

B20-217

J46



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

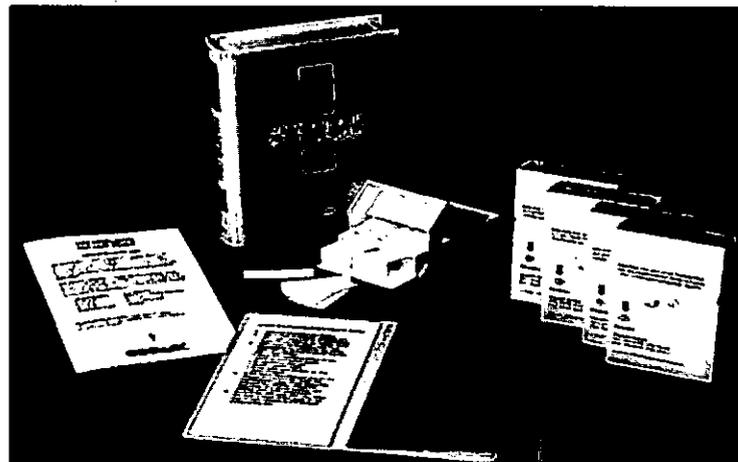
FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TRABALHO DE LICENCIATURA

TEMA:

VALIDAÇÃO DO MÉTODO DA ESCALA  
COLORIMÉTRICA PARA MEDIÇÃO DA  
HEMOGLOBINA



AUTORA: SUZANA GUERREIRO DA CRUZ

Maputo, Abril de 2006



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TRABALHO DE LICENCIATURA

TEMA:

VALIDAÇÃO DO MÉTODO DA ESCALA  
COLORIMÉTRICA PARA MEDIÇÃO DA  
HEMOGLOBINA

AUTORA: Suzana Guerreiro Da Cruz

SUPERVISOR: Dr. Joel Samo Gudo

CO-SUPERVISOR: Dr. Cornélio Ntumi

Maputo, Abril de 2006

## AGRADECIMENTOS

Em especial devo agradecer aos meus supervisores, Dr. Joel Samo Gudo e o Dr. Cornélio Ntumi, pela orientação, apoio, transmissão de conhecimentos e paciência durante a realização do trabalho.

Ao Banco de Sangue do Hospital Central do Maputo pelo apoio dado para que este trabalho se realizasse.

Aos meus colegas de curso, aos amigos em especial e a todas as pessoas que directa e indirectamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Ainda devo expressar sinceros agradecimentos a Dra. Teresa Nogueira, Dr. Almeida Guissamulo, ao Orvalho J. Augusto pelo auxílio prestado na área de estatística.

Também agradeço a todos que me desejaram sucessos neste trabalho ou que pelo menos manifestaram o interesse em apoiar-me e que não foram aqui mencionados.

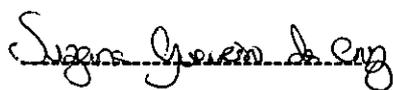
Ao meu marido, a minha sincera gratidão pelos sacrifícios que passou ao longo da minha formação.

## DEDICATÓRIA

Aos meus queridos filhos  
Eláine e Kleiton

## DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, Suzana Guerreiro da Cruz, declaro por minha honra que os dados aqui apresentados são verdadeiros.



(Suzana Guerreiro da Cruz)

ÍNDICE	Pág.
LISTA DAS ABREVIATURAS.....	I
LISTA DE TABELAS.....	II
LISTA DE FIGURAS.....	III
RESUMO.....	IV
1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 - OBJECTIVOS.....	5
2.1 - OBJECTIVO GERAL.....	5
2.2 - OBJECTIVOS ESPECÍFICOS.....	5
3 - MATERIAL E MÉTODOS.....	6
3.1 - MATERIAL DE COLHEITA.....	6
3.2 - MATERIAL DE LABORATÓRIO.....	6
3.3 - MÉTODOS.....	6
3.3.1 - LOCAL E DURAÇÃO DE ESTUDO.....	6
3.3.2 - POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	7
3.4 - METODOLOGIA.....	8
3.5 - PROCEDIMENTO.....	10
4 - RESULTADOS.....	11
5 - DISCUSSÃO.....	15
6 - DIFICULDADES ENCARADAS.....	19
7 - CONCLUSÃO.....	20
8 - RECOMENDAÇÕES.....	21
9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
10 - ANEXOS.....	25

## LISTA DAS ABREVIATURAS

BS	Banco de Sangue
CuSO <sub>4</sub>	Sulfato de cobre
DS	Dadores de Sangue
Hb	Hemoglobina
HCM	Hospital Central de Maputo
HCS	Haemoglobin Colour Scale
MISAU	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
WHO	World Health Organisation
VPP	Valor Preditivo Positivo
VPN	Valor Preditivo Negativo

## LISTA DE TABELAS

	<b>Pág.</b>
Tabela.1 - Combinação binária entre os resultados prováveis obtidos em um determinado teste e o diagnóstico verdadeiro da doença.	7
Tabela.2 - Comparação dos métodos $\text{CuSO}_4$ e HCS utilizando os diferentes parâmetros.	12
Tabela.3 - Número e respectiva percentagem dos indivíduos investigados e a respectiva situação de anêmicos e não anêmicos.	12
Tabela.4 - Análise da proximidade dos métodos de HCS e HemoCue, através dos valores de hemoglobina obtidos.	14
Tabela 5 - Ilustração de alguns estudos realizados em relação ao método HCS e $\text{CuSO}_4$ .	16

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura.1 - Distribuição dos indivíduos testados em função dos grupos etários.	11
Figura.2 - Valores de hemoglobina pelos métodos HemoCue e HCS distribuídos por categorias de anêmico e não anêmico.	13
Figura.3 - Diferença dos valores de Hb observados no estudo entre o método HCS e HemoCue.	14

## RESUMO

O presente trabalho foi realizado no mês de Janeiro de 2005 no Banco de Sangue do Hospital Central do Maputo. Teve como objectivo validar o método *Hemoglobin Colour Scale* nos dadores de sangue de modo a permitir um sistema do seu recrutamento mais fácil e que contribua para uma maior população de dadores seguros.

Neste estudo de validação, o método *Hemoglobin Colour Scale* foi comparado ao método tradicional em uso no Banco de Sangue (o método de sulfato de cobre) contra um método padrão (HemoCue).

Foi investigada a presença de anemia em 200 dadores, previamente seleccionados pelo inquérito em uso no Banco de Sangue. A colheita foi através duma picada capilar e logo de seguida colheu-se três gotas de sangue a cada individuo a testar e cada gota foi analisada nos três métodos (de sulfato de cobre, *Hemoglobin Colour Scale* e HemoCue).

Pelo método de sulfato de cobre, a gota foi introduzida num copo contendo uma solução de sulfato com uma densidade específica conhecida e observava-se o comportamento. Pelo método *Hemoglobin Colour Scale*, a gota foi colocada no papel-teste e comparada as seis tonalidades de vermelho de concentrações diferentes existentes no Kit da escala colorimétrica. A terceira gota foi colhida através de um cuvette descartável, introduzido de seguida no aparelho portátil HemoCue.

Segundo Harrisson (1998) a anemia é definida como sendo a concentração da hemoglobina menor que 140 g/l em adultos do sexo masculino e 120 g/l em adultos do sexo feminino.

A sensibilidade de detecção da anemia observada pelo método *Hemoglobin Colour Scale* foi de 60.4% contra 52.1% pelo método  $\text{CuSO}_4$  em relação ao método de controle (HemoCue). As especificidades foram de 95.4% pelo método HCS contra 96.7% pelo método  $\text{CuSO}_4$  em relação ao método controle respectivamente.

O teste qui-quadrado de McNemar mostrou não haver diferenças significativas entre as sensibilidades dos métodos HCS e  $\text{CuSO}_4$  ( $\chi^2=1$ ;  $p>0.05$ ) bem como das respectivas especificidades ( $\chi^2=0.67$ ;  $p>0.05$ ).

Estes resultados sugerem que os métodos HCS e  $\text{CuSO}_4$  são eficientes. Porém o método HCS é válido para diagnosticar a presença de anemia nas circunstâncias e meios de poucos recursos.

## 1 - INTRODUÇÃO

A medição da hemoglobina é fundamental no controle rotineiro da saúde, no diagnóstico e tratamento de doenças e dá uma incidência global de anemia em cuidados de saúde pública (WHO, 2001).

A anemia é uma das doenças nutricionais mais comuns no mundo, geralmente detectada pela medição da hemoglobina (Hb) ou pela determinação do valor do hematócrito (Jahatissa *et al.*, 2000); Diz-se haver anemia quando a concentração da hemoglobina for menor que 140 g/l ou hematócrito (hct) menor que 42% em adultos do sexo masculino e 120 g/l ou hct menor que 37% em adultos do sexo feminino (Harrison, 1998).

Gosling *et al.* (2000) citando WHO (1997) refere que a anemia é um dos grandes problemas na saúde a nível mundial, afectando aproximadamente 2 bilhões de pessoas principalmente nos países em vias de desenvolvimento, onde o maior grupo de risco são crianças e mulheres grávidas.

Em Moçambique, 74.7% das crianças dos 6-59 meses são anémicas assim como 48.2% das suas mães (MISAU, 2004); Para minimizar os efeitos negativos para uma mãe e o recém nascido é necessário detectar a anemia precocemente e iniciar uma terapia apropriada (Jahatissa *et al.*, 2000). Existem vários métodos que podem ser usados para medir a concentração de hemoglobina no sangue, alguns baseados na alteração da cor quando reagentes são adicionados no sangue, outros dão a conhecer o nível de hemoglobina medindo a densidade do sangue numa solução de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) de gravidade específica conhecida (Timan *et al.*, 2004).

O método da gravidade específica de sulfato de cobre é um procedimento tradicional usado pela maioria dos serviços de transfusão de sangue para controlar uma anemia nos dadores de sangue (Lewis e Emmanuel, 2001).

O nível de hemoglobina é o parâmetro mais usado para determinar a presença de anemia nos dadores de sangue, medida essa normalmente feita durante a entrevista clínica e epidemiológica que precede a doação de sangue (Rosenblit *et al.*, 1999).

Para testar a anemia nos dadores de sangue, o ponto de discriminação foi fixado em 12g/dl definido pela WHO (Timan *et al.*, 2004).

Durante a selecção de dadores de sangue, a determinação do teor de hemoglobina no sangue é fundamental, pois um indivíduo com o valor de hemoglobina inferior ao estipulado, deverá ser excluído temporariamente pelo facto da doação neste caso poder vir a prejudicar a sua saúde.

O Banco de Sangue do Hospital Central de Maputo (HCM) tem usado para a selecção de dadores de sangue o método de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ), sendo este método avaliado por uma solução de  $\text{CuSO}_4$ , cuja gravidade específica é conhecida. Antes de se realizar o teste deve-se preparar a solução de sulfato de cobre pesando uma quantidade de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , dissolver em água destilada e controlar o peso específico correspondente ao valor da hemoglobina .

Contudo, este método tem alguns problemas técnicos na preparação da solução:

- Deve-se verificar correctamente a gravidade específica na solução de sulfato de cobre;
- Cada gota de Sangue adicionada na solução poderá afectar a gravidade específica sendo para isso recomendável que em 100ml de solução de sulfato sejam testadas 50 amostras. Por causa disso, em unidades sanitárias com muito fluxo pode não ser prático ou rentável;
- Adicionalmente, em climas quentes a evaporação de garrafas abertas contendo a solução de sulfato de cobre aumenta a gravidade específica durante o dia (Lewis e Emmanuel, 2001);
- A solução deve estar guardada em temperatura ambiente e em boiões de preferência escuros;
- É de difícil transporte e é ambientalmente tóxico (Timan *et al.*, 2004).

Por essa razão um método alternativo, é necessário. O HCS é uma reinvenção do *Old Hawksley Colour Scale*, e este último foi baseado no princípio “blotting paper” método, que foi desenvolvido pelo fisiologista finlandês Theodoro Talqvist em 1900 e que já está fora do uso (Lewis, 1998).

O HCS é um método recentemente introduzido para estimar o nível da hemoglobina e foi desenvolvido por Stott e Lewis (1995) em colaboração com OMS (Timan *et al.*, 2004; Paddle, 2002).

O método foi validado em muitos estudos e está sendo fabricado comercialmente de acordo com as especificações da OMS sob controle do centro de colaboração da OMS (Lewis, 2002). Em Moçambique ainda não foi validado. Segundo (Trisha, 1997), novos testes podem ser validados por comparação com um teste padrão estabelecido num espectro apropriado de objectivos diversos.

A validação baseou-se na avaliação da sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos e a eficiência do teste. Estas cinco características são aplicadas para testes diagnósticos quando comparados com um diagnóstico verdadeiro ou teste padrão (Trisha, 1997); sendo definidos:

A sensibilidade de um teste como “a percentagem de pacientes doentes com teste positivo detectados em população sabidamente infectada” (Ferreira e Àvila, 1996).

A especificidade de um teste como “a percentagem de indivíduos normais com teste negativo em população sabidamente não infectada” (Ferreira e Àvila, 1996).

O valor preditivo positivo (VPP) como “a probabilidade de doença se o resultado do teste é positivo” (Ferreira e Àvila, 1996).

O valor preditivo negativo (VPN) como “a probabilidade de não ocorrência de doença se o resultado do teste é negativo” (Ferreira e Àvila, 1996).

Eficiência de um teste como “a relação entre o somatório dos verdadeiros resultados positivos e verdadeiros resultados negativos com a população estudada” (Ferreira e Àvila, 1996).

O método HCS é novo, simples de usar nos Centros de Saúde Primária, Obstetrícia, Pediatria, programas de controle de doenças tropicais, selecção de dadores de sangue, estudos epidemiológicos bem como em exames rotineiros de saúde (WHO, 2001; Lewis *et al.*, 1998). O dispositivo de HCS não é destinado para competir com os outros existentes no laboratório hemoglobinométrico, mas sim para diagnosticar a anemia e estimar a sua severidade quando estes laboratórios não estão disponíveis ou ainda em verificações de saúde rotineiras (WHO, 2001; Ingram e Lewis, 2000).

O método da HCS tem como vantagens:

- Ser seguro, resistente, e não necessita de energia, cuvettes, químicos ou manutenção;
- Poder ser utilizado por pessoal subalterno de saúde (munidos das instruções do método);
- Permitir a identificação dos graus de anemia (ligeira, moderada ou severa);
- Permitir ao pessoal de saúde detectar, controlar e dar cada paciente a devida terapia;
- Proporcionar bases de reconhecimento e administração de anemia (especialmente onde não há disponibilidade de laboratórios) em crianças, mulheres grávidas, adultos e pacientes com malária ou outras condições de parasitas (ex.ancilostomíase) e;
- Permitir a identificação do potencial dos doadores de sangue (ex. aqueles com níveis de hemoglobina igual ou abaixo de 12 ou 14 gr/dl, dependendo das normas nacionais) (Stott e Lewis, 1995);
- Ser de fácil manipulação daí permitir pessoas não conhecedoras manejar facilmente o dispositivo com sucesso após um pequeno treinamento (Bardugni *et al.*, 2003);
- Ser de fácil uso, portátil e ser potencialmente apropriado para uso em países subdesenvolvidos e em situações remotas (Paddle, 2002).

Neste contexto o presente trabalho pretende:

- Avaliar um novo método que possa ser usado por todos e para todos afim de aumentar o acesso aos cuidados de saúde;
- Ajudar o país a implementar um sistema de recrutamento de doadores de sangue mais fácil que economize tempo e que contribua para o aumento da população de doadores seguros;
- Aumentar a adequação das necessidades ás disponibilidades de sangue nos serviços de saúde, visando reduzir a mortalidade e morbidade no país;
- Criar um ambiente viável ao desenvolvimento de serviços de transfusão de sangue operacionais em todos os níveis, especialmente a nível distrital.

## 2 – OBJECTIVOS

### 2.1 - OBJECTIVO GERAL

- Validar o Método de Escala Colorimétrica para Medição da Hemoglobina.

### 2.2 - OBJECTIVOS ESPECÍFICOS

- Medir a hemoglobina pelo método de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ );
- Medir a hemoglobina pelo método *Haemoglobin Colour Scale* (HCS);
- Comparar o método HCS com o do  $\text{CuSO}_4$ ;
- Comparar o método de  $\text{CuSO}_4$ , HCS em relação ao método padrão (HemoCue).

### **3 - MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 - MATERIAL DE COLHEITA**

- Kits de medição da hemoglobina
- Lancetas descartáveis
- Desinfectante
- Copo
- Solução de  $\text{CuSO}_4$
- Reservas de garrafas contendo solução de  $\text{CuSO}_4$
- Baldes de 1-5 litros

#### **3.2 - MATERIAL DE LABORATÓRIO**

- Substância sólida  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- Água destilada
- Balança analítica
- Densímetro
- Copo de vidro graduada
- Proveta graduada (de 1000ml)
- Balão de vidro (de 1000ml)
- Termómetro
- Vareta de Vidro
- Garrafas escuras
- Material de protecção como luvas e bata
- Algodão

#### **3.3 - MÉTODOS**

##### **3.3.1 - LOCAL DE ESTUDO**

O estudo foi realizado no Banco de Sangue do Hospital Central de Maputo (HCM) no mês de Janeiro de 2005. O Banco de Sangue do HCM encontra-se anexo ao mesmo hospital. É o mais equipado do país e serve de unidade técnica de referência nacional a todos outros Bancos de

Sangue do país. Este Banco é o maior do país com elevado número de doações, está dividido em cinco áreas fundamentais a saber:

- Mobilização, educação e recrutamento de sangue;
- Laboratório;
- Administração finanças e logística;
- Clínica;
- Formação e controle de qualidade.

### 3.3.2 - POPULAÇÃO DE ESTUDO

A população em estudo foi de 200 indivíduos de ambos os sexos. Cada um foi testado em relação à presença de anemia pelos métodos  $\text{CuSO}_4$ , HCS e HemoCue o que corresponde a 600 medições no total. A amostra incidiu nos dadores que doam sangue com idade compreendida entre 16-65 anos de idade (OMS, 1993) embora tenham sido inclusos dadores autólogos com idade superior a 65 anos. Não se tendo efectuado nenhum estudo sobre o método HCS em Moçambique, o tamanho da amostra foi estimado com base nos seguintes factores:

- O número de indivíduos recrutados durante um período determinado (mês)
- O tempo que irá decorrer o estudo
- E a quantidade de testes disponíveis

Deste modo o tamanho da amostra foi calculado assumindo uma margem de erro de 7% (o que implica que o resultado obtido variará em mais ou menos 0,07 relativamente a proporção amostral esperada) e um grau de confiança de 95% e com base na seguinte fórmula estatística de cálculo do tamanho da amostra (Triola, 1999).

$$N = \frac{(Z_{\alpha/2})^2 \cdot 0,25}{E^2}$$

Onde :

N= tamanho da amostra

$Z_{\alpha/2}$  = Valor Crítico pertecente ao Intervalo de Confiança de 95%

E= Margem de erro.

### 3.4 - METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado com base nas amostras de dadores voluntários, repositores e autólogos à medida que foram chegando, previamente seleccionados pelo inquérito em uso no Banco de Sangue. As colheitas foram feitas nos dias úteis da semana no período das sete e trinta as dezassete horas. Aos DS seleccionados pelo inquérito submetiam-se a picada capilar como procedimento rotineiro, donde colhia-se três gotas de sangue e a cada analisada nos três métodos (CuSO<sub>4</sub>, HCS e HemoCue). Os resultados das amostras foram codificados e categorizados em número do dador, tipo de dador, idade, sexo, tipo de teste (veja anexo).

Em todos os dadores foi testada a presença de anemia usando para o efeito os métodos de Sulfato de Cobre (CuSO<sub>4</sub>) e o da escala colorimétrica (HCS).

O controle das amostras foi feito pelo método HemoCue ao invés do método Hemograma como referido no protocolo pelas seguintes razões:

1. Aceitabilidade do teste HemoCue em relação ao Hemograma pelo facto de:
  - A quantidade de sangue para cada teste foi muito reduzida, uma gota apenas;
  - O custo do método HemoCue é muito mais baixo em relação ao Hemograma porque, enquanto que a Hemograma faz a avaliação de vários parâmetros incluindo a hemoglobina, o HemoCue é específico para avaliação de hemoglobina (Hb).
2. Foi prático usar o método HemoCue porque tanto a colheita como a leitura de Hb foram feitas no local de estudo, enquanto que no método Hemograma a colheita seria feita no local e a leitura a um laboratório fora do local do estudo, precisando do envolvimento de outros funcionários o que não seria mais independente. Também evitava o manuseio das amostras o que influenciaria o resultado.

Foi elaborado a Tabela.1 para os cálculos da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e eficiência baseados nas seguintes fórmulas:

Tabela.1 - Combinação binária entre os resultados prováveis obtidos em um determinado teste e o diagnóstico verdadeiro da doença.

Teste	Doença	Doença
	Presente	ausente
Positivo	Verdadeiros positivos (A)	Falsos positivos (B)
	Falsos negativos (C)	Verdadeiros negativos (D)

$$\text{Sensibilidade} = A/A+C * 100\%$$

$$\text{Especificidade} = D/B+D * 100\%$$

$$\text{VPP} = A/A+B * 100$$

$$\text{VPN} = D/C+D * 100$$

$$\text{Eficiência} = A+D/A+B+C+D * 100\%$$

Para a digitação dos dados usou-se Excel 2000 e a análise foi feita em STATA 8.2 (STATA Corp, College Station, TX USA). A comparação das variáveis categóricas e a inferência da significância do padrão de sensibilidade e especificidade dos métodos foram feitos utilizando-se o teste qui-quadrado de Pearson (Sentis et al., 1995). O teste qui-quadrado foi para testar a hipótese nula segundo a qual não há diferença significativa entre a sensibilidade e especificidade dos métodos HCS e CuSO<sub>4</sub> a um nível de significância de 0.05.

O método HCS foi validado comparando a sua sensibilidade e especificidade com a do método sulfato de cobre em relação ao método controle (HemoCue) a um nível de significância de  $\alpha = 0.05$ . Especificamente para a comparação da sensibilidade e especificidade usou-se o teste qui-quadrado de McNemar (Hawass, 1997); fazendo para o efeito a comparação do método tradicional de sulfato de cobre com o controle, a comparação do método HCS com o controle e por fim a comparação do método HCS com o método do sulfato de cobre ao invés de como referido no protocolo.

### 3.5 - PROCEDIMENTO

Para o método de  $\text{CuSO}_4$  primeiro foram preparadas as soluções de sulfato de cobre da seguinte maneira:

- Foram pesados rigorosamente 88.1 gr de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ;
- Foram dissolvidos em 1000ml de água destilada;
- Foi controlado o peso específico com o densímetro;
- A densidade de 1053 correspondia a um valor de 12.5gr de hemoglobina;
- Reservou-se o preparado em boiões escuros.

Após a preparação da solução do sulfato de cobre foi retirada para um copo uma quantidade de aproximadamente 50 ml dessa solução e reservada.

- O teste iniciou desinfectando o dedo médio do dador com uma lanceta estéril com a qual picou-se a lateral da ponta do dedo da mão como procedimento rotineiro. A uma distância de 15 cm deixou-se cair directamente para o copo (contendo a solução de sulfato de cobre reservada) uma gota de sangue que se formou livremente. Observou-se o comportamento da gota 10-20 segundos depois, sendo que:
  - Se a gota flutuava, então a Hemoglobina  $<12.5\text{gr/dl}$ ,
  - Se a gota afundava, então a Hemoglobina  $>12.5\text{gr/dl}$ .

Em seguida colheu-se mais uma amostra do mesmo indivíduo e testou-se a presença de anemia com o método HCS. Pressionou-se o dedo delicadamente deixou-se cair uma gota de sangue na tira de papel - teste para formar um círculo de aproximadamente 1 cm. Depois de 30 segundos e antes de 2 minutos após a aplicação da gota, a mesma foi comparada com as seis tonalidades de cor vermelha de diferentes concentrações existentes na escala colorimétrica do HCS e registou-se o valor correspondente em g\dl.

E por último colheu-se a terceira gota de sangue do indivíduo a ser testado através de um cuvette plástico descartável que se introduziu no hemoglobinométrico portátil HemoCue 10 a 15 segundos após o processamento deu-nos a leitura da concentração da hemoglobina.

#### 4 - RESULTADOS

Dos 200 indivíduos incluídos no estudo, 48 (24%) eram do sexo feminino e 152 (76%) eram do sexo masculino; 4 (2%) indivíduos eram doadores autólogos, 88 (44%) doadores repositores, e 108 (54%) doadores voluntários.

O grupo etário compreendido entre 16-24 anos de idade registou um elevado número de doadores em relação aos grupos etários mais avançados; quanto mais avançado o grupo etário mais reduzido é o número de doações, conforme ilustra o gráfico da Figura 1.

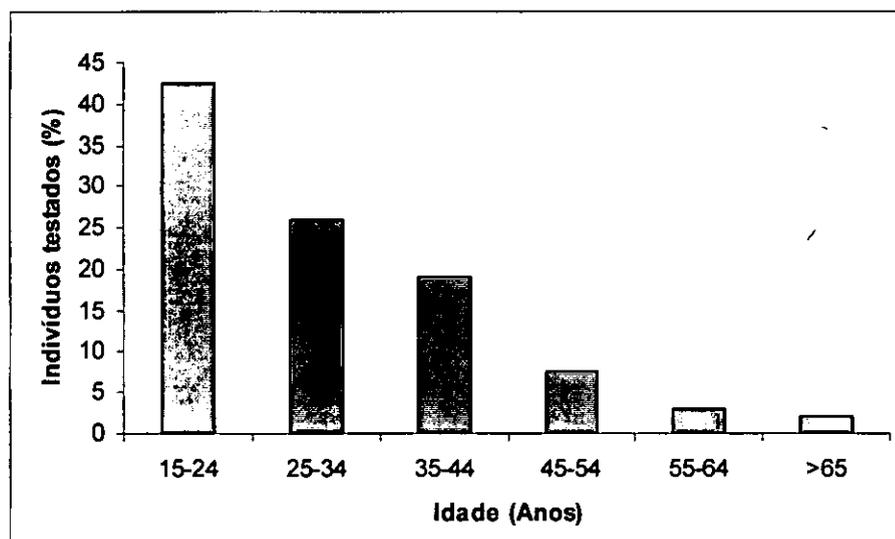


Figura 1- Distribuição dos indivíduos testados em função dos grupos etários

A Tabela 2 ilustra a prevalência, a sensibilidade, a especificidade, os VPP, VPN e a eficiência dos métodos ( sulfato de cobre e HCS ).

A prevalência de anemia para o método sulfato de cobre, HCS, e o método de referência (HemoCue) foi de 15, 18 e 23% respectivamente.

A sensibilidade foi de 52.1% e 60.4% pelos métodos de sulfato de cobre e HCS respectivamente, em relação ao método Hemocue. E a especificidade dos mesmos métodos em relação ao Hemocue foi respectivamente de 96.7 e 95.4%.

Tabela 2- Comparação dos métodos CuSO<sub>4</sub> e HCS utilizando os diferentes parâmetros.

Parâmetros	Sulfato de cobre	HCS
Verdadeiros positivos	25	29
Falsos positivos	23	19
Verdadeiros Negativos	147	145
Falsos Negativos	5	7
Sensibilidade	52.1 %	60.4 %
Especificidade	96.7 %	95.4 %
Valor Preditivo Positivo (VPP)	83.3 %	80.6 %
Valor Preditivo Negativo (VPN)	86.5 %	88.4 %
Prevalência	15 %	18 %
Eficiência	86 %	88 %

O teste qui-quadrado de McNemar não mostrou diferenças significativas entre as sensibilidades dos métodos HCS e Sulfato ( $\chi^2=1$ ;  $p>0.05$ ) bem como entre as respectivas especificidades ( $\chi^2=0.67$ ;  $p>0.05$ ).

Dos 72% indivíduos aceites (não anêmicos) pelos dois métodos (CuSO<sub>4</sub> e HCS) foram também aceites pelo método de referência (HemoCue) assim como 9.5% dos indivíduos rejeitados (anêmicos) (Veja a tabela 3).

Tabela 3- Número e respectiva percentagem dos indivíduos investigados e a respectiva situação de anêmicos \ não anêmicos; onde:

√ = Dador não anémico

x = Dador anémico

N. (%)	CuSO <sub>4</sub>	HCS	HemoCue
19 (9.5)	x	x	x
3 (1.5)	x	x	√
5 (2.5)	x	√	x
3 (1.5)	x	√	√
10 (5)	√	x	x
4 (2)	√	x	√
12 (6)	√	√	x
144 (72)	√	√	√

As medianas dos valores de hemoglobina obtidos pelos métodos HemoCue bem como pelo método HCS foram significativamente diferentes nas duas categorias, anêmico ou não (teste de Mann-Whitney para diferenças entre as medianas  $p < 0.05$ ,  $z = 7.2$ ) para o primeiro e (teste de Mann-Whitney para diferenças entre as medianas  $p < 0.05$ ,  $z = 7.5$ ) para o segundo, respectivamente (veja a Figura 2).

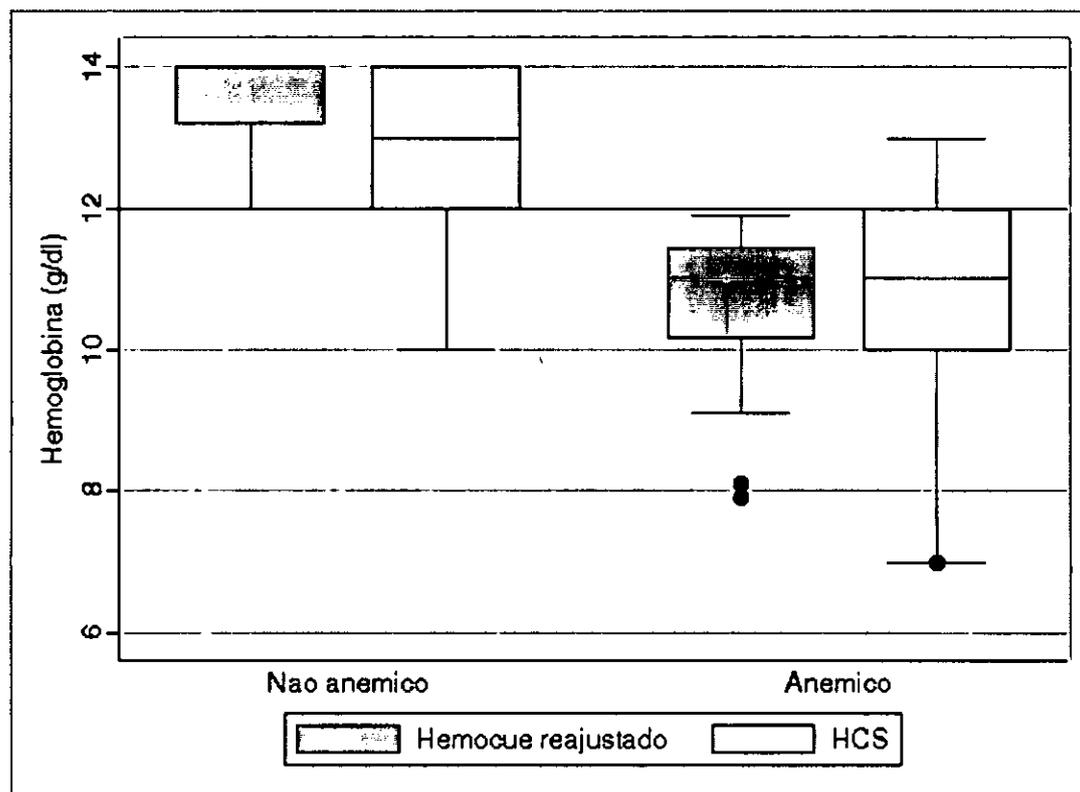


Figura 2- Mostra valores de Hb pelos métodos HemoCue e HCS distribuídos por categorias de anêmico e não anêmico.

A média da diferença entre os métodos HemoCue e HCS foi de 0.29 e o desvio padrão dos mesmos é 0.91. Os limites de confiança da média da diferença num IC = 95% variam de -1.5 a 2.1 ( veja a figura 3).

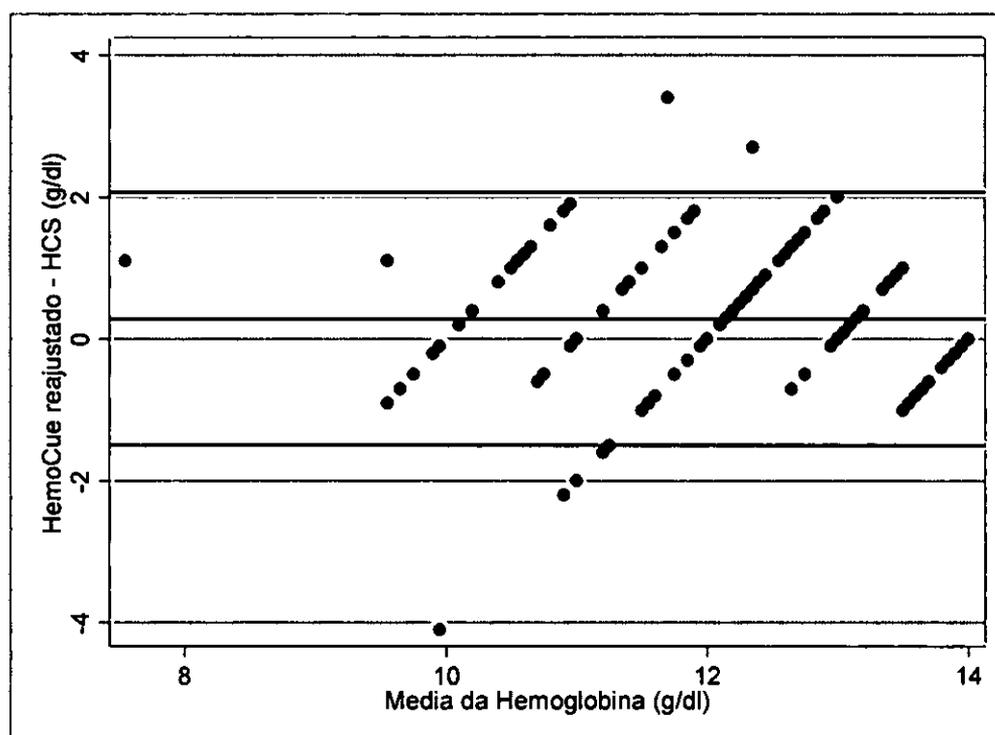


Figura 3- Reflete a diferença dos valores de Hb observados no estudo entre o método HCS e HemoCue. As linhas horizontais vermelhas indicam a média das diferenças e os limites mínimo e máximo do intervalo de confiança da média da diferença.

Embora houvesse uma diferença de 0.29 entre os dois testes, 98% dos resultados obtidos mostram valores de Hb abaixo de 2 unidades comparados com os do método HemoCue ( veja a tabela 4).

Tabela 4- Análise da Proximidade dos métodos de HCS e HemoCue, através dos valores de hemoglobina obtidos.

Hb (g\dl)	<1.0	1.1 – 2.0	2.1 – 3.0	>3.0
Método HCS	156 (78%)	40 (20%)	2 (1%)	2 (1%)

## 5 - DISCUSSÃO

Dos 200 indivíduos abrangidos no presente estudo, 76% eram do sexo masculino e os restantes 24 % eram do sexo feminino. Este número é relativamente menor comparativamente aos 89% de dadores do sexo masculino obtidos por Baptista (2001) num estudo realizado no mesmo local em 2001. Mesmo assim, tanto um como o outro, indicam que os homens são os maiores fornecedores de sangue no HCM. Segundo Chambo (2004), a diferença na frequência de doações por homens e mulheres deve-se provavelmente ao facto de o Banco de Sangue do HCM não ter estratégias de mobilização de Dadores de Sangue (DS) direccionadas a organizações femininas. Indivíduos do sexo feminino reagem ao acto de doação de sangue com receio excessivo de agulhas (Chambo, 2004). Segundo Noronha (1999) este facto, pode estar relacionado com os aspectos fisiológicos tais como: parâmetro peso\altura, níveis de Hb, gravidez, ciclo menstrual, amamentação e ainda à doação de sangue de 4 em 4 meses comparando com intervalo dos homens que doam de 3 em 3 meses.

O número de dadores voluntários observados neste estudo não difere dos encontrados por Baptista (2001), pois dos 200 indivíduos investigados tanto por Baptista (2001) e também neste estudo, 50.5% e 54% eram dadores voluntários respectivamente. Provavelmente, o modo como os DS foram recrutados poderá ter influenciado na representatividade da amostra, isto é, o facto de não terem sido inclusos DS das brigadas móveis que na totalidade são dadores voluntários (Baptista 2001), bem como devido ao compromisso que algumas instituições têm com o BS. Assim, em casos de ruptura de estoques de sangue no BS, este pode recorrer a estas instituições para que trabalhadores seus doem o sangue. Em geral, os trabalhadores cujas instituições tenham compromisso com o BS, são mais receptivas ao apelo de doar sangue, o que faz aumentar o número de dadores voluntários. Durante a presente pesquisa não houve doações massivas dessas instituições o que pode ter reduzido a percentagem de dadores voluntários.

Jovens entre 16 e 24 anos (veja a Figura 1) são os que mais sangue doaram durante este estudo enquanto que dadores com idade avançada foram os que menos doaram. Esta distribuição etária de dadores pode estar a dever-se provavelmente, ao facto do BS promover estratégias de mobilização de DS na camada jovem, visto ser o grupo de mais baixo risco (Samo Gudo, 2002).

O presente estudo revelou uma sensibilidade de 60.4% pelo método HCS. Esta sensibilidade está em conformidade com a relatada em investigações idênticas feitas por Van Der Broek *et al.* (1999), Ingram & Lewis (2000) e Barduagni *et al.* (2003)(Veja a tabela 5).

Tabela 5- Ilustração de alguns estudos realizados em relação ao método HCS e CuSO<sub>4</sub>

ND- Não Determinado

ECC- Electronic Coulter Counter

HCue- HemoCue

HiCN- HaemoglobinCyanide spectrophotometric

\*Analisador Automático de células do sangue calibrado pelo método de referência HiCN

Teste	Teste Control	T. A- mostral	País	Sensibili- dade(%)	Especifici- dade(%)	Referências
HCS	ECC	729	Malawi	50-81.6	ND	Van Der Broek <i>et al.</i> (1999)
HCS	HiCN*	2800	Inglaterra (Londres)	60	88	Ingram & Lewis (2000)
CuSO <sub>4</sub>	HCue	311	Sri. Lanka (Colombo)	82.2	90.9	Jayatissa <i>et al.</i> (2000)
HCS	HCue	535	Vários	85.2	ND	Montessor <i>et al.</i> (2002)
HCS	HCue	452	Bangladesh (Dhaka)	82.9	90.9	Chowdury <i>et al.</i> (2002)
HCS	HCue	149	Egipto	57.7	ND	Barduagni <i>et al.</i> (2003)
HCS	HiCN	390	Japão	99	100	Timan <i>et al.</i> (2004)
CuSO <sub>4</sub>	HiCN	390	Japão	95	100	Timan <i>et al.</i> (2004)
HCS	HCue	200	Moçambique	60.4	95.4	Este estudo
CuSO <sub>4</sub>	HCue	200	Moçambique	52.1	96.7	Este estudo

Segundo o estudo realizado em Londres por Ingram & Lewis (2000) a 2800 dadores de sangue, o método HCS mostrou uma sensibilidade de 60%. Embora com tamanhos de amostras diferentes, o método HCS apresentou valores aproximados de sensibilidade. Esta constatação deve-se provavelmente ao facto de a sensibilidade e a especificidade do teste ser virtualmente constante em qualquer condição da prevalência (Trisha, 1997). Segundo (Anónimo, 1996) apesar do método HCS ter fornecido resultados compatíveis de sensibilidade em diferentes estudos, o teste pode ser inútil se esta sensibilidade, especificidade e outras características cruciais do teste forem baixos.

Normalmente, interessa para um BS um teste com maior sensibilidade, tal é o caso da sensibilidade de HCS observada neste estudo. Neste caso o número de falsos resultados positivos tende a aumentar um pânico social se os indivíduos positivos não forem acompanhados clínica e epidemiologicamente (Ferreira e Ávila, 1996 ). Felizmente neste

estudo os falsos resultados positivos não são elevados provavelmente porque a população alvo foi de DS que é uma população previamente seleccionada por um inquérito.

No entanto, para um laboratório clínico onde a prevalência é muito alta interessa um teste de muita especificidade. Neste caso o aumento de falsos resultados negativos é compensado pela verdadeira história clínica do paciente.

Os VPP e VPN foram acima de 80%. Segundo (Leal e Osório, 2005) os valores preditivos dependem da sensibilidade e especificidade do teste em questão e da prevalência da doença na população estudada. No caso deste estudo a prevalência encontrada foi muito baixa, provavelmente porque a mesma população é aparentemente sã. Segundo (Hawass, 1997) um VPP alto se refere à boa capacidade do teste em identificar os verdadeiros doentes entre os diagnosticados como doentes.

A Tabela 3 nos mostra que tanto o método de sulfato de cobre como o de HCS detectaram resultados iguais de 72% de indivíduos não anémicos contra 9,5% dos anémicos, diagnóstico esse confirmado pelo método controle (HemoCue). Este facto sugere-nos que tanto o método HCS como o do sulfato são fiáveis para selecção de DS, embora o primeiro método segundo Lewis & Emmanuel (2001) tenha vantagens em relação ao segundo pelo facto de ser mais fácil de operar, poder fazer-se leituras a qualquer hora e lugar. Não necessita de renovação frequente do material em uso e não sujeita-se a evaporação e rápida deterioração em climas tropicais quando exposto à sessão de avaliação aos DS.

O teste qui-quadrado de McNemar (Hawass, 1997) não mostrou diferença significativa entre as sensibilidades dos métodos de sulfato de cobre e do HCS bem como entre as respectivas especificidades. Este facto sugere-nos que o método HCS é válido para diagnosticar a presença de anemia nos dadores de sangue pois, segundo (Trisha, 1997) um teste é considerado válido se ele detecta mais pessoas com um distúrbio (alta sensibilidade) e exclui mais pessoas sem o distúrbio (alta especificidade).

Para se validar um método tem que se ter em conta algumas questões tais como: i) se o teste é potencialmente relevante para a prática; ii) mesmo que seja válido, eficiente e seguro, poderá ser substituído pelo método actual; iii) se a mudança de probabilidade de competição do diagnóstico usando um ou outro método será suficiente e iv) os pacientes sentir-se-ão confortáveis com o novo método. Neste estudo constatei que o método de HCS é útil para a

prática, para as condições do BS do HCM pode ser um método alternativo, o resultado do diagnóstico é quase igual ao método actual e os dadores preferem-no pelo facto de poderem saber o valor da sua hemoglobina facto esse que não acontece com o método de sulfato de cobre (método actual em uso no BS).

Contudo, o diagnóstico de anemia pelo método HCS é bom mas a aquisição dos kits não é fácil, tornando-o caro em relação ao método de sulfato. Para efeito prático o uso rotineiro do método HCS implicaria elevados custos para o BS em relação ao método de sulfato, mas por outro lado aumentaria o número de estoques de sangue porque o método é fácil de operar em qualquer que seja o local.

Tendo em conta as categorias anémico ou não pelo método HemoCue o intervalo de dispersão dos valores do método HCS e as respectivas medianas mostram uma variação de acordo com essas categorias indicando uma boa correlação entre ambos (Fig.2). e uma vez mais confirmando os valores de sensibilidade e especificidade do método HCS em relação ao método HemoCue.

Segundo Bland e Altman (1986), o teste de correlação não é apropriado para avaliar a similaridade entre dois métodos diferentes de medição clínica; em particular pode acontecer uma boa correlação e não necessariamente uma boa similaridade entre os métodos. A mais válida avaliação de similaridade entre os testes é sugerida por Bland e Altman (1986) é a representação gráfica das diferenças entre os valores dos testes contra as médias dos valores dos testes; daí ter sido este último feito neste estudo.

Do total dos indivíduos investigados, 2% das leituras de Hb feitas pelo método HCS estavam acima de duas unidades comparadas com o método HemoCue. Esta constatação deve-se provavelmente, entre outros factores, ao facto de Segundo Ingram & Lewis (2000), a quantidade de sangue colocada no papel-teste ter de ser regular (nem ínfima nem excessiva); as leituras devem ser feitas no período de tempo determinado (depois de 30 segundos e não depois de 2 minutos).

## 6 - DIFICULDADES ENCARADAS

Atendendo a importância deste trabalho achamos importante descrever algumas dificuldades encontradas durante a execução do mesmo.

O principal problema é que os três métodos não são rigorosamente comparáveis. Enquanto o método de sulfato de cobre é qualitativo, dando resultados de aceitação e rejeição; o método HCS e HemoCue são quantitativos. E mesmo assim, nos dois métodos quantitativos, as leituras pelo método HCS são feitas no intervalo de 2 g\dl embora valores intermediários de 1 g\dl sejam facilmente distinguidos e os mesmos valores estão restritos até 14 g\dl. Pelo método HemoCue as medições são feitas em 1 g\l ( ex: 0.1 g\dl ) e os seus valores ultrapassam 14g/dl. Para resolver este problema na análise estatística assumiu-se que as leituras de Hb pelo método HemoCue >14 g\dl como 14.

## 7 - CONCLUSÃO

- A sensibilidade encontrada pelo método HCS foi de 60.4% contra 52.1% pelo método  $\text{CuSO}_4$  em relação ao método de controle (HemoCue).
- E as suas especificidades foram de 95.4% pelo método HCS contra 96.7% pelo método  $\text{CuSO}_4$  em relação ao método controle respectivamente.
- Não houve diferenças significativas entre as sensibilidades dos métodos HCS e  $\text{CuSO}_4$  ( $\chi^2=1$ ;  $p>0.05$ ) bem como das respectivas especificidades ( $\chi^2=0.67$ ;  $p>0.05$ ).
- Ambos métodos, HCS e  $\text{CuSO}_4$ , são eficientes. O método HCS revelou uma boa sensibilidade e especificidade no diagnóstico de anemia em DS;
- A um nível de significância de  $\alpha = 0.05$  foi validado o método HCS comparando a sua sensibilidade e especificidade com a do método sulfato de cobre em relação ao método controle (HemoCue), como um método auxiliar para diagnosticar a presença de anemia nas circunstâncias e meios de poucos recursos.

## 8 - RECOMENDAÇÕES

- Que o método HCS seja um método alternativo nos Bancos de Sangue para diagnóstico de anemia nos doadores de sangue.
  
- Que o método HCS seja um auxílio de diagnóstico nos locais onde a anemia é diagnosticada pelos sinais clínicos apenas.

## 9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anónimo (1996). *How good is that test- using the result. Bandolier*; 3:6-8.
2. Baptista, A. A. (2001). *Avaliação das prevalências de Hepatite B nos doadores de sangue do HCM e Hospital Geral do José Macamo*. Tese de Licenciatura, 49pp. Maputo. Universidade Eduardo Mondlane.
3. Barduagni, P.; A.S. Ahmed; F Curtale, M. Raafat e L. Soliman (2003). *Performance of shali and colour scale methods in diagnosing anaemia among school children in low prevalence areas. Trop. Med. Int. Health*, 8 (7):615-8.
4. Bland, J. M. e D . G. Altman (1986). *Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet*, i:307-310.
5. Chambo, E. L. (2004). *Avaliação da eficácia da desinfecção dos locais de punção de sangue, no acto de doação e transfusão de sangue no Hospital Central do Maputo*. Tese de Licenciatura, 58 pp. Maputo. Universidade Eduardo Mondlane.
6. Ferreira, A. Walter e Sandra L. M Ávila (1996). *Diagnóstico Laboratorial das principais Doenças Infecciosas e Auto-ímmunes*, Editora Santuário, 302pp, Rio de Janeiro-Brasil.
7. Gosling, R.; G. Walraven; F. Manneh, R. Bailey e S. M. Lewis (2000). *Training health workers to assess anaemia with the WHO haemoglobin colour scale. Tropical Medicine and International Health*, 5:214-221.
8. Harrison, T. R. (1998). *Medicina Interna*. 14ª edição. Vol.I. 1499pp. Rio de Janeiro-Brasil.
9. HAWASS (1997). *Comparing the sensitivities and specificities of two diagnostic procedures performed on the same groups of patients. The British Journal of Radiology*, 70:360-366.
10. Ingram, C. F. e S. M. Lewis (2000). *Clinical use of WHO Haemoglobin Colour Scale: Validation and critique. Journal of Clinical Pathology*, 53:933-937.
11. Jayatissa, R.; F. Dulitha e S. Wijesinghe (2000) *Use of copper methods a tool for screening for anaemia in field antenatal clinics. Journal of the College of community Physicians of Sri Lanka*, 5:1391-3174.
12. Samo Gudo, Joel (2002). *Relatório de Actividades do Banco de Sangue do HCM do ano 2002*. 13pp. Maputo.
13. Leal, L. P. e M. M. Osório (2005). *Validação e reprodutibilidade de sinais clínicos no diagnóstico de anemia em crianças. Cad. Saúde Pública* Vol.21 nº2. Rio de Janeiro.

14. Lewis, S. M. (1998). *WHO haemoglobin colour scale is modern version of what was used previously. BMJ*, 317:949.
15. Lewis, S.M.; G.J. Stott e K.J. Wynn (1998). *An inexpensive and reliable new haemoglobin colour scale for assessing anaemia. Journal of Clinical Pathology*, 51:21-24.
16. Lewis, S.M. e J. Emmanuel (2001). *Validity of the haemoglobin colour scale in blood donor screening. Vox Sanguinis*, 80:28-33.
17. Lewis, S.M. (2002). *Laboratory practice at the periphery in developing countries. Int. J. Hematol.*, 1:294-8.
18. MISAU (Ministério da Saúde) (2004). *Programa de Nutrição Província de Maputo. Reunião Anual de Balanço*. Maputo.
19. Noronha, C.M. (1999). *Estudos das Frequências dos Sistemas Sanguíneos ABO, Rhesus, MNS e da Gestão das Reservas de Sangue no HCM*. Tese de Licenciatura, 38pp. Maputo. Universidade Eduardo Mondlane.
20. OMS (Organização Mundial de Saúde) (1993). *Sangue e produtos Sanguíneos Seguros, Doação Segura de Sangue*, Módulo 1, 186pp. Genebra.
21. Padlle, J.J. (2002). *Evaluation of Haemoglobin colour scale and comparison with Haemoglobin assay. Bulletin of the WHO*, 80 (10).
22. Rosenblit, R.; C.R. Abreu, L.N. Szterling, J.M. Kutner, N. Hamerschlak, P. Frutuoso, P.R.S. Paiva e O.C.F. Júnior (1999). *Evaluation of three methods for haemoglobin measurement in a blood donor setting*. vol. 117 n° 3. São Paulo-Brasil.
23. Sentis, J.; H. Pardell, E. Cobo e J. Canela (1995). *Manual de Biostatística*, segunda edição, 305 pp, Masson S. A.
24. Stott, G.J. e S.M. Lewis (1995). *A simple and reliable method for estimating haemoglobin. Bulletin of the World Health Organization*, 73:369-373.
25. Timan, I.S.; N Tatsumi, D Aulia e E. Wangsasaputra (2004). *Comparison of haemoglobinometry by WHO Haemoglobin Colour Scale and Copper Sulphate against haemiglobincyanide reference method. Clinical & Laboratory Haematology*, Vol.26, nº4, 253-258.
26. Triola, M. F. (1999) *Introdução á Estatística*; 7ª Edição ;Editora S.A, 410pp, Rio de Janeiro-Brasil.
27. Trisha, G. (1997). *How to read a paper: Papers that report diagnostic or screening tests. BMJ*, 315:540-543

28. Van Den Broek, N.; C. Ttonya; E. Mhango; S. White (1999). *Diagnosing anaemia in pregnancy in rural clinics: assessing the potencial of the Haemoglobin Colour Scale. Bulletin of the World Health Organization, 77:15-21*
29. WHO (World Health Organization) (2001). *HCS: A practical answer to a vital need.* Geneva, Switzerland. IDPAS #738

**10 - ANEXOS**

D - Dador Voluntário

R - Dador Repositor

AD - Dador Autólogo

Sulfato 1 - dador aceite

2- dador rejeitado

N.Folha	N.Linha	I.D dador	Tipo de Dador.	Idade	Sexo	Sulfato	HCS	HemoCue
1	1	798853	D	16	M	1	14	13,2
1	2	798854	D	16	M	1	14	14,9
1	3	798835	R	16	M	1	14	14,6
1	4	740429	R	16	M	1	13	14,6
1	5	798857	D	17	F	1	12	11,7
1	6	798856	R	17	F	2	12	11,7
1	7	798858	D	17	M	1	14	13,9
1	8	760976	D	17	M	1	10	11,8
1	9	757704	R	17	M	1	13	15,5
1	10	760578	D	18	F	1	13	12,3
1	11	795953	D	18	M	1	14	14,9
1	12	798863	D	18	M	1	14	15,9
1	13	798864	D	18	M	1	12	13,8
1	14	779915	D	18	M	1	13	13,3
1	15	798865	D	19	F	1	12	10,4
1	16	798866	D	19	F	1	12	13,1
1	17	798867	D	19	F	2	10	9,8
1	18	68163	R	19	F	2	10	9,5
1	19	798869	R	19	F	2	7	8,1
1	20	798870	D	19	M	1	12	15,6
1	21	67749	D	19	M	1	14	15,1
1	22	783957	R	19	M	1	12	14,8
1	23	798872	R	19	M	1	13	13,1
1	24	798871	D	20	F	2	11	10,9
1	25	798882	R	20	F	1	10	11,2
2	1	798882	R	20	F	2	11	10,5
2	2	798883	R	20	F	2	12	12,8
2	3	798885	D	20	M	1	10	9,1
2	4	798886	D	20	M	1	14	15,2
2	5	798887	D	20	M	1	14	14,3
2	6	71502	D	20	M	1	14	16
2	7	737944	D	20	M	2	10	13,4
2	8	798889	D	20	M	1	13	13,8
2	9	798890	R	20	M	1	14	16,1
2	10	38584	D	21	F	1	12	11,1
2	11	798469	D	21	F	1	10	9,8
2	12	771873	R	21	F	2	10	11
2	13	798891	R	21	F	1	13	14
2	14	798892	R	21	F	1	12	13,1
2	15	777045	D	21	M	1	14	13,2
2	16	778894	D	21	M	1	14	15,6

2	17	74159	D	21	M	1	14	15,2
2	18	765863	D	21	M	1	12	11,2
2	19	798896	D	21	M	1	14	13,6
2	20	793149	D	21	M	1	14	14,7
2	21	798899	R	21	M	1	14	15,4
2	22	798898	R	21	M	1	14	16,1
2	23	798371	R	21	M	1	14	14,3
2	24	790594	D	22	M	1	12	13,1
2	25	768098	D	22	M	1	12	12,4
3	1	796858	D	22	M	1	12	10,5
3	2	797594	D	22	M	1	14	16,5
3	3	798663	R	22	M	2	10	11,9
3	4	778659	R	22	M	1	14	16,5
3	5	792358	R	22	M	1	14	14,8
3	6	798936	D	23	F	1	12	13,4
3	7	798937	D	23	M	1	12	13,2
3	8	798938	D	23	M	1	14	13,7
3	9	776879	D	23	M	1	14	14,8
3	10	798941	D	23	M	2	10	11,1
3	11	753325	D	23	M	1	12	12,3
3	12	737026	D	23	M	1	12	15,9
3	13	731253	D	23	M	1	13	13,4
3	14	798944	D	23	M	1	13	16,7
3	15	781127	R	23	M	1	14	13
3	16	779840	R	23	M	1	14	15,4
3	17	785471	D	24	F	1	12	9,8
3	18	798946	D	24	F	1	10	9,9
3	19	761397	R	24	F	1	10	9,3
3	20	67628	R	24	F	1	12	12,5
3	21	64928	D	24	M	1	14	15
3	22	764375	D	24	M	1	14	15,6
3	23	51980	D	24	M	1	14	13,8
3	24	33396	D	24	M	1	14	13,8
3	25	798950	D	24	M	1	12	12,6
4	1	730548	D	24	M	1	14	14,8
4	2	793169	D	24	M	1	12	12,3
4	3	798952	D	24	M	2	12	11,7
4	4	798953	D	24	M	2	12	12
4	5	798954	R	24	M	1	14	15,1
4	6	793556	R	24	M	1	14	13,8
4	7	732488	R	24	M	1	12	12,2
4	8	51705	R	24	M	1	13	14,4
4	9	779992	R	24	M	1	13	14,2
4	10	798955	R	24	M	1	14	13,7
4	11	772578	R	25	F	1	11	13,7
4	12	758488	D	25	M	1	12	12,2
4	13	75771	D	25	M	1	14	14,3
4	14	64308	D	25	M	1	14	13,4
4	15	796301	D	25	M	2	10	11
4	16	772003	D	25	M	1	12	12,3
4	17	773667	D	25	M	1	13	14,2
4	18	785935	D	25	M	1	12	12
4	19	755137	D	25	M	1	11	12,5
4	20	65067	R	25	M	1	14	16,3

4	21	798960	D	26	F	2	10	11,6
4	22	798963	D	26	M	1	14	17,4
4	23	769865	R	26	M	1	14	14,3
4	24	798968	R	26	M	1	13	13,8
4	25	798965	R	27	F	1	10	11,2
5	1	798966	R	27	F	1	13	13,7
5	2	798967	D	27	M	1	14	15,7
5	3	798970	D	27	M	1	11	11
5	4	798969	R	27	M	1	14	15,9
5	5	798971	D	28	F	2	10	10,2
5	6	798972	D	28	M	1	14	13,1
5	7	798973	D	28	M	1	13	14,3
5	8	761145	D	28	M	1	13	13,2
5	9	75902	D	28	M	1	13	15,7
5	10	762518	R	28	M	1	12	13,7
5	11	798976	R	28	M	1	14	15,2
5	12	798977	D	29	M	1	12	14
5	13	798978	D	29	M	1	13	14,7
5	14	72237	R	29	M	1	12	14,6
5	15	798979	R	29	M	1	14	15,1
5	16	779979	R	29	M	1	14	15,6
5	17	750744	D	30	F	1	12	11
5	18	798982	R	30	F	1	14	14
5	19	798980	R	30	F	1	12	13,3
5	20	779754	D	30	M	1	11	12,8
5	21	773327	R	30	M	1	14	16,2
5	22	759779	D	31	F	1	14	13,8
5	23	796451	D	31	F	2	11	12,3
5	24	757319	R	31	F	1	12	13,1
5	25	798983	D	31	M	1	12	10,5
6	1	798984	D	31	M	1	12	13,8
6	2	791213	D	31	M	2	10	9,1
6	3	798975	D	31	M	1	11	10,4
6	4	798990	R	31	M	1	12	14
6	5	789073	R	31	M	1	13	15,2
6	6	794801	R	31	M	2	12	11,5
6	7	770683	D	32	M	1	14	16,2
6	8	67200	D	32	M	1	13	13
6	9	798996	R	34	F	2	12	11,2
6	10	798997	D	34	M	1	14	16,1
6	11	762859	R	34	M	1	13	15,7
6	12	762234	R	34	M	1	14	15,3
6	13	794308	D	35	F	1	10	11,3
6	14	799000	D	35	F	1	12	11,9
6	15	798999	R	35	F	2	11	11,4
6	16	799001	R	35	F	1	13	13,7
6	17	799002	D	35	M	1	14	13,4
6	18	799003	D	35	M	1	13	12,5
6	19	798943	D	36	M	1	14	14,2
6	20	798854	D	36	M	1	13	14,3
6	21	798841	R	37	F	2	11	12,7
6	22	799069	R	37	M	1	12	7,9
6	23	799070	R	37	M	1	13	14,7
6	24	799072	R	38	F	2	10	10,8

6	25	799073	D	38	M	1	14	15,1
7	1	799075	R	39	F	1	12	13,2
7	2	799077	D	39	M	1	13	12,9
7	3	799074	R	39	M	1	14	13,3
7	4	799078	R	39	M	1	12	11,7
7	5	799079	R	40	F	2	11	11,8
7	6	799080	R	40	F	2	10	10,4
7	7	799081	R	40	F	2	11	11,7
7	8	799082	D	40	M	1	14	13,3
7	9	799076	D	40	M	1	12	12,9
7	10	799083	D	40	M	2	9	10,1
7	11	770286	R	40	M	1	12	15,2
7	12	798938	R	40	M	1	14	14
7	13	772197	R	40	M	1	14	17,4
7	14	799084	R	40	M	1	14	14,8
7	15	765528	R	41	F	2	12	11,9
7	16	799087	D	42	M	1	12	12,4
7	17	799086	D	42	M	1	14	15,4
7	18	799085	R	42	M	1	13	13,3
7	19	754597	R	42	M	2	12	10
7	20	72082	D	43	M	1	13	13,3
7	21	775682	R	43	M	1	13	13
7	22	64572	R	43	M	1	14	15,9
7	23	70883	D	44	F	1	12	12,7
7	24	799088	R	44	F	2	11	11,4
7	25	799092	D	44	M	1	14	15,3
8	1	799091	D	45	F	1	12	12
8	2	799107	D	45	M	1	12	14,1
8	3	784221	R	45	M	1	14	15,4
8	4	799108	R	45	M	1	14	13,8
8	5	799111	R	45	M	1	13	14,3
8	6	799110	R	45	M	1	13	15,3
8	7	758222	R	45	M	1	14	15
8	8	799113	D	46	M	1	14	14,4
8	9	799115	D	46	M	1	14	18
8	10	799118	R	46	M	1	12	10,5
8	11	799119	R	46	M	1	14	14,6
8	12	799121	R	46	M	1	13	13
8	13	799120	D	47	M	1	14	15,4
8	14	768602	D	50	M	1	14	13,7
8	15	784436	R	51	M	1	13	14,9
8	16	799122	D	55	M	1	14	15,8
8	17	770654	R	55	M	1	11	12
8	18	731351	D	57	M	1	14	14,8
8	19	799127	R	61	M	1	12	12,5
8	20	75725	AD	62	M	1	12	12
8	21	799128	R	64	M	1	12	11,2
8	22	795328	R	65	M	1	12	13,5
8	23	771045	AD	66	M	1	13	13,9
8	24	70116	AD	68	M	1	14	13,2
8	25	799132	AD	73	M	1	14	14,4