiology**, v. 19, p. 177-122, 1964.

REINHART, W.H. Molecular biology and self-regulatory mechanisms of blood viscosity: a review. **Biorheology**, v. 38, p. 203-212, 2001.

ROSENBLATT, G.; STOKES, J.; BASSET, D.R. Whole blood viscosity, hematocrit and serum lipid levels in normal subjects and patients with coronary heart disease. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 65, p. 202-211, 1965.

ROSENCRANZ, R.; BOGEN, S.A. Clinical Laboratory Measurement of Serum, Plasma, and Blood Viscosity. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 125 (supl. 1), 2006.

SANDHAGEN, B. Analysis of Haemorheological Variables – Methodology and Reference Values. **Upsala Journal of Medical Sciences**, v. 94, p. 81-87, 1989.

SANTOS, R.F.; GALDURÓZ, J.C.F.; BARBIERI, A.; CASTIGLIONI, M.L.; YTAYA, L.Y.; BUENO, O.F.A. Cognitive Performance, SPECT, and Blood Viscosity in Elderly Non-demented People Using Ginkgo Biloba. **Pharmacopsychiatry**, v. 36, p. 127-133, 2003.

SANTOS-GALDURÓZ, R. F. ; BUENO, O.F.A.; YAMAGA, L.I.; ARMANI, F.; GALDURÓZ, J.C.F. Influence of blood viscosity to cerebral blood flow in older humans compared to young subjects. **Clinical Neurophysiology**, v. 123, p. 117-120, 2012.

SEQUEIRA, A. Hemorreologia e modelos matemáticos. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação**, v. 23, n. 3, p.1-17, 2010.

SHIMADA, S.; HASEGAWA, K.; WADA, H.; TERASHIMA, S.; SATOH-ASAHARA, N.; YAMAKAGE, H.; KITAOKA, S.; AKAO, M.; SHIMATSU, A.; TAKAHASHI, Y. High blood viscosity is closely associated with cigarette smoking and markedly reduced by smoking cessation. **Circulation Journal**, v. 75, p. 185-189, 2011.

SILVA JR., M. R. **Fisiologia da circulação**. 2ª ed. São Paulo: Edart, 1977.

STEIGER, H.J.; NIRKKO, A. Durch anemia provokierte cerebrale Herdsymptome bei Carotistesosen: Beobachtungen zur Pathophysiologie. **Schweiz Archives of Neurology and Psychiatry**, n. 141, p. 485-492, 1990.

TRAVAGLI, V.; ZANARDI, I.; BOSCHI, L.; GABBRIELLI, A.; MASTRONUZZI, V.; CAPPELLI, R.; FORCONI, S. Comparison of blood viscosity using a torsional oscillation viscometer and a rheometer. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, p. 1-10, 2007.

WEN, Z.; XIE, J.; GUAN, Z.; SUN, D.; YAO, W.; CHEN, K.; YAN, Z.Y.; MU, Q. A study of hemorheological behavior for patients with Alzheimer's disease at the early stages. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, n. 22, v. 4, p. 261-6, 2000.

WILMORE, J.H.; COSTIL, D. **Fisiologia do esporte e do exercício**. São Paulo: Manole, 2001.

WOOD, S.C.; DOYLE, M.P.; APPENZELLER, O. Effects of endurance training and long distance running on blood viscosity. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, n. 23, v. 11, p. 1265-9, 1991.

8. ANEXOS

8.1. Anexo A – Modelo de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

O Sr.(a) _____

RG n.º _____, nascido em _____,

do sexo _____, residente em (a) _____

na cidade de _____, está sendo convidado a participar do estudo “ESTUDO E ESTABELECIMENTO DE METODOLOGIA PADRÃO PARA OBTENÇÃO DA MEDIDA DE VISCOSIDADE DO SANGUE”, cujo objetivo é a investigação das alterações na viscosidade sanguínea de acordo com as variáveis de interferência, bem como alcançar a padronização da metodologia para essa mensuração, a ser utilizada por pesquisadores e profissionais da área da saúde.

Para tanto, o procedimento utilizado neste estudo será coleta sanguínea por punção periférica da veia do antebraço, feitas por profissional habilitado, e posterior avaliação laboratorial do sangue coletado. O sangue será coletado utilizando-se um sistema fechado, à vácuo, totalmente descartável.

No momento da coleta de sangue, poderá haver alguma dor decorrente da punção da pele. Complicações de coleta de sangue rotineira são raras e geralmente de pequeno porte. Caso haja alguma pequena perda de sangue da veia no local da punção, geralmente há um pequeno desconforto, que desaparecerá em poucos dias. Caso a veia não seja facilmente encontrada pelo profissional habilitado, a coleta não será realizada.

As amostras coletadas para este estudo não serão armazenadas.

Deve estar claro que este estudo não o beneficia diretamente de nenhuma forma.

Qualquer dúvida ou esclarecimento poderá ser dado pelo pesquisador responsável, Prof. Dra. Ruth Ferreira Santos-Galduróz, que pode ser encontrada no endereço: R. Santa Adélia, 166 - Bloco A - Torre 2 - sala 518, Bairro Bangú, Santo Andre, SP, ou no telefone (011) 4996-8316.

O Sr. (a) _____ tem garantia de sigilo de todas as informações coletadas e pode retirar seu consentimento a qualquer momento, sem nenhum prejuízo ou perda de benefício.

Declaro ter sido informado e estar devidamente esclarecido sobre os objetivos deste estudo, sobre as técnicas e procedimentos a que estarei sendo submetido e sobre os riscos e desconfortos que poderão ocorrer. Recebi garantias de total sigilo e de obter novos esclarecimentos sempre que desejar. Declaro também estar ciente de que não existe nenhum benefício direto pela minha participação nesta pesquisa. Assim, concordo em participar voluntariamente deste estudo e sei que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem nenhum prejuízo ou perda de qualquer benefício (caso o sujeito de pesquisa esteja matriculado na Instituição onde a pesquisa está sendo realizada).

Data: __ / __ / __

Assinatura do sujeito da pesquisa ou representante legal

Pesquisador responsável / orientador

Eu, Ruth Ferreira Santos-Galduróz, responsável pela pesquisa “**Estudo e estabelecimento de metodologia padrão para obtenção da medida de viscosidade do sangue**”, declaro que obtive espontaneamente o consentimento deste sujeito de pesquisa (ou de seu representante legal) para realizar este estudo.

Data: __ / __ / __

Assinatura do Pesquisador Responsável

8.2. Anexo B – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa*

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde	
Fundação do ABC - FMABC	
PROJETO DE PESQUISA	
Título: Estudo e estabelecimento de metodologia padrão para obtenção da medida de viscosidade do sangue com viscosímetro digital Brookfield.	
Área Temática:	
Pesquisador: Ruth Ferreira Santos-Galduróz	Versão: 2
Instituição: FUNDACAO UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC - UFABC	CAAE: 03035712.7.0000.0082
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	
Número do Parecer: 58216	
Data da Relatoria: 18/07/2012	
Apresentação do Projeto:	
<p>Este estudo visa avaliar a viscosidade sanguínea. Sabe-se que o sangue representa cerca de 7% do peso corporal de um indivíduo, sendo constituído de plasma e células especializadas em suspensão, com função essencial de transporte de substâncias. A viscosidade do sangue depende basicamente de quatro fatores: influência do hematócrito, influência da temperatura, diâmetro do vaso e axialização das hemácias. Os valores encontrados para a viscosidade sanguínea tendem a aparecer com diferenças significativas, de acordo com o sexo, avançar da idade e uso de substâncias. Em geral não podemos expressar sua viscosidade em termos absolutos sem que sejam levadas em conta as condições em que a mensuração é feita. A prática médica carece ainda de um método simples e clinicamente prático para a verificação desta medida, além de valores de referência. Estudos anteriores destacaram a importância desta medida, considerando o efeito da idade, o uso de substâncias, bem como sua relação com Fluxo Sanguíneo Regional Cerebral. O uso do viscosímetro rotacional com sistema cone/plate modelo DV-III Ultra permite utilizar o sangue total, apresentando a vantagem de controlar a temperatura na cuba de medição. Além deste controle, é necessário padronizar os procedimentos e condições do processo de medição, para que os valores encontrados em pacientes possam ser comparados de forma efetiva a valores de referência (a ser determinado a partir desta técnica). Portanto, este trabalho representa um primeiro passo para que a utilização dos valores de viscosidade sanguínea possam vir a ser melhor utilizados pela pesquisa e prática médica.</p>	
Objetivo da Pesquisa:	
<p>Objetivo Primário: Estudar as variáveis de interferência na medida de viscosidade do sangue afim de desenvolver uma metodologia padrão para a mensuração da viscosidade sanguínea.</p> <p>Objetivo Secundário: Avaliar possíveis modificações na medida de viscosidade do sangue considerando o intervalo de tempo entre a coleta e a realização da medida; avaliar possíveis modificações na medida de viscosidade do sangue considerando a temperatura de armazenamento; verificar qual a quantidade mínima de amostra necessária para medição da viscosidade.</p>	
Avaliação dos Riscos e Benefícios:	
<p>Os riscos para os sujeitos de pesquisa relacionam-se à coleta sanguínea, procedimento geralmente sem riscos apenas com desconforto. Não há benefícios aos sujeitos de pesquisa, apenas a possibilidade de padronização do método.</p>	
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:	
<p>Serão coletadas amostras de voluntários saudáveis, de ambos os sexos, com idade superior a 18 anos. As coletas de sangue serão feitas por punção periférica da veia do antebraço dos indivíduos por profissional habilitado, no próprio laboratório. As amostras de sangue serão coletadas em tubos de 4.0ml com EDTA 0,1%, 20 amostras por estudo. Para os estudos 1 e 2, as amostras serão retiradas diretamente do tubo de 4.0ml. Para os estudos 3 e 4, imediatamente após a coleta, o material será homogeneizado e transferido para Microtubos tipo Eppendorf Vol. 200ml, 20 para cada uma das 20 amostras, correspondendo a um total de 400 microtubos por estudo. Estes serão</p>	

*Disponibilizado aos pesquisadores envolvidos única e exclusivamente em arquivo formato PDF, através do sistema on-line “Plataforma Brasil”, do Ministério da Saúde, sem assinatura expressa ou código de autenticação, exatamente como aqui consta. Se faz necessário esclarecer, para evitar mal entendidos, que a implantação do sistema citado é ainda muito recente, e possivelmente esta característica poderá ainda ser revista; até o presente momento, porém, esta é a única forma em que o Parecer Consubstanciado do CEP nos é disponibilizada.

numerados por ordem de transferência de 1-20, e analisados nesta sequência.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentada a documentação exigida para tramitação do protocolo.

Recomendações:

Foi apresentado novo TCLE deixando claro aos sujeitos de pesquisa, os eventuais riscos da coleta e também que o mesmo não terá benefícios diretos nesse estudo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto apresenta objetivos claros, embora ao meu ver, de pouca praticidade clínica.
No novo TCLE ficou claro os riscos e benefícios para participação dos sujeitos de pesquisa.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado após discussão entre os membros.

SANTO ANDRE, 19 de Julho de 2012

Assinado por:

JUVENCIO JOSÉ DUAILIBE FURTADO

Referente ao Trabalho de Conclusão de Curso da aluna Annie Beatriz Steudner, intitulado “ESTUDO DA VISCOSIDADE DO SANGUE: QUANTIDADE DE AMOSTRA NECESSÁRIA À OBTENÇÃO DA MEDIDA”.

Annie Beatriz Steudner

Ruth Ferreira Santos-Galduróz

(Orientadora)

José Carlos Fernandes Galduróz

(Co-orientador)

Referente ao Trabalho de Conclusão de Curso da aluna Annie Beatriz Steudner, intitulado “ESTUDO DA VISCOSIDADE DO SANGUE: QUANTIDADE DE AMOSTRA NECESSÁRIA À OBTENÇÃO DA MEDIDA”.

Carlos Alberto Anaruma

(Supervisor)