



**Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde:
Cardiologia e Ciência Cardiovasculares**

**Análise comparativa de dois métodos de mensuração de
glicose, colesterol e triglicerídeos: sangue venoso em
laboratório de bioquímica e sangue capilar em aparelho portátil
Accutrend GCT®.**

Dauana Pitano Eizerik

Orientador: Prof. Dr Paulo Dornelles Picon

Co-orientador: Prof. Dr Emilio Hideyuki Moriguchi

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre, agosto de 2012.

Dedicatória

Ao meu esposo e meu filho pelo amor capaz de superar todas as dificuldades.

Aos meus pais e aos meus irmãos que acreditam que eu posso tudo.

Aos meus sogros pelo apoio, carinho e tempo que dedicam ao neto nos
momentos de ausência da mãe.

A Salete, a quem confio o cuidado do meu mais precioso bem: meu filho.

Agradecimentos

Aos orientadores Prof. Paulo Picon e Prof. Emilio Moriguchi pelo exemplo profissional, apoio acadêmico e precioso tempo.

Ao Dr Andry Fiterman Costa pela amizade, motivação e revisão deste trabalho.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Cardiologia pela oportunidade de aperfeiçoamento em um programa de excelência.

À secretária e amiga Sandra Maria Schmaedecke pelo apoio administrativo no início deste estudo.

À secretária do PPG-Cardio Sirlei Reis pela agilidade, disponibilidade e carinho.

Aos acadêmicos e amigos André Fontoura Pereira da Silva, Bruna Pellini Ferreira e Paula Borges de Lima pelo apoio técnico-administrativo.

Aos amigos e colegas do Hospital Moinhos de Vento pelo apoio e incentivo.

Aos pacientes que participaram do estudo por sua disposição e tempo despendido.

Ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre por ter permitido a realização do estudo, viabilizando o acesso aos pacientes e áreas de coleta de exames.

À Dra Carmen Pilla pelas valiosas orientações na época da idealização deste estudo.

Ao Farmacêutico Carlos Alberto Ribeiro pelo apoio técnico.

Ao Laboratório do Serviço de Patologia Clínica do HCPA pelas análises realizadas.

Ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação pelo auxílio com as análises estatísticas.

Ao CNPq e ao FIPE/HCPA pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

1 REVISÃO DA LITERATURA.....	5
1.1 INTRODUÇÃO	5
1.2 TESTE LABORATORIAL PORTÁTIL OU POINT-OF-CARE TESTING	8
1.3 DIFERENÇA TÉCNICA ENTRE OS MÉTODOS ANALÍTICOS	9
1.4 ESTUDOS COMPARATIVOS.....	12
1.5 VALIDAÇÃO	16
2 JUSTIFICATIVA	18
3 OBJETIVO.....	19
4 REFERÊNCIAS	20
5 ARTIGO – VERSÃO PORTUGUÊS	24
6 ARTIGO – VERSÃO INGLÊS.....	42

1 Revisão da literatura

1.1 Introdução

A prática médica universal é baseada no princípio de prevenção nas suas três instâncias: primária, secundária e terciária. Embora nem sempre o primeiro estágio seja atingido, uma vez que se tenha uma doença diagnosticada, é mandatário o acompanhamento dos pacientes com vistas à prevenção de complicações e à melhora da qualidade de vida, buscando sempre o tratamento precoce.

Nesse contexto, o diagnóstico das doenças e dos seus fatores de risco é fundamental para a prática médica. Vários marcadores biológicos são utilizados não somente para o diagnóstico dessas situações, mas também para orientar as metas de tratamento consideradas ideais para o seu manejo. As doenças como o diabetes mérito e a dislipidemia são exemplos típicos: necessitam de mensuração de marcadores biológicos (glicemia ou hemoglobina glicada no caso do diabetes e colesterol total com as suas frações e triglicerídeos no caso da dislipidemia) para o seu diagnóstico e também para estabelecer as metas de tratamento.

A mensuração desses marcadores biológicos fornece dados fundamentais não somente no diagnóstico, mas também na avaliação clínica dos pacientes possibilitando classificá-los em grupos de risco para determinar objetivamente o melhor tratamento, o intervalo entre as consultas e o momento adequado de intervir.¹ Em diabetes, a monitorização da glicemia é um dos principais meios de avaliação para tratamento do paciente a fim de minimizar as complicações que níveis sustentados de hiperglicemia podem trazer como retinopatia, nefropatia e neuropatia periférica, além do risco cardiovascular associado à doença arterial coronariana². Da mesma forma, o controle da dislipidemia pode ser evidenciado através da avaliação do perfil lipídico do paciente. Isso inclui a dosagem do colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol e triglicerídeos, dados importantes para a decisão terapêutica e para o seguimento da evolução da doença, com vistas à prevenção da ocorrência, principalmente, de eventos coronarianos agudos pela doença aterosclerótica¹.

As técnicas convencionais de análise de amostras de sangue venoso em laboratório fornecem resultados confiáveis, mas podem incorrer em demora de viabilidade do resultado tanto por questões relacionadas à técnica empregada quanto à dinâmica do serviço. Esse fato pode retardar a tomada de decisão médica e o início ou à modificação do tratamento, o que pode ser crucial na tentativa de evitar o desencadear de um evento potencialmente fatal³.

Uma alternativa tecnológica surgida há tempos, mas com avanços significativos nos últimos anos, foram os testes capilares ou *point-of-care testing (POCT)*. Embora possam ter um custo maior, comparativamente à análise laboratorial devido à demanda populacional desta⁴, apresentam benefícios econômicos amplamente reconhecíveis pelo acesso mais rápido a recursos médicos quando ocorre um episódio como um evento vascular agudo⁵, pela redução do tempo de hospitalização e por auxílio na triagem das emergências hospitalares. São alternativas para a mensuração em consultório ou a beira do leito quando a obtenção rápida de resultados aumenta a efetividade do atendimento em saúde e isso é evidenciado em doenças como diabetes e dislipidemia. O conhecimento dos níveis de glicose, colesterol e triglicerídeos no momento da consulta servindo de instrumento de educação do paciente e oportunizando o reforço para adesão ao tratamento é muito importante, principalmente, quando não há sinais e sintomas evidentes para mostrar a eficácia do tratamento⁶. Em longo prazo, um dos benefícios sociais é a portabilidade do aparelho, que não limita o paciente em termos de perder dias de trabalho pela necessidade de realizar exames laboratoriais de rotina.

É importante destacar que a acurácia nas determinações bioquímicas nas amostras de sangue seja venoso ou capilar depende da variação analítica, que se refere à metodologia empregada pelo laboratório ou pelo aparelho de teste capilar para avaliar a amostra quanto aos indicadores bioquímicos solicitados. A acurácia, também, depende da variação pré-analítica, relacionada ao preparo da amostra, que em ambos os testes têm, parcialmente, dependência do treinamento de quem coleta a mesma^{1,7}. A validação do método capilar tem sido buscada através de comparações com o padrão laboratorial pré-existente. Os primeiros estudos mostraram uma boa correlação na precisão e exatidão de valores de lipídeos^{7,9}, assim como os de glicose^{8,9}, contudo, existem evidências mostrando que os resultados dependem do treinamento dos profissionais que

executam os testes¹⁰, com conseqüente necessidade de capacitação prévia¹¹. Portanto, mais estudos ainda necessitam ser realizados buscando analisar comparativamente a dosagem capilar de glicose, colesterol e triglicerídeos no sangue com o exame laboratorial padrão, para elucidar a efetividade da introdução desse método de acompanhamento de um tratamento clínico.

A diferença entre métodos analíticos gera a necessidade de equivalência de confiabilidade e para isso se utiliza um processo de validação. Esse processo é a garantia experimental de que o método é adequado à finalidade proposta e assegura a confiabilidade dos resultados¹².

Na atenção primária, o seguimento farmacoterapêutico que se caracteriza pelo acompanhamento do paciente e avaliação da terapia farmacológica incluindo plano para obtenção de metas, orientação, monitorização de efetividade e prevenção de eventos adversos, tem sido complementado com o uso de aparelhos analíticos portáteis do tipo *point-of-care* para acompanhamento dos parâmetros laboratoriais¹³. E medições de lipídeos no plasma tem sido amplamente utilizadas para o rastreamento e controle de dislipidemias e os dispositivos portáteis facilitam estas análises, o que corrobora a afirmação de que os resultados devem ser comparáveis com os dos métodos de referência.¹⁴

Com a difusão do trabalho em equipes multidisciplinares, alguns guias de tratamento clínico já foram desenvolvidos incluindo a atuação do profissional farmacêutico no cuidado e seguimento da terapêutica.¹⁵⁻¹⁹

Uma análise de subgrupo deste estudo foi realizada avaliando pacientes com e sem diabetes. Tal análise demonstrou que o benefício da atenção farmacêutica, no manejo do colesterol, foi maior para os pacientes diabéticos do que para os não diabéticos.²⁰

No estudo realizado por Lee e colaboradores em 2006, um programa de Atenção Farmacêutica foi implementado e resultou no aumento da adesão terapêutica com melhora dos parâmetros clínicos. Entretanto, a descontinuação do programa foi associada a decréscimo na adesão e continuidade do tratamento o que permite inferir que existe uma necessidade de educação contínua dos pacientes em tratamentos crônicos.²¹

Alguns programas de seguimento farmacoterapêutico contemplam o uso de instrumentos como os testes portáteis para triagem e acompanhamento de pacientes de maneira a agilizar a otimização terapêutica.^{22, 23}

1.2 Teste laboratorial portátil ou *Point-of-Care Testing*

Teste laboratorial portátil, também denominado Teste Laboratorial Remoto se caracteriza por ser realizado por meio de um equipamento laboratorial situado fisicamente fora da área de um laboratório clínico.²⁴

A tecnologia dos testes portáteis tem evoluído muito, no passado tínhamos apenas tiras reativas para mensurar pH, depois vieram os testes de gravidez e, atualmente existe uma variedade de testes inclusive do tipo *fingerstick* que são os testes que utilizam sangue capilar (figura 1) para o doseamento de marcadores biológicos.²⁵

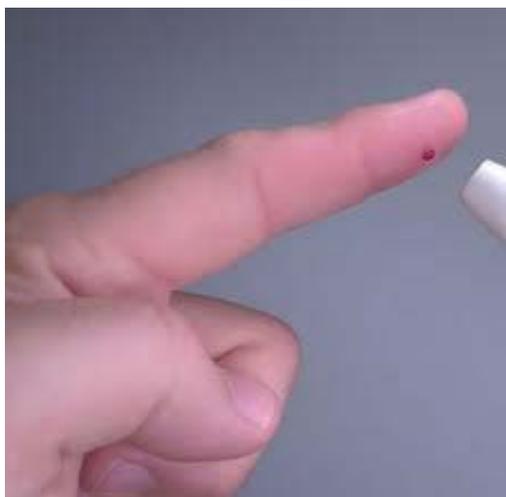


Figura 1: Punção digital (sangue capilar)

Um dos benefícios desses testes, além da portabilidade e do uso de química seca, é realizar a análise gerando um resultado rápido de forma que o tratamento apropriado possa ser implementado imediatamente para melhorar uma situação clínica.²⁶

A determinação dos parâmetros é realizada por um método reflectométrico e com diferentes tiras reativas que têm a vantagem de simplificar e tornar mais cômoda a detecção e o seguimento da

hipercolesterolemia ao realizar a mensuração com uma gota de sangue capilar, em poucos minutos e durante a consulta médica.^{27, 28}

Outro fator é a facilidade de operação do sistema que pode ser utilizado pelo paciente para monitorar seu próprio nível de triglicerídeos em resposta a mudanças no estilo de vida como reeducação alimentar, exercícios físicos e esquemas terapêuticos adotados. A monitorização regular de triglicerídeos, assim como a da glicose, pode ajudar a conscientizar os pacientes da repercussão do estilo de vida na sua situação metabólica.²⁹

Esses testes estão sendo utilizados para rastreamento de pacientes em projetos de saúde pública³⁰ e em estabelecimentos privados para acompanhamento de pacientes fidelizados a um programa de seguimento farmacoterapêutico.^{13, 31}

Com a análise do sangue monitora-se a glicemia e o perfil lipídico, sendo possível otimizar a decisão terapêutica de forma a minimizar as complicações no Diabetes e controlar a evolução da dislipidemia, com vistas à prevenção da ocorrência, principalmente, de eventos coronarianos agudos pela doença aterosclerótica.

1.3 Diferença técnica entre os métodos analíticos

Os métodos analíticos de referência para dosar glicose, colesterol e triglicerídeos no sangue, no Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, utilizam princípio enzimático-colorimétrico cuja absorbância, medida da luz absorvida, é mensurada determinando a concentração do analito na amostra.

Para análise da glicemia, o método utilizado é a Glicose Hexoquinase. A glicose é fosforilada pela adenosina trifosfato (ATP) na presença da hexoquinase. A glicose-6-fosfato que se forma é oxidada na presença da glicose-6-fosfato desidrogenase, originando a redução da NAD a NADH. A absorbância da NADH é medida como uma reação de ponto final a 340/410 nm.³²

Para a determinação da colesterolemia, o método em vigor utiliza a conversão de colesterol esterase e colesterol oxidase, seguida de um ponto

final do tipo Trinder. Os ésteres de colesterol são hidrolizados pela enzima colesterol esterase em colesterol e ácidos graxos livres. O colesterol é convertido em colest-4-en-3-ona pela enzima colesterol oxidase na presença de oxigênio para formar peróxido de hidrogênio. Um complexo corado é formado a partir do peróxido de hidrogênio, da 4-aminoantipirina e do fenol sob a influência catalítica da peroxidase. A absorbância do complexo é lida como uma reação de ponto final a 505/694 nm.³³

A trigliceridemia é dosada por método que se baseia na reação enzimática de três fases de Fossati com um ponto final do tipo Trinder. Os triglicerídeos são convertidos em glicerol e ácidos graxos livres pela lipase. Após isso, o glicerol é convertido em glicerol-3-fosfato pela enzima glicerol quinase, seguindo-se a sua conversão pela enzima glicerol-3-fosfato oxidase em peróxido de hidrogênio. Um complexo corado é formado a partir do peróxido de hidrogênio, da 4-aminofenazona e 4-clorofenol sob a influência catalítica da peroxidase. A absorbância do complexo é lida como uma reação de ponto final a 505/694 nm.³⁴

O Accutrend GCT[®] é um fotômetro de reflectância, mede a luz refletida em uma superfície (figura 2). Portanto, faz a medição da glicose, colesterol e triglicérides através da intensidade de cor que é formada na tira teste após reação química.³⁵



Figura 2: Aparelho Accutrend[®] GCT e tiras reagentes.

Para a determinação da glicemia no sangue capilar, na tira reagente, ocorre uma reação glicoseoxidase-mediador. A faixa de medição do aparelho é de 20 a 600 mg/dL e o tempo de reação para leitura do resultado é de 12 segundos.

Conforme manual do fabricante³⁵, as seguintes situações podem interferir com a reação de detecção de glicose levando a falsas leituras: substâncias oxidantes como o peróxido de hidrogênio, contido em alguns desinfetantes da pele (resultado baixo); infusão intravenosa de ácido ascórbico (resultado elevado); concentrações de bilirrubina superiores a 10 mg/dl; níveis de hematócrito superiores a 55%; tratamento com diálise e hiperlipidemia aguda. No caso de desidratação grave causada por um estado de hiperglicemia hiperosmolar com ou sem cetoacidose (hipotensão, coma), ou doença vascular periférica (Síndrome de Raynaud) a medição da glicemia capilar pode ser muito mais baixa do que a efetuada em sangue venoso.

A colesterolemia no sangue capilar é determinada por desdobramento enzimático do éster de colesterol em ácidos graxos e colesterol, oxidação de colesterol em colesteno com formação simultânea de peróxido de hidrogênio que oxida a um indicador em seu cátion radical azul. A faixa de medição do aparelho é de 150 a 300 mg/dL e o tempo de reação para leitura do resultado é de 180 segundos.

O teste de colesterol pode sofrer interferência devido a: infusão intravenosa de ácido ascórbico; valores de bilirrubina superiores a 10 mg/dl; valores de hematócrito superiores a 55% e dipirona.

Os triglicerídeos são primeiro transformados por uma esterase em glicerol e ácidos graxos livres. Duas etapas enzimáticas convertem o glicerol em fosfato de hidroxí-acetona e peróxido de hidrogênio. Na presença de peroxidase, o peróxido de hidrogênio oxida-se, originando uma coloração, cuja concentração é finalmente determinada. A faixa de medição do aparelho é de 70 a 600 mg/dL e o tempo máximo de reação para leitura do resultado é de 174 segundos.

A reação de detecção de triglicerídeos pode ser alterada por: ingestão de doses elevadas de preparados com ácido ascórbico; injeção intravenosa de ácido ascórbico; triglicerídeos muito elevados (acima do intervalo de determinação de 600 mg/dl); hematócrito superior a 55%; clordiazepóxido;

nitrofurantoína; sulfametoxazole; trimetoprim. Durante o tratamento com heparina e durante o jejum total, o glicerol livre na amostra pode levar a leituras de resultados elevados. A administração endovenosa de lipídeos (emulsões gordas na alimentação parentérica) também interfere na determinação.

1.4 Estudos comparativos

Greenland e colaboradores em 1990 ³⁶ avaliaram a concentração de colesterol em plasma de sangue capilar versus soro de sangue venoso em 108 voluntários que participaram de um programa de rastreamento de colesterol em Rochester, EUA. Todas as amostras foram analisadas pelo mesmo método enzimático em um laboratório padronizado e as concentrações de colesterol em sangue capilar foram mais elevadas do que as em venoso ($P < 0,0001$), com um viés positivo de 3,6% em média. No programa foi adotado um limite superior de 199 mg/dL (5,15 mmol/L) para o encaminhamento médico. Se um viés positivo dessa magnitude a partir de coleta de sangue por punção digital não fosse configurado, um número substancial de pessoas seria classificado como "em risco" e encaminhado aos médicos quando na verdade os valores estariam dentro da faixa aceitável de colesterol. O viés positivo do teste capilar versus resultado venoso foi atribuído, em parte devido ao preparo de amostras, embora uma diferença fisiológica entre concentrações de colesterol no sangue venoso e capilar também fosse provável. O estudo concluiu que devido à magnitude do viés encontrado este deveria ser considerado no desenvolvimento de protocolos para exames para rastreio de hipercolesterolemia.

Um estudo multicêntrico foi realizado em quatro centros clínicos, com um total de 584 amostras de sangue capilar, para mensurar imprecisão da determinação do colesterol no sangue capilar pelo Accutrend[®] GC frente ao método de análise do sangue venoso e avaliar a reprodutibilidade dos resultados, no aparelho portátil, utilizando três lotes diferentes de tira reagente. Foram avaliadas, também, as potenciais interferências no teste por triacilglicerol, bilirrubina e hematócrito. Os valores de colesterol foram distribuídos numa faixa de 3,21 a 15,41 mmol/L (124 a 596 mg/dL). Não houve interferência por triacilgliceróis até 10,28 mmol/L (900 mg/dL), pelo ácido úrico

de 60 a 400 $\mu\text{mol/L}$ (1mg/dL a 7 mg/dL), ou pelo hematócrito entre 35 e 54%. Os dados de imprecisão mostraram coeficientes de variações inferiores a 5%. A diferença sistemática dentro do método foi de + 2,5% a -3,2%, dependendo do lote de tira. Dessa maneira, avaliaram o aparelho portátil como confiável.³⁷

Em outro estudo foram avaliados precisão e exatidão na análise de colesterol através de sangue capilar com Accutrend[®]GC em duas medidas subsequentes. Uma amostra de 104 sujeitos de pesquisa foi estudada para detecção de hipercolesterolemias estratificando os valores em três grupos: >149 mg/dL e <199 mg/dL (n=27); >199 mg/dL e <249 mg/dL (n=59); e ≥ 250 mg/dL (n=18). Foi observado que em todos os intervalos as diferenças médias foram inferiores no aparelho portátil em relação ao método de referência. Com isso, foi concluído que o aparelho possuía boa exatidão e precisão para detectar hipercolesterolemia.²⁸

Em outra avaliação de aparelho tipo *point-of-care* Accutrend[®] GCT para monitorização de triglicerídeos capilar, a média \pm SD para TG capilar foi maior ($2,36 \pm 1,08$ mmol/L) do que a média do resultado laboratorial ($2,26 \pm 1,07$ mmol/L) (P = 0,004). O coeficiente de correlação total foi de 0,935. Os resultados encontrados no aparelho portátil, embora superiores aos obtidos pela metodologia padrão, o que poderia refletir diferenças entre as amostras de sangue capilar e venoso, não diferiram o suficiente para ter relevância clínica.³⁸

Em um ensaio para avaliação da medida de triglicerídeos por teste capilar Accutrend[®] T comparado com teste padrão em sangue venoso, foram coletadas amostras de sangue em estado de jejum e pós-prandial de indivíduos com hiperlipidemia e/ou diabetes tipo 2 e saudáveis. Foram analisadas 473 amostras de sangue capilar. O coeficiente de correlação (r) foi 0,972. A média das diferenças entre os métodos foi $0,94\% \pm 12,91\%$. Os resultados dos testes capilares ficaram dentro do IC 95% de -24.9% a 26.7% na comparação entre os métodos. No entanto, o erro total da comparação foi acima dos limites de 15%, como recomendado pelo National Cholesterol Education Program (NCEP). A magnitude do erro total foi parcialmente atribuída a diferenças no intervalo de concentração abaixo de 2 mmol/L, o que na, maioria dos casos, não teria qualquer relevância clínica. Nesse estudo observou-se que o aparelho portátil não substitui o método referência, mas permite aos profissionais testar pacientes de imediato e com confiabilidade aceitável quando respostas rápidas

são necessárias em relação ao estado metabólico do paciente ou sua resposta às medidas terapêuticas. O aparelho foi considerado tecnicamente confiável porque os valores obtidos ficaram dentro da faixa de controle estabelecido pelo fabricante.²⁹

Um estudo que avaliou a concordância na determinação de triglicerídeos encontrou valores mais altos de concentrações na determinação capilar com Accutren[®] GCT do que com a metodologia tradicional (116,5 mg/dl e 86,0 mg/dl; $p < 0,001$), mas com uma excelente correlação ($r = 0,95$; $p < 0,001$). Os autores propuseram uma equação de regressão para estimar os valores de triglicerídeos no sangue a partir de uma determinação capilar. Essa equação foi composta pelo valor de triglicerídeos capilar multiplicado por um fator de correção de 0,837 para homens e 0,698 para mulheres.³⁹

O desempenho analítico de colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG) foi avaliado em três diferentes sistemas portáteis, sendo 101 amostras para colesterol e 102 para triglicerídeos analisadas usando aparelhos Accutrend[®] e 109 usando CardioChek[®]. Para colesterol total o erro total com base no material de controle foi de 8,5% para Accutrend[®] Plus, 8,9% para Accutrend[®] GCT e 25,1% para CardioChek[®]. Para TG, o erro total foi de 10,3% para Accutrend[®] Plus, 6,9% para Accutrend[®] GCT, e 14% para CardioChek[®]. Para HDL-c, o erro total de CardioChek[®] foi de 18,4%. Para o LDL-c, a previsão de viés para CardioChek[®] foi de 32,5% em 2,59 mmol/L. Todos os três dispositivos classificaram corretamente uma alta porcentagem de pacientes dislipidêmicos. No entanto, CardioChek[®] classificou 48% dos pacientes normolipêmicos como hipercolesterolêmicos. Em conclusão, embora CardioChek[®] pudesse ser válido para as determinações de TG e HDL-c, claramente superestimou o CT e o LDL-c. Por outro lado, os dispositivos Accutrend[®] são úteis para medições de CT e TG e podem ser adequados para o rastreamento e controle de dislipidemia.¹⁴

A concordância entre os resultados de testes tipo *point-of-care* Cholestech[®] LDX e laboratório tradicional para colesterol e triglicerídeos foi investigada em um estudo com 765 pacientes. Para colesterol total, o viés foi estimado em - 0,28 mmol/L (95% IC -0,37 a -0,20, $p < 0,0001$) e 95% limites de concordância foram (-1,04 e 0,48 mmol/L). Um gráfico das diferenças nos resultados versus a concentração média de triglicerídeos sugeriu que a variância das diferenças

não era constante em toda a faixa de medição e as diferenças foram enviesadas positivamente. A transformação logarítmica dos dados não resolve esses problemas e, portanto, uma abordagem não-paramétrica foi adotada. A diferença média foi de 0,07 mmol/L e os percentis 2,5 e 97,5 eram -0,40 e 2,04 mmol/L, respectivamente. O estudo ressalta que a aceitabilidade clínica da variação entre POCT lipídico e os resultados dos testes de laboratório são discutíveis.⁴⁰

Um ensaio recente estudou a reprodutibilidade, acurácia e concordância para o perfil lipídico em 61 adultos (27 homens e 34 mulheres com idade média de 33 anos). Concentrações capilares de colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG), em jejum, foram avaliadas pelo Accutrend[®] Plus e comparadas com seu análogo venoso obtido por método de referência em laboratório. Amostragem capilar complementar foi realizada em dois dias consecutivos, considerando a ingestão dos macro-nutrientes. A reprodutibilidade do dia-a-dia do sistema Accutrend[®] Plus mostrou-se elevado para colesterol (ICC = 0,85, P <0,001), mas moderada para triglicerídeos (ICC = 0,68, P <0,001). Fortes correlações ($r \geq 0,80$, P <0,001) com o método de referência foram encontradas para CT e TG. A média de diferença (limites de concordância) foram 0,26 mmol /L (-0,95 e 1,47) para o CT, e -0,16 mmol /L (-1,29 e 0,98) para TG. A concordância de classificação de risco de acordo com o preconizado pelo National Cholesterol Education Program (NCEP) foi significativa (P <0,001), com concordância substancial para CT ($\kappa_w = 0.67$) e concordância moderada para TG ($\kappa_w = 0.50$). Esse estudo concluiu que o dispositivo Accutrend[®] Plus não deve ser usado em substituição aos métodos padrão de laboratório para o diagnóstico da hiperlipidemia, pois a reprodutibilidade dia-a-dia do dispositivo para CT e TG não foi ideal, apresentou baixa precisão, quando comparado ao método laboratorial de referência e a concordância entre os dois métodos para classificar indivíduos de acordo com o NCEP foi inadequada.⁴¹

1.5 Validação

Validação pode ser definida como um conjunto de ações para verificar a prestação de um método, necessitando para isso alguns parâmetros.⁴²

Na prática, a validação analítica de rotina em laboratórios clínicos consta de três passos primordiais. Primeiro: a avaliação de imprecisão do método em estudo através de estudos de replicação intra-ensaio e/ou inter-ensaio para obter dados estatísticos de imprecisão (média, desvio padrão, coeficiente de variação), caracterizando o nível de erro aleatório do método avaliado. Segundo: corresponde à avaliação de inexatidão do método em estudo comparando o método sob avaliação frente a um método de referência para o analito a ser determinado, selecionando amostras em diferentes níveis de concentração do analito para serem processadas pelos 2 métodos. As concentrações obtidas para as amostras nos dois métodos são utilizadas para obter um modelo de regressão linear. A diferença entre as concentrações fornece a inexatidão do método (erro sistemático). Terceiro: é a partir do erro aleatório e do erro sistemático, avaliar o erro total do método (imprecisão + inexatidão) frente às especificações de qualidade disponíveis em literatura.⁴³

Sem uma legislação específica para aparelhos *point-of-care*, a norma NBR ISO/ IEC 17025 que aborda validação e confirmação de métodos pode ser utilizada. Nessa norma consta que validação de um método compreende um conjunto de ações para verificar se os requisitos para um determinado uso são atendidos e, dessa forma, alguns parâmetros devem ser estudados como: aplicabilidade, precisão para avaliar a repetitividade e reprodutibilidade dos resultados e exatidão para avaliar a concordância entre os valores encontrados e o verdadeiro.^{12, 42}

Conforme o procedimento operacional padrão BIO78⁴⁴ instituído no Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (SPC-HCPA) os procedimentos para o emprego de uma nova metodologia devem incluir um estudo de validação, devidamente documentado. No protocolo, além da necessidade de analisar a aplicabilidade do método (equipamento, segurança, tempo de ensaio, tipo e volume de amostra, valores de referência, sensibilidade e especificidade) e da busca na literatura científica sobre o uso da metodologia,

destacam-se os experimentos obrigatórios como definição do erro permitido e análise de material fresco.

Para a definição do erro total e analítico permitido é preconizado a revisão da literatura e recomendações de órgãos nacionais e internacionais reconhecidos.

Conforme as orientações, o material utilizado nos experimentos deve ser obrigatoriamente, amostra biológica fresca, obtida no próprio laboratório, para garantia da similaridade de matriz proteica.

Para a medida do erro aleatório, deve ser realizado o teste de variação intra-ensaio e inter-ensaio. Para o teste intra-ensaio, devem ser analisadas de 10 a 15 vezes uma mesma amostra em uma mesma corrida ou dia. Com isso, calcula-se média, desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV). Para o teste de variação inter-ensaio deve-se separar duas amostras com material suficiente para realizar 20 dosagens: uma com valor normal e outra com valor patológico. Aliquotar o material em 20 tubos, cada tubo com quantidade suficiente para uma análise, nas condições de armazenamento recomendadas pelo fabricante. Analisar as alíquotas em 20 dias diferentes, seguindo os procedimentos de rotina estabelecidos no laboratório. Repetir a análise quando a corrida estiver fora dos limites de aceitação do controle interno. Com os resultados obtidos, calcular a média, DP e CV.

Para a realização da concordância entre métodos, analisar, no mínimo, 40 amostras pelo método de rotina em uso no laboratório e pelo método a ser validado, em um período mínimo de cinco dias (cinco corridas separadas em dias diferentes). As concentrações das amostras devem cobrir todo o intervalo de análise do método e devem ser distribuídas da seguinte maneira: 1/3 amostras patológicas baixas, 1/3 amostras normais e 1/3 amostras patológicas altas.

Determinar a correlação e regressão linear entre os métodos (X = método referência, Y = método testado). Calcular a diferença entre os métodos para cada amostra, calcular a média das diferenças (n=40) e o DP. Determinar os limites de concordância entre os métodos.

Na análise dos resultados deve-se calcular o erro analítico total, comparar os erros obtidos com aqueles definidos e para o método ser aceito, os valores de CV intra e inter-ensaio devem estar dentro dos limites

preconizados, por órgãos nacionais e/ou internacionais, para o analito e método que está sendo analisado. Os erros proporcionais e/ou sistemáticos detectados no estudo comparativo não poderão ultrapassar 5% para os analitos bioquímicos e 10% para os testes de atividade enzimática. Para analitos que possuem maior variação e um erro permitido maior (drogas, hormônios), podem ser aceitas diferenças > 10%.

O protocolo recomenda que a análise do erro/diferença deva estar sempre vinculada ao significado clínico da diferença.

2 Justificativa

As doenças e fatores de risco cardiovasculares, em especial a dislipidemia, possuem características que sugerem a necessidade de acompanhamento sistemático no seu tratamento. Isso porque estão relacionadas ao estilo de vida das pessoas afetadas; existe diversos fármacos empregados de eficácias variadas com custos elevados; o controle laboratorial é a ferramenta de seguimento da terapia; a prevenção é um mecanismo eficaz para evitar o desenvolvimento da doença e a atuação de uma equipe multiprofissional pode contribuir para o sucesso das intervenções.

Em Atenção Farmacêutica, a orientação visa o conhecimento sobre a doença e seu tratamento para que o paciente sintá-se ativo e responsável por seu cuidado.^{45,46} A orientação verbal com esclarecimento de dúvidas e a apresentação dos resultados dos parâmetros laboratoriais têm por objetivo motivar o paciente a cumprir o tratamento médico de forma adequada aos objetivos terapêuticos. Com isso, o aparelho portátil do tipo *point-of-care* é uma ferramenta útil que confere rapidez às análises de glicose, colesterol e triglicerídeos, mas precisa ser avaliado quanto à sua confiabilidade.

3 Objetivo

Avaliar o grau de correlação entre o resultado de testes capilares de glicose, colesterol e triglicerídeos com o aparelho Accutrend GCT[®], realizado por farmacêutico capacitado, com o seu equivalente laboratorial no sangue venoso, em um hospital universitário que possui técnicas validadas e certificadas de análise laboratorial para esses exames.

4 Referências

1. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção de Aterosclerose, Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol* 2007; 88(supl. I):1-18.
2. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, 2012 v 35, supl 1.
3. Kendall J., Barbany R., Clancy M. Point of care testing: randomized controlled trial of clinical outcome. *BMJ* 1998; 316:1052-1057.
4. Grieve R, Beech R, Vincent J, Mazurkiewicz, J. Near patient testing in diabetes clinics: appraising the costs and outcomes. *Health Technol Assess* 1999; 3:1-74.
5. Fuentes B., Castillo J., José B. S., Leira R., Serena J., Vivancos J., Dávalos A., Nuñez A. G., Egido J., Díez-Tejedor E. The Prognostic Value of Capillary Glucose Levels in Acute Stroke: The Glycemia in Acute Stroke (GLIAS) Study. *Stroke* 2009;40(2): 562-568.
6. Price C. P. Regular Review: Point of care testing. *BMJ* 2001; 322:1285-1288.
7. Issa J. S., Strunz C., Giannini S. D., Forti N., Diament J. Precisão e Exatidão das Dosagens de Lípides Sanguíneos em Equipamento Portátil (Cholestech -LDX). *Arq Bras Cardiol* 1996; 66(6):339-342.
8. Marley J. V., Davis S., Coleman K., Hayhow B. D., Brennan G., Mein J. K., Nelson C., Atkinson D., Maguire G. P. Point-of-care testing of capillary glucose in the exclusion and diagnosis of diabetes in remote Australia. *MJA* 2007; 186:500-503.
9. Shemesh T., Rowley K. G., Shepard M., Piers L. S., O'Dea K. Agreement between laboratory results and on-site pathology testing using Bayer DCA2000+ and Cholestech LDX point-of-care methods in remote Australian Aboriginal communities. *Clinica Chimica Acta* 2006; 367:69-76.
10. Plessis M., Ubbink J. B., Vermaak W. J. H. Analytical Quality of Near-Patient Blood Cholesterol and Glucose Determinations. *Clinical Chemistry* 2000; 46(8):1085-1090.
11. CLSI C30-A2, Point-of-Care Blood Glucose Testing in Acute and Chronic Care Facilities. Approved Guideline - Second Edition, 2002.
12. Albano F.M., Rodriguez M. T. R. Validação e Garantia da Qualidade de Ensaio Laboratoriais. Porto Alegre: Rede Metrológica RS, 2009.
13. Paulos CP, Nygren CE, Celedon C, Carcamo CA. Impact of a pharmaceutical care program in a community pharmacy on patients with dyslipidemia. *Ann Pharmacother* 2005; 39(5):939-943.

14. Méndez-González J, Bonet-Marqués R, Ordóñez-Llanos J. Lipid Profile in Ambulatory Subjects Using 3 Point-of-Care Devices and Comparison With Reference Methods. *Point of Care: The Journal of Near-Patient Testing & Technology* 2010;9:102-7.
15. Picon PD, Polanczyk CA, Amaral KM, Moriguchi EH. Dislipidemias em pacientes de alto risco de desenvolver eventos cardiovasculares. In: Ministério da Saúde, Secretaria da Saúde, editors. *Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas: Medicamentos Excepcionais*. Brasília: Ministério da Saúde, 2002: 125-146.
16. Tuneu, L, Gastelurrutia, MA, Fernández-Llimós, F. Guía de seguimiento Farmacoterapéutico sobre dislipidemias. Grupo de Investigación em Atención Farmacéutica - Universidade de Granada, 2003. Disponível em: http://www.atencionfarmaceuticaugr.es/index.php?option=com_remository&Itemid=62&func=startdown&id=26 Acesso em: 09/12/2011.
17. Murillo MD, Tuneu L, Fernández-Llimós, F. Guía de seguimiento Farmacoterapéutico sobre diabetes. Grupo de Investigación em Atención Farmacéutica - Universidade de Granada, 2004. Disponível em: http://www.atencionfarmaceuticaugr.es/index.php?option=com_remository&Itemid=62&func=startdown&id=27 Acesso em: 12/12/2011.
18. Amariles P, Machuca M, Sabater-Hernández D. Actuacion Farmacéutica en Prevención Cardiovascular. Grupo de Investigación em Atención Farmacéutica - Universidade de Granada, 2006. Disponível em: http://www.atencionfarmaceuticaugr.es/index.php?option=com_remository&Itemid=62&func=startdown&id=53 Acesso em: 12/12/2011.
19. RESOLUÇÃO nº 499 de 17 de dezembro de 2008. Dispõe sobre a prestação de serviços farmacêuticos, em farmácias e drogarias, e dá outras providências.
20. Simpson SH, Johnson JA, Biggs RS, Tsuyuki RT. Greater effect of enhanced pharmacist care on cholesterol management in patients with diabetes mellitus: a planned subgroup analysis of the Study of Cardiovascular Risk Intervention by Pharmacists (SCRIP). *Pharmacotherapy* 2004; 24(3):389-394.
21. Lee JK, Grace KA, Taylor AJ. Effect of a pharmacy care program on medication adherence and persistence, blood pressure, and low-density lipoprotein cholesterol: A randomized controlled trial. *JAMA*. 2006; 296: 2563-71.
22. Anabuki FY, Tronchini EA, Funayama AS, Bazotte RB. O papel do farmacêutico na farmácia comunitária na educação do paciente portador de dislipidemias. *Infarma*, v.16, nº 13-14, 2005.
23. Amariles P, Faus Mj, Jiménez-Martín J, Sabater-Hernández D, García-Jiménez E. Efecto del Método Dáder de Seguimiento Farmacoterapéutico en el riesgo cardiovascular de pacientes con factores de riesgo o

enfermedad cardiovascular (EMDADER-CV): Métodos y resultados globales. 2008. Disponível em: <http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/416.pdf>
Acesso em: 08/01/2012.

24. Resolução 302 de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. MS/ANVISA, Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, 14 out. 2005.
25. Parikh P, Mochari H, Mosca L. Clinical Utility of a Fingertick Technology to Identify Individuals With Abnormal Blood Lipids and High-Sensitivity C-Reactive Protein Levels. *Am J Health Promot.* 2009 ; 23(4): 279–282.
26. Price CP. Regular review - Point of care testing. *BMJ*, 2001, v 322: 1285-1288.
27. Aragonès Benaiges E. Evaluation of the Accutrend GC for cholesterol determination. *Aten Primaria* 1996;18:528-9.
28. Del Cañizo FJ, Froilán C, Moreira-Andrés MN. Precision and accuracy of the measurement of total cholesterol using the reflectometer Accutrend GC. Usefulness in primary care for diagnosis of hypercholesterolemia. *Aten Primaria* 1996;17:463-6.
29. Luley C, Ronquist G, Reuter W, Paal V, Gottschling HD, Westphal S, et al. Point-of-care testing of triglycerides: evaluation of the Accutrend triglycerides system. *Clin Chem* 2000;46:287-91.
30. Moraes SA, Freitas IC, Gimeno SG, Mondini L. Prevalência de diabetes mellitus e identificação de fatores associados em adultos residentes em área urbana de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, 2006: Projeto OBEDIARP. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 26(5):929-941, mai, 2010.
31. Pilger D. Implementação de um programa de seguimento farmacoterapêutico a doentes diabéticos. In: I Simpósio Lusófono de Cuidados Farmacêuticos, 2006.
32. Glicemia: Glicose Hexoquinase II (GLUH). Austrália: Siemens Healthcare Diagnostics Inc., 2008. Bula.
33. Colesterolemia: Colesterol_2 (CHOL_2). Austrália: Siemens Healthcare Diagnostics Inc., 2009. Bula.
34. Trigliceridemia: Trigliceridos (TRIG). Austrália: Siemens Healthcare Diagnostics Inc., 2009. Bula.
35. Accutrend Roche Diagnóstica Brasil, 2008. Manual de Instruções.
36. Greenland P, Bowley NL, Meiklejohn B, Doane KL, Sparks CE. Blood cholesterol concentration: fingerstick plasma vs venous serum sampling. *Clin Chem* 1990;36:628-30.

37. Gottschling H-D, Reuter W, Ronquist G, Steinmetz A, Hattemer A. Multicentre evaluation of a non-wipe system for the rapid determination of total cholesterol in capillary blood, Accutrend[®] Cholesterol on Accutrend[®] GC. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995;33:373-81.
38. Moses RG, Calvert D, Storlien LH. Evaluation of the Accutrend GCT with respect to triglyceride monitoring. *Diabetes Care* 1996;19:1305-6.
39. Alegria Barrero A, Cordero Fort A, Moreno Arribas J, Rodríguez Manero M, Alegria Ezquerro E. Measurements of triglycerides in capillary blood: validation against whole blood measurements. *Med Clin (Barc)* 2009;133:375-8.
40. Gialamas A, Laurence CO, Yelland LN, Tideman P, Worley P, Shephard MD, et al. Assessing agreement between point of care and laboratory results for lipid testing from a clinical perspective. *Clin Biochem* 2010;43:515-8.
41. Scafoglieri A, Tresignie J, Provyn S, Clarys JP, Bautmans I. Reproducibility, accuracy and concordance of Accutrend[®] Plus for measuring circulating lipid concentration in adults. *Biochemia Medica* 2012;22(1):100–8
42. Leite, F. *Práticas de Química Analítica*. 4 ed. SP: Átomo, 2010.
43. Berlitz F. A. *Validação de Métodos Analíticos*. In: Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, 36, 2009. Porto Alegre. Disponível em: <<http://www.slideshare.net/publicacoesweinmann/validao-de-mtodos-analiticos>> Acesso em: 09/03/2012.
44. SPC-HCPA *Validação e Comparação de Métodos/kits Analíticos Quantitativos - BIO78 versão 1 - POP Institucional*.
45. Arancibia, A et al. *Fundamentos de Farmácia Clínica*. Santiago: Piade. Universidade de Chile, 1993.
46. Dader, M J. *Farmácia Clínica: conceitos, processos e casos práticos* / Dader, M J; Muñoz, P A; Martínez-Martínez, F; tradução e revisão Witzel, M D- SP: RCN Editora, 2008.

5 Artigo – versão português

Comparação entre medida capilar de glicose e lipídios (Accutrend GCT[®]) com metodologia referência.

Comparison between capilar glucose and lipides (Accutrend GCT[®]) and reference methodology.

Eizerik, DP¹; Lima, PB²; Ribeiro, CA³; Fontoura, A⁴; Ferreira, BP⁵; Costa, AF⁶; Moriguchi, EH⁷; Picon PD⁸

¹Farmacêutica Clínica do Hospital Moinhos de Vento. Mestranda em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

^{2,5} Acadêmica de Medicina pela UFRGS.

³ Farmacêutico Industrial e Bioquímico pela UFRGS; Especialista em Análises Clínicas pela PUCRS.

⁴ Acadêmico de Farmácia pela PUCRS.

⁶ Médico Hospital de Clínicas de Porto Alegre, mestre em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares pela UFRGS.

⁷ Professor Colaborador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares pela UFRGS. Pós-doutorado pela Wake Forest University School of Medicine.

⁸ Professor Associado de Medicina Interna e do Programa de Pós-Graduação em Cardiologia e de Clínica Médica da UFRGS. Doutor em Medicina/Cardiologia pela UFRGS.

Estudo realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil.

Endereço para correspondência:

Dauana Pitano Eizerik

Rua Henrique Dias, 182 / 301 – Porto Alegre, RS, Brasil – CEP: 90035-100.

E-mail: dauana.eizerik@gmail.com

Resumo

Introdução: A prática médica é baseada no princípio de prevenção e neste contexto o diagnóstico das doenças e seus fatores de risco são fundamentais. Marcadores biológicos são utilizados não somente para o diagnóstico, mas também para orientar as metas de tratamento. Uma alternativa para as técnicas laboratoriais convencionais, confiáveis, mas demoradas pelo processo de análise e rotina de serviço, são os aparelhos portáteis do tipo *point-of-care*, que utilizam uma tecnologia diferenciada que permite a obtenção de resultados rapidamente.

Objetivo: Avaliar o grau de correlação entre o resultado de testes capilares de glicose, colesterol e triglicerídeos (Accutrend[®]) com o seu equivalente laboratorial no sangue venoso, em um hospital universitário que possui técnicas validadas e certificadas de análise laboratorial para esses exames. **Metodologia:** Além dos testes de repetibilidade e reprodutibilidade realizados por análise repetidas de sangue venoso no aparelho Accutrend[®] GCT, foi realizado um estudo transversal para avaliar, num mesmo momento, resultados de análise de sangue capilar e venoso em uma amostra de 125 sujeitos de pesquisa. **Resultados:** Não se encontraram diferenças significativas entre os dois métodos. Obtiveram-se coeficientes de correlação indicando a existência de excelente correlação linear entre os métodos e na análise de Bland Altman obtivemos média das diferenças de 14,2 mg/dL para o analito glicose, 2,03 mg/dL para o colesterol e - 25,3 mg/dL para triglicerídeos. **Conclusão:** Os testes realizados no aparelho Accutrend[®] GCT, frente à metodologia referência, demonstraram que o aparelho portátil não apresenta variação significativa em relação ao método de referência, podendo ser utilizado durante acompanhamento de pacientes, não excluindo as avaliações periódicas com metodologia padrão.

Palavras-chaves: colesterol, triglicerídeos, estudos de validação.

Introdução

A utilização de marcadores biológicos na estratificação de risco e controle terapêutico é parte importante das boas práticas clínicas. Considerando a grande participação das doenças cardiovasculares na morbimortalidade mundial, a avaliação do risco destas doenças ganha destaque especial. Neste contexto, controle de glicemia e perfil lipídico estão, atualmente, entre os exames mais recomendados em diretrizes.^{1, 2, 3}

O adequado controle dos níveis de glicemia, colesterol e triglicerídeos tem sido recomendado devido a importância prognóstica.^{1, 4} Sua dosagem sérica em nível de saúde pública, no sistema público de saúde, é dificultada tanto pelo acesso aos exames quanto às consultas médicas, estas muitas vezes ocorrendo a intervalos até mesmo superiores a 6 meses. Desta forma, a existência de um método acurado que permitisse uma avaliação imediata destes marcadores, durante a própria consulta, poderia se traduzir numa melhoria da assistência.

Uma alternativa tecnológica com avanços significativos nos últimos anos foi o *point-of-care testing (POCT)* utilizando amostras de sangue capilar.^{5, 6, 7} A validação do método capilar tem sido buscada através de comparações com o padrão laboratorial pré-existente. Os primeiros estudos mostraram uma boa correlação na precisão e exatidão de valores de lipídeos^{8, 9} assim como os de glicose¹⁰, contudo, existem evidências mostrando que os resultados dependem do treinamento dos técnicos que executam os testes¹¹. Portanto, mais estudos ainda necessitam ser realizados buscando analisar comparativamente a dosagem capilar de glicose, colesterol e triglicerídeos no sangue com o exame laboratorial padrão para elucidar a efetividade da introdução desse método no acompanhamento de um tratamento clínico.

O objetivo do nosso estudo foi avaliar o grau de correlação entre o resultado de testes capilares de glicose, colesterol e triglicerídeos com o aparelho Accutrend GCT[®], realizado por farmacêutico capacitado, com o seu equivalente laboratorial no sangue venoso, em um hospital universitário que possui técnicas validadas e certificadas de análise laboratorial para esses exames.

Materiais e métodos

Foi desenhado um estudo transversal para avaliar, num mesmo momento, resultados de análise de sangue capilar e plasmático através dos métodos em estudo Accutrend[®] GCT, fotômetro de reflectância¹², e de referência. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e os sujeitos da pesquisa assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) aprovado pelo CEP.

Em uma primeira etapa foram realizados testes no Laboratório do Serviço de Patologia Clínica (SPC) do HCPA por farmacêutico especialista para avaliar a repetibilidade e reprodutibilidade dos resultados do aparelho Accutrend[®] GCT com amostras de sangue venoso, padronizadas, utilizando o aparelho conforme manual do fabricante.

Os testes de repetibilidade e reprodutibilidade (intra e inter-ensaio) foram realizados seguindo o protocolo de validação utilizado pelo SPC do HCPA.¹³ Para o teste intra-ensaio foram analisadas de 10 a 15 vezes uma mesma amostra de sangue total em um mesmo dia e para o teste de variação inter-ensaio foi separada uma amostra de sangue total com material suficiente para aliquotar em 20 tubos tipo Eppendorf, com quantidade suficiente para uma análise e armazenada à -20°C. As alíquotas foram analisadas em dias diferentes, seguindo os procedimentos de rotina estabelecidos no

laboratório.¹³ O coeficiente de variação (CV) encontrado entre as diferentes medidas deveria ser inferior ou igual ao especificado pelo fabricante.^{14, 15, 16}

Na segunda etapa do ensaio, a avaliação foi realizada no setor de coleta ambulatorial do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Uma amostra de 125 pacientes foi alocada, de forma seqüencial, e coletaram amostras de sangue venoso e capilar para testes de glicose, colesterol e triglicerídeos. Para serem incluídos no estudo, os sujeitos da pesquisa deveriam ter a solicitação médica para exames de glicose, colesterol e triglicerídeos e concordar em participar do estudo mediante leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os sujeitos da pesquisa coletaram sangue venoso normalmente seguindo os procedimentos de rotina do Hospital de Clínicas de Porto Alegre para análise no Laboratório do SPC e, logo após essa coleta, feita por profissional capacitado, coletou sangue capilar por profissional treinado com a técnica específica para análise no aparelho Accutrend[®].

Os métodos analíticos utilizados pelo SPC-HCPA para determinação dos analitos em estudo foram: Glicose Hexoquinase II para glicose e reação com ponto final tipo Trinder para colesterol e triglicerídeos. Esses métodos utilizam princípio enzimático-colorimétrico cuja absorbância é mensurada determinando, assim, a concentração do analito na amostra.^{17, 18, 19}

Realizamos o estudo seguindo o protocolo de validação e consideramos repetitividade o grau de concordância entre resultados de medições sucessivas de uma mesma amostra, efetuadas sob as mesmas condições de medição e reprodutibilidade o grau de concordância entre resultados das medições de uma mesma amostra, efetuadas sob condições variadas de aferição.

Para os testes de correlação e concordância, foram comparados os resultados obtidos no equipamento em estudo com a metodologia utilizada na época em que as amostras

foram processadas no Laboratório. Segundo o protocolo de validação do Serviço de Patologia Clínica (SPC) do HCPA, é necessário um número de no mínimo 40 amostras para cada parâmetro. Considerando $\alpha = 0,05$ e um poder de 80%, foi estimada uma amostra de 100 indivíduos + 20% pelo risco de perdas²⁰. O número amostral final estudado foi de 125 amostras.

Preparo das amostras

Para a realização dos testes de repetibilidade e reprodutibilidade foram preparadas alíquotas a partir de uma amostra de sangue total heparinizada e armazenada em tubos Eppendorf em freezer a temperatura de -20°C.

Controles

Os testes de repetibilidade e reprodutibilidade também foram realizados com as soluções controles, utilizadas para calibração do aparelho Accutrend®.

Os dados para realização do controle de qualidade do aparelho são fornecidos pelo fabricante nas bulas das soluções de controle e embalagens das fitas reagentes. Para o teste do analito glicose são utilizados dois controles: um referente a hipoglicemia denominado de nível I e outro referente a hiperglicemia denominado nível II e para os demais analitos (colesterol e triglicerídeos) utiliza-se apenas um controle nível I para realizar a calibração do aparelho Accutrend®. Para as soluções controles utilizadas no estudo, a referência do fabricante de intervalo de concentrações para glicose nível I = 55 – 95 mg/dL e nível II = 153 – 219 mg/dL, para colesterol nível I = 169 – 214 mg/dL e para triglicerídeos nível I = 272 – 372 mg/dL. O bom funcionamento do aparelho é confirmado quando todas as soluções são mensuradas dentro do intervalo preconizado.

Análise estatística

Para estabelecer a correlação entre os métodos, os dados foram analisados no programa *Validator*[®], que calcula a média, o desvio padrão, e o coeficiente de correlação de Pearson (**r**).

Foram calculados especificidade, sensibilidade e valor preditivo e acurácia²¹, utilizando o *software* Win Pepi versão 2.27, estabelecendo os pontos de corte a partir dos limites de normal e alterado: glicose: de 60 a 110 mg/dL considerada normal e abaixo ou acima desses valores alterada; colesterol: até 200 mg/dL aceitou-se como normal e acima como alterado e triglicérides: até 150mg/dL foi considerado normal e acima como alterado. A linearidade foi avaliada pelo Coeficiente de correlação de Pearson e a seguir realizada análise de Bland-Altman,^{22, 23} no *software* R²⁴ versão 2.14.1.

Variáveis quantitativas foram descritas através de média e desvio padrão. Para comparar as variáveis quantitativas entre os grupos foi utilizado o teste T- *Student* para amostras independentes. Para a comparação dessas mesmas variáveis intra-grupo, foi aplicado o teste T- *Student* para amostras pareadas.

Fontes de financiamento

Os aparelhos *point-of-care* e lancetadores foram adquiridos com verba do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e os suprimentos (soluções controles, fitas reagentes e lancetas) foram adquiridos com verba do Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE/HCPA).

Resultados

Os testes de repetibilidade foram realizados no mesmo dia sendo denominados análise intra-ensaio. O coeficiente de variação obtido para a glicose foi de 1,50%, para o colesterol 1,15% e para triglicerídeos 1,35%.

A reprodutibilidade foi avaliada em dias diferentes (análise inter-ensaio), o coeficiente de variação obtido para glicose foi de 3,32%, colesterol total foi de 1,44% e triglicerídeos foi de 1,99%.

As amostras de sangue venoso coletadas dos sujeitos de pesquisa foram analisadas segundo metodologia padronizada no SPC-HCPA e os resultados foram tabulados e comparados aos obtidos pela avaliação do sangue capilar no aparelho Accutrend[®] GCT. Foram alocados para participar do estudo 125 sujeitos de pesquisa dos quais 76 (61%) eram mulheres, com média de idade de $58,4 \pm 13,5$ (amplitude 21-86) anos.

As análises do teste para glicose apresentaram sensibilidade de 69,33% (58,17 – 78,61%) e especificidade de 83,67% (70,96 – 91,49%). Para o teste de colesterol a sensibilidade foi 86,67% (74,11 – 92,89%) e a especificidade foi 98,25% (85,84 – 99,71%). Para o teste de triglicerídeos a sensibilidade foi 100% e especificidade foi 73,33% (61,19 – 81,68%).

Para o teste de glicose obtivemos valor preditivo positivo (VPP) de 86,7% (77,47 – 92,48%) e valor preditivo negativo (VPN) de 64,1% (55,40 – 71,90), para colesterol obtivemos VPP = 98,1% (91,33 – 99,61%) e VPN = 87,5% e para triglicerídeos obtivemos VPP = 68,8% (60,22 – 76,17%) e VPN = 100% (87,35 – 100,00%).

A análise da área sob a curva ROC foi de 76,5% (69,2 – 83,9%) para glicose, 92,5% (87,8 – 97,1%) para colesterol e 87,3% (82,5 – 92,1%) para triglicerídeos.

Os coeficientes de correlação de Pearson entre os dois métodos estudados foram 0,959 para glicose, 0,932 para colesterol e 0,931 para triglicerídeos, conforme dados detalhados na tabela 1. A linearidade é apresentada nas figuras 1, 2 e 3.

Para avaliar a exatidão do método, utilizamos a análise Bland-Altman (figuras 4, 5 e 6), obtendo como média das diferenças 14,2 mg/dL para o analito glicose, 2,03 mg/dL para o colesterol e - 25,3 mg/dL para triglicerídeos. Limites de concordância estão apresentados na tabela 2.

Discussão

O conjunto analítico apresentou adequado desempenho considerando os coeficientes de variações descritos na bula dos diferentes analitos, Intra-ensaios (glicose: esperado de 3,70 e encontrado 1,50; colesterol total: esperado de 0,8 – 3,7 e encontrado 1,15; triglicerídios esperado de 3,10 – 3,40 e encontrado 1,35) e Inter-ensaio (glicose: esperado de 3,30 e encontrado 3,32; colesterol total: esperado de 1,10 – 5,00 e encontrado 1,44; triglicerídios esperado de 2,30 e encontrado 1,99).^{14, 15, 16}

O teste com aparelho Accutrend[®] GCT apresentou melhor especificidade do que sensibilidade para os analitos glicose (E = 83,67%; S = 69,33%) e colesterol total (E = 98,25%; S = 86,67%) e, também, apresentou maiores valores preditivos positivos para os analitos glicose (86,7%) e colesterol total (98,1%) indicando maior probabilidade de identificar corretamente testes positivos.

Entretanto, para triglicerídeos apresentou melhor sensibilidade (100,00%) do que especificidade (73,33%), com alto valor preditivo negativo (100%), ou seja, maior probabilidade de não existir doença quando um teste é negativo.

A partir dos dados de ASC, observamos que o teste dos analitos colesterol (92,5%) e triglicerídeos (86,7%) apresentaram maior acurácia do que o analito glicose (76,5%), entretanto, considerando uma boa acurácia, um valor aproximado de 80%, os resultados obtidos com o aparelho Accutrend[®] podem ser considerados adequados para o conjunto das análises.

Os resultados do equipamento testado apresentaram fortíssima correlação. Para o analito glicose $r = 0,959$; para o analito colesterol total $r = 0,932$ e para o analito triglicerídeos $r = 0,931$, indicando a existência de correlação linear entre os métodos.

A análise de Bland-Altman demonstrou que a média das diferenças para o teste de glicose foi estatisticamente significativa (14,2 mg/dL) indicando que o teste capilar pode subestimar valores de glicose, apresentando maior diferença com valores altos de glicemia. Entretanto, essa diferença não é relevante para mudança no plano de tratamento de um paciente.

Para o teste de colesterol total, a média das diferenças foi de 2,03 mg/dL, sendo próxima a zero e com ausência de significância estatística, podemos considerar boa concordância entre os métodos.

O teste de triglicerídeos apresentou a média das diferenças estatisticamente significativa (- 25,3 mg/dL) indicando que o teste capilar pode superestimar o valor do analito, com maior variabilidade em valores altos de triglicerídeos. No entanto, clinicamente essa diferença não é considerada relevante para alteração no plano de cuidados de um paciente.

Considerando os limites de concordância glicose (-23,95 e 52,36 mg/dL), colesterol (-28,07 a 32,14 mg/dL) e triglicerídeos (-82,81 e 32,2 mg/dL) a maioria dos valores se manteve dentro desses limites.

Conclusão

Nossos dados demonstraram que o aparelho portátil Accutrend® GCT pode ser usado durante o acompanhamento de pacientes, para todos os analitos com melhor desempenho para colesterol, devendo ser avaliado segundo disponibilidade de recursos.

Limitações do estudo

Para a coleta do sangue capilar no presente estudo não foram avaliados possíveis interferentes na amostra como medicamentos em uso, outros marcadores biológicos alterados ou situações clínicas. Para o uso do aparelho, tais situações devem ser consideradas.

Conflitos de Interesse

Os autores declaram ausência de conflitos de interesse.

Tabela 1: Correlação entre análise realizada no Accutrend® GCT e no aparelho SPC-HCPA

Analito	N	Média*	DP*	Média †	DP†	r
Glicose	124	114,41	49,33	128,61	60,24	0,959
Colesterol total	117	202,92	35,16	204,96	40,76	0,932
Triglicerídeos	119	177,99	78,62	152,69	73,3	0,931

DP = Desvio Padrão; * Accutrend[®]; † Aparelho SPC-HCPA

Tabela 2: Análise de Bland-Altman

Analito	Média das diferenças (mg/dL)	LIC - LSC (mg/dL)	LI (IC 95%)	LS (IC95%)
Glicose	14,2*	-23,95 - 52,36	- 29,02 - 17,36	45,76 - 57,42
Colesterol total	2,03	-28,07 - 32,14	- 33,5 - 22,6	26,7 - 37,6
Triglicerídeos	-25,3*	-82,81 - 32,2	- 93,78 - -71,83	21,23 - 43,17

(*) significância estatística; LIC - Limite Inferior de concordância; LSC - Limite Superior de Concordância;

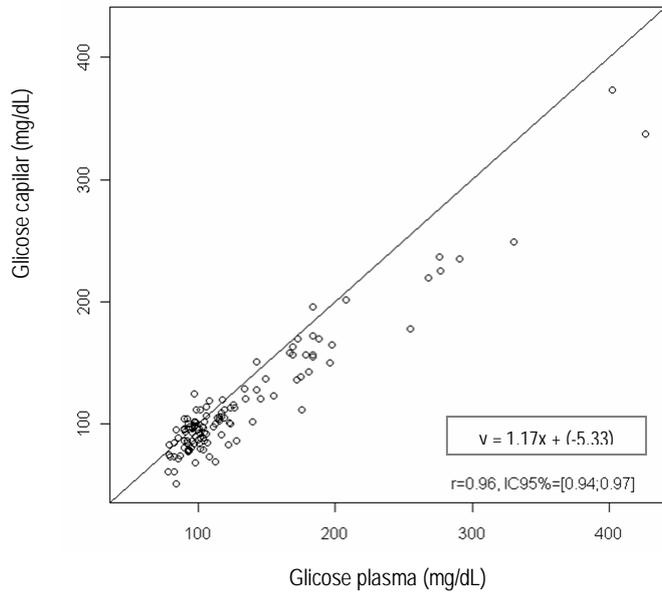


Gráfico 1: Diagrama de dispersão entre glicose plasmática e glicose capilar (mg/dL)

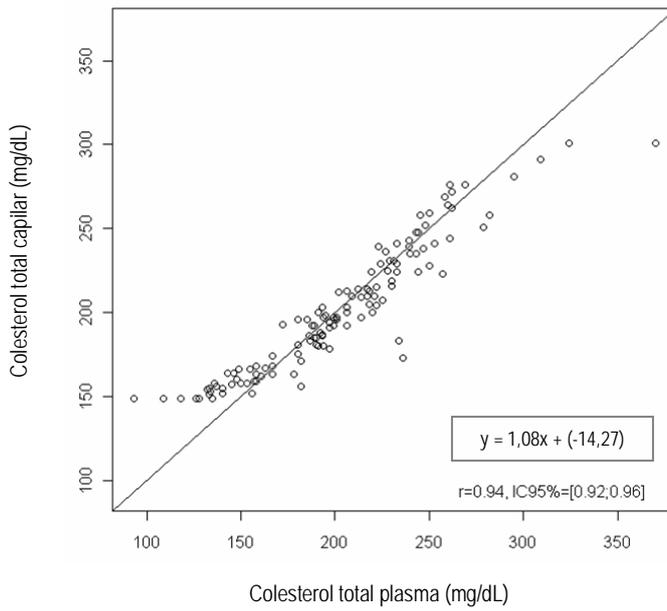


Gráfico 2: Diagrama de dispersão entre colesterol plasmático e capilar (mg/dL)

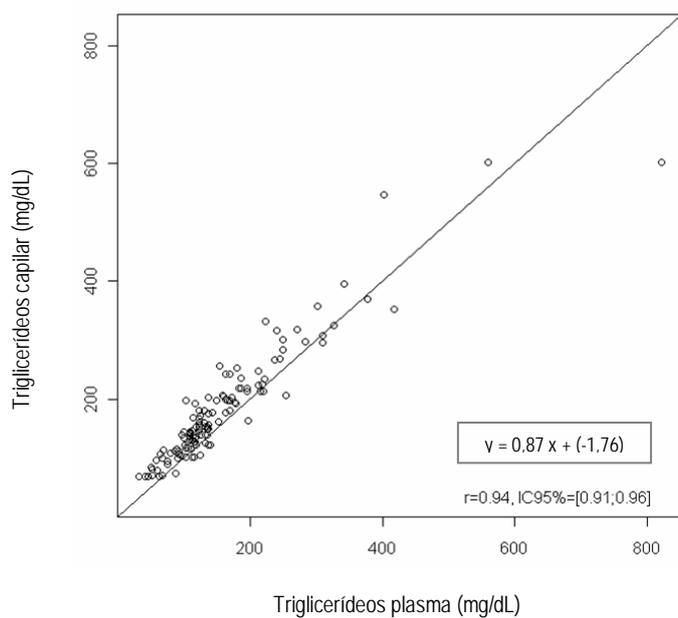


Gráfico 3: Diagrama de dispersão entre triglicérides plasmático e capilar (mg/dL)

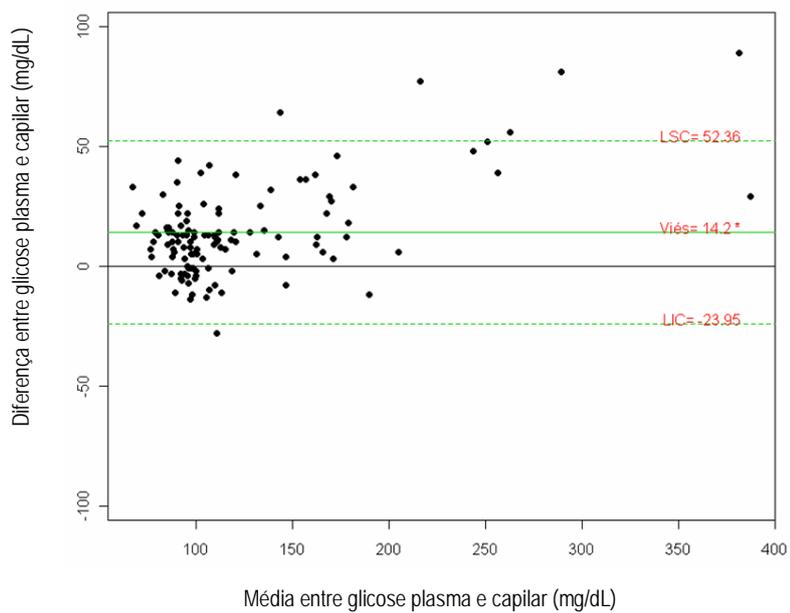


Gráfico 4: Análise de Bland-Altman para glicose plasmática e capilar

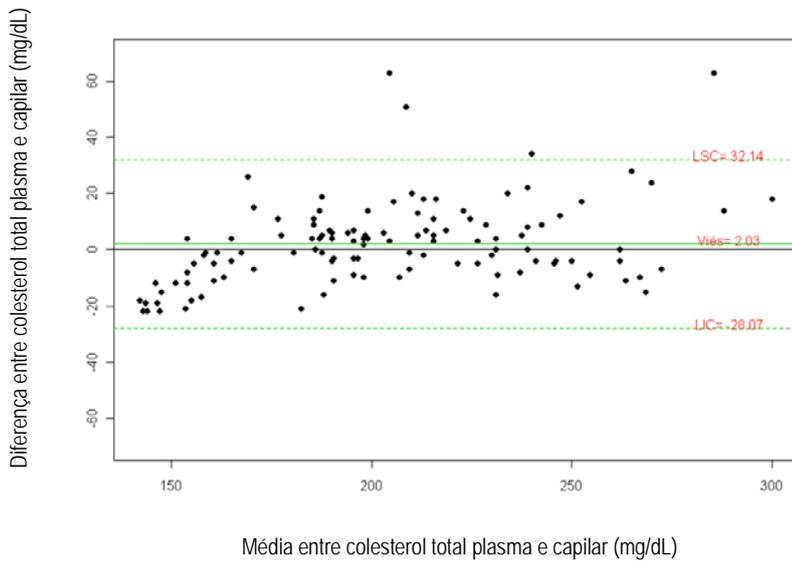


Gráfico 5: Análise de Bland-Altman para colesterol plasma e capilar

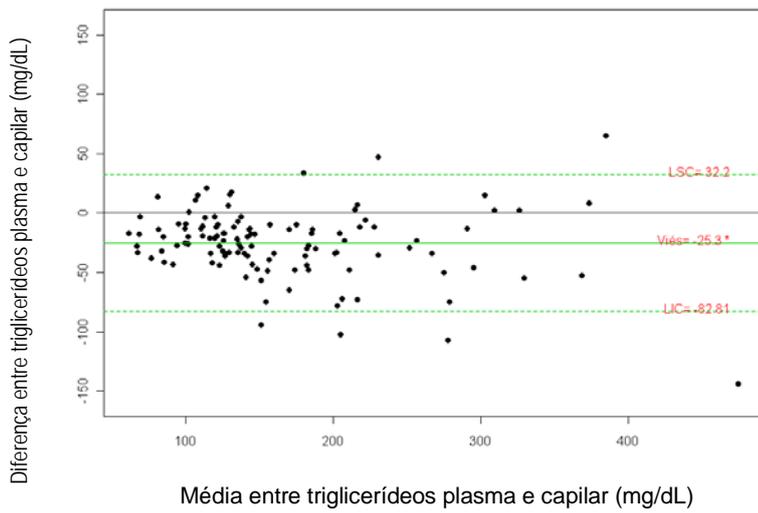


Gráfico 6: Análise de Bland-Altman para triglicérides plasma e capilar

Referências

1. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes – 2012. *Diabetes Care*, January 2012. v.35(suppl 1):S13-S63.
2. Patel , P; Macerollo, A. Diabetes Mellitus: Diagnosis and Screening. *Am Fam Physician*. 2010 Apr 1;81(7): 863-870.
3. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. *Circulation* 2002, 106:3143-3421.
4. NHLBI National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III, 2004.
5. Grieve R, Beech R, Vincent J, Mazurkiewicz, J. Near patient testing in diabetes clinics: appraising the costs and outcomes. *Health Technol Assess* 1999; 3:1-74.
6. Fuentes B., Castillo J., José B. S., Leira R., Serena J., Vivancos J., *et al.* The Prognostic Value of Capillary Glucose Levels in Acute Stroke: The Glycemia in Acute Stroke (GLIAS) Study. *Stroke* 2009;40(2): 562-568.
7. Price C. P. Regular Review: Point of care testing. *BMJ* 2001;322:1285-1288.
8. Issa J. S., Strunz C., Giannini S. D., Forti N., Diament J. Precisão e Exatidão das Dosagens de Lípidos Sanguíneos em Equipamento Portátil (Cholestech -LDX). *Arq Bras Cardiol* 1996; 66(6):339-342.
9. Shemesh T., Rowley K. G., Shepard M., Piers L. S., O’Dea K. Agreement between laboratory results and on-site pathology testing using Bayer DCA2000+ and Cholestech LDX point-of-care methods in remote Australian Aboriginal communities. *Clinica Chimica Acta* 2006; 367:69-76.

10. Marley J. V., Davis S., Coleman K., Hayhow B. D., Brennan G., Mein J. K., Nelson C., Atkinson D., Maguire G. P. Point-of-care testing of capillary glucose in the exclusion and diagnosis of diabetes in remote Australia. *MJA* 2007; 186:500-503.
11. Plessis M., Ubbink J. B., Vermaak W. J. H. Analytical Quality of Near-Patient Blood Cholesterol and Glucose Determinations. *Clinical Chemistry* 2000; 46(8):1085-1090.
12. Accutrend. Roche Diagnóstica Brasil, Manual de Instruções.
13. SPC-HCPA Validação e Comparação de Métodos/*kits* Analíticos Quantitativos - BIO78 versão 1 - POP Institucional.
14. Accutrend® Glucose. Alemanha: Roche Diagnostics GmbH, 03/2003. Bula.
15. Accutrend® Cholesterol. Alemanha: Roche Diagnostics GmbH, 11/2003. Bula.
16. Accutrend® Triglycerides. Alemanha: Roche Diagnostics GmbH, 10/2003. Bula.
17. Glicemia: Glicose Hexoquinase II (GLUH). Austrália: Siemens Healthcare Diagnostics Inc., 2008. Bula.
18. Colesterolemia: Colesterol_2 (CHOL_2). Austrália: Siemens Healthcare Diagnostics Inc., 2009. Bula.
19. Trigliceridemia: Trigliceridos (TRIG). Austrália: Siemens Healthcare Diagnostics Inc., 2009. Bula.
20. James O. Westgard, Method Validation - The comparison of methods experiment, 2000.
21. Hulley, S B et al. Delineando a Pesquisa Clínica – Uma abordagem epidemiológica. 3ª ed. Tradução Michael Schmidt Duncan e Ana Rita Peres. - Porto Alegre: Artmed, 2008.

22. Bland JM, Altman DG (1986). "Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement". *Lancet* 1 (8476): 307–10.
23. Hirakata, V N; Camey, AS. Análise de concordância entre métodos de Bland-Altman. *Rev HCPA* 2009; 29(3):261-268.
24. R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

6 Artigo – versão inglês

Comparação entre medida capilar de glicose e lipídios (Accutrend GCT[®]) com metodologia referência.

Comparison between the Accutrend GCT[®] point of care monitor and reference methods for capillary blood glucose and lipides measurement

Eizerik, DP¹; Lima, PB²; Ribeiro, CA³; Fontoura, A⁴; Ferreira, BP⁵; Costa, AF⁶; Moriguchi, EH⁷; Picon PD⁸

¹Clinical pharmacist, Hospital Moinhos de Vento. Master's candidate in Health Sciences – Cardiology and Cardiovascular Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

^{2,5}Medical student, UFRGS.

³Industrial pharmacist/Biochemist, UFRGS. Specialist in Clinical Chemistry, PUCRS.

⁴Pharmacy student, PUCRS.

⁶Physician, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. MSc in Health Sciences – Cardiology and Cardiovascular Sciences, UFRGS.

⁷Collaborate Professor, Graduate Program in Health Sciences – Cardiology and Cardiovascular Sciences, UFRGS. Collaborate Professor, Graduate Program in Public Health, UNISINOS University

⁸Cardiologist. Associate Professor of Internal Medicine, Graduate Program in Health Sciences – Cardiology and Cardiovascular Sciences, UFRGS.

Study conducted at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil.

Corresponding author:

Dauana Pitano Eizerik

Rua Henrique Dias, 182 / 301 – Porto Alegre, RS, 90035-100

Brazil

E-mail: dauana.eizerik@gmail.com

Abstract

Introduction: The practice of medicine is based on the principle of prevention. In this context, the diagnosis of diseases and their risk factors plays an essential role. Biomarkers are employed not only for diagnostic purposes, but also to guide treatment. An alternative to conventional laboratory testing—reliable, but time-consuming due to analysis procedures and service routines—is provided by portable point-of-care testing (POCT) devices, which use unique analytical methods to enable quick results.

Objective: To assess the correlation between the results of capillary blood glucose, cholesterol, and triglyceride measurements obtained with the Accutrend[®] POCT device and their venous blood counterparts, tested in conventional laboratory analyzers, at a university hospital with validated, certified laboratory analysis routines for such testing.

Methods: In addition to repeatability and reproducibility tests performed by repeated analyses of venous blood samples with the Accutrend[®] GCT device, a cross-sectional study was conducted simultaneously to compare the results of capillary and venous blood analyses in a sample of 125 subjects. **Results:** There were no significant method-to-method differences. Correlation coefficients obtained, suggesting excellent linear correlation between methods and Bland Altman analysis the differences we obtained an average of 14.2mg/dL for the analyte glucose, 2.03 mg/dL for cholesterol and – 25.3 mg/dL for triglycerides. **Conclusion:** Comparison between the Accutrend[®] GCT meter and reference methods showed no significant variation, indicating that this POCT device can be used for patient follow-up, as an adjunct to periodic conventional laboratory testing.

Keywords: cholesterol, triglycerides, validation studies.

Introduction

The use of biomarkers for risk stratification and therapeutic control takes part of good clinical practices. Considering the major contribution of cardiovascular diseases to morbidity and mortality worldwide, risk assessment for these conditions is particularly important. Within this context, blood glucose and lipid profile measurements are laboratory tests currently among the most widely recommended in guidelines ^{1, 2, 3}

Proper control of blood glucose, cholesterol, and triglyceride levels has been recommended because of prognostic importance.^{1, 4} In a publicly funded healthcare system setting, measurement of these biomarkers is hindered both by limited access to laboratory testing and by limited access to physician visits, which occur in a 6-month intervals or even less frequently. Therefore, the availability of an accurate method that would allow immediate assessment of these biomarkers during the patient encounter might translate into improved care.

A technological alternative that has improved significantly in recent years is point-of-care testing (POCT) using capillary blood samples.^{5, 6, 7} Comparisons against existing gold-standard laboratory testing have been conducted for validation of POCT. Initial studies showed good correlations in terms of precision and accuracy for lipid ^{8, 9} and glucose ¹⁰ measurements, although evidence suggests these results depend on the training of the technicians who perform the tests ¹¹. Therefore, further comparative analyses of capillary blood glucose, cholesterol, and triglyceride measurements versus their standard laboratory counterparts are required to elucidate the effectiveness of POCT for clinical follow-up and treatment monitoring.

The objective of this study was to assess the correlation between the results of capillary blood glucose, cholesterol, and triglyceride measurements with Accutrend GCT[®], conducted by trained pharmacist, and their conventional counterparts (obtained from venous blood samples tested in conventional laboratory analyzers) at a university hospital with validated, certified laboratory analysis routines for such testing

Materials and methods

A cross-sectional study design was used for simultaneous assessment of capillary and venous blood sample analyses, conducted using the study methods-reflectance photometry¹² with the Accutrend[®] GCT point-of-care meter versus reference methods.

The study protocol was approved by the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) Research Ethics Committee, and all subjects provided written informed consent.

Initially, tests were performed at the HCPA Clinical Pathology Laboratory by a specialist pharmacist to ascertain the repeatability and reproducibility of the results provided by the Accutrend[®] GCT device with standardized venous blood samples, using the device as per manufacturer instructions.

Intra- and inter-assay repeatability and reproducibility tests were performed in accordance with the validation studies protocol used by the HCPA Department of Clinical Pathology.¹³ For intra-assay testing, a single whole blood sample was analyzed 10 to 15 times on the same day. For inter-assay testing, a single whole blood sample was divided into aliquots large enough to fill 20 Eppendorf-type microcentrifuge tubes for a single test run and stored at -20°C. Aliquots were analyzed on different days, following the routine analysis procedure used at the study laboratory.¹³ The coefficient

of variation (CV) between measurements should be equal to or less than the manufacturer-specified limit.^{14, 15, 16}

The second stage of the study was carried out at the outpatient blood sampling sector of Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A total of 125 patients were sequentially allocated to have venous and capillary blood drawn for glucose, cholesterol, and triglyceride measurements. For inclusion in the study, subjects were required to have a physician's request for glucose, cholesterol, and triglyceride testing and to read and sign the informed consent form. Venous blood collection was performed by trained phlebotomists in accordance with routine HCPA procedure and was followed by capillary blood sampling using a specific technique for analysis with the Accutrend[®] device.

The analytical reference methods used by the HCPA Department of Clinical Pathology were hexokinase II for glucose and a Trinder-type endpoint reaction for cholesterol and triglycerides. These methods employ enzymatic/colorimetric principles, that is, absorbance is measured to determine the concentration of the analyte of interest in the studied sample.^{17, 18, 19}

According to the validation protocol used at our service, repeatability was defined as the extent of agreement between the results of successive measurements of a single sample, performed under equal measurement conditions, whereas reproducibility was defined as the extent of agreement between measurements of a single sample performed under distinct measurement conditions.

For correlation and agreement testing, results obtained with the study device were compared to those obtained with the index methodology used at the Clinical Pathology Laboratory at the time of sample processing. According to the HCPA Department of Clinical Pathology validation protocol, a minimum of 40 samples are required for each

parameter. Considering $\alpha = 0.05$ and a statistical power of 80%, the sample size was estimated at 100 subjects + 20% to account for sampling loss²⁰. The final sample size was 125 specimens.

Sample preparation

For repeatability and reproducibility testing, whole blood samples were heparinized, partitioned into aliquots, and stored in Eppendorf-type microcentrifuge tubes at a temperature of -20°C.

Controls

Repeatability and reproducibility tests were also carried out with the control solutions used for calibration of the Accutrend[®] meter.

The data required for quality control of the device are described by the manufacturer on the control solution package inserts and test strip containers. Two control solutions are used for glucose analysis: one simulating hypoglycemia, known as level I, and one simulating hyperglycemia, known as level II. Only one control solution (level I) is used to calibrate the device for the two remaining analytes (cholesterol and triglycerides). The manufacturer's reference ranges for the control solutions used in the study are 55–95 mg/dL (glucose level I), 153–219 mg/dL (glucose level II), 169–214 mg/dL (cholesterol level I), and 272–372 mg/dL (triglycerides level I). The device is confirmed to be in proper working order when all solutions are measured within the specified reference range.

Statistical analysis

To establish a correlation between methods, data were entered into the Validator[®] software application, which calculates means, standard deviations, and Pearson correlation coefficients (**r**).

Specificity, sensitivity, predictive values, and accuracy were calculated ²¹ using the WinPepi 2.27 software package. Reference ranges were established as follows: glucose, within normal limits if 60–110 mg/dL, altered if above or below this range; cholesterol, within normal limits if ≤ 200 mg/dL, altered if above this range; and triglycerides, within normal limits if ≤ 150 mg/dL, altered if above this range. Pearson correlation coefficients were calculated and Bland-Altman analysis ^{22, 23} was performed in the software R 2.14.1.²⁴

Quantitative variables were expressed as means and standard deviations. Student's *t*-test for independent samples was used for between-group comparisons of independent variables, and Student's *t*-test for paired samples, for within-group comparison of these same variables.

Sources of funding

POCT devices and lancing devices were purchased with funds provided by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq). Consumables (control solutions, test strips, and disposable lancets) were purchased with funds provided by the HCPA Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE/HCPA).

Results

Repeatability tests were all performed in a single day (intra-assay analysis). The coefficients of variation obtained were 1.50% for glucose, 1.15% for cholesterol, and 1.35% for triglyceride measurements.

Reproducibility was assessed on different days (inter-assay analysis). The coefficients of variation obtained were 3.32% for glucose, 1.44% for cholesterol, and 1.99% for triglyceride measurements.

Venous blood samples collected from the study subjects were analyzed with the standard methods used at the HCPA Department of Clinical Pathology, and results were tabulated and compared to those obtained with the Accutrend[®] GCT point-of-care meter.

One hundred and twenty-five subjects took part in the study, 76 (61%) of whom were female. Mean age was 58.4 ± 13.5 years (range, 21–86).

Glucose testing had a sensitivity of 69.33% (58.17–78.61%) and a specificity of 83.67% (70.96–91.49%). As for the lipid panel, cholesterol testing had a sensitivity of 86.67% (74.11–92.89%) and a specificity of 98.25% (85.84–99.71%), and triglyceride testing, a sensitivity of 100% and specificity of 73.33% (61.19–81.68%).

Positive predictive values (PPV) and negative predictive values (NPV) were as follows: glucose, PPV 86.7% (77.47–92.48%) and NPV 64.1% (55.40–71.90); cholesterol, PPV 98.1% (91.33–99.61%) and NPV 87.5%; and triglycerides, PPV 68.8% (60.22–76.17%) and NPV 100% (87.35–100.00%).

Analysis of the area under the ROC curve showed 76.5% (69.2–83.9%) for glucose, 92.5% (87.8–97.1%) for cholesterol, and 87.3% (82.5–92.1%) for triglycerides.

Pearson coefficients of correlation between the reference and study methods were 0.959 for glucose, 0.932 for cholesterol, and 0.931 for triglycerides, as shown in greater detail in Table 1. Figures 1, 2, and 3 show the linear correlation between these methods.

Bland-Altman plots were used to assess the accuracy of the study method (Figures 4, 5, and 6). Mean differences were 14.2 mg/dL for glucose, 2.03 mg/dL for cholesterol, and -25.3 mg/dL for triglycerides. Limits of agreement are shown in Table 2.

Discussion

Taking into account the CVs described on the control solution package inserts, the Accutrend[®] GCT point-of-care meter performed adequately both on intra-assay testing (glucose: expected, 3.70; determined, 1.50; total cholesterol: expected, 0.8–3.7; determined, 1.15; triglycerides: expected, 3.10–3.40; determined, 1.35) and inter-assay testing (glucose: expected, 3.30; determined, 3.32; total cholesterol: expected, 1.10–5.00; determined, 1.44; triglycerides: expected, 2.30; determined, 1.99).^{14, 15, 16}

The Accutrend[®] GCT point-of-care meter exhibited greater specificity than sensitivity for glucose (Sp=83.67%, Sn=69.33%) and total cholesterol (Sp=98.25%, Sn=86.67%), as well as high positive predictive values for glucose (86.7%) and total cholesterol (98.1%), which suggests a greater likelihood of correct identification of positive test results.

Conversely, testing with the Accutrend[®] GCT meter exhibited greater sensitivity (100%) than specificity (73.3%) for triglycerides, with a high negative predictive value (100%), that is, greater likelihood of ruling out disease when the test result is negative.

Area under the ROC curve data showed that cholesterol and triglycerides testing (92.5% and 86.7% respectively) were more accurate than glucose testing (76.5%); however, a

value of 80% is defined as good accuracy, glucose measurements obtained with the Accutrend[®] GCT meter can be considered adequate.

The correlation between measurements obtained with this POCT device and the reference methods was very strong (glucose, $r = 0.959$; total cholesterol, $r = 0.932$; triglycerides, $r = 0.931$), which is indicative of a linear correlation between the methods.

Bland-Altman analysis showed a statistically significant difference between methods (14.2 mg/dL) for glucose testing, which suggests that capillary blood glucose measurements obtained with the study device may underestimate actual glucose levels, with the difference being greatest at higher levels. However, this difference would still not be clinically relevant with respect to changes in a patient's treatment plan.

For total cholesterol testing, the mean difference was 2.03 mg/dL close to zero and statistically nonsignificant; therefore, agreement between capillary blood testing and the reference method may be considered good.

Triglyceride measurements obtained with the POCT device were significantly different (-25.3 mg/dL) from those obtained with conventional testing, indicating that capillary blood testing may overestimate triglyceride levels, with this variability being greatest at higher triglyceride levels. However, the difference would, again, not be clinically relevant with regard to any changes in a patient's treatment plan.

Regarding agreement limits for glucose (-23.95 and 52.36 mg/dL), cholesterol (-28.07 to 32.14 mg/dL), and triglycerides (-82.81 and 32.2 mg/dL), most values were within these ranges.

Conclusion

Our findings show that the Accutrend[®] GCT point-of-care meter can be used to monitor all analytes for purposes of patient follow-up, performing best for cholesterol measurement, should be evaluated according to availability of resources.

Study limitations

During capillary blood testing, this study did not take into account factors that could interfere with samples, such as current medications, changes in other biological markers, or concurrent clinical situations. These factors should be taken into account when using the tested meter.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Table 1: Correlation between measurements obtained with the Accutrend® GCT device and conventional methods

Analyte	N	Mean*	SD*	Mean†	SD†	r
Glucose	124	114.41	49.33	128.61	60.24	0.959
Cholesterol, total	117	202.92	35.16	204.96	40.76	0.932
Triglycerides	119	177.99	78.62	152.69	73.3	0.931

SD, standard deviation; *Accutrend® GCT; †Conventional laboratory analyzer.

Table 2: Bland-Altman analysis

Analyte	Mean difference (mg/dL)	LLA – ULA (mg/dL)	LLA (95%CI)	ULA (95%CI)
Glucose	14.2*	-23.95 – 52.36	- 29.02 – 17.36	45.76 – 57.42
Cholesterol, total	2.03	-28.07 – 32.14	- 33.5 – 22.6	26.7 – 37.6
Triglycerides	-25.3*	-82.81 – 32.2	- 93.78 – -71.83	21.23 – 43.17

(*) statistically significant difference; LLA, lower limit of agreement; ULA, upper limit of agreement.

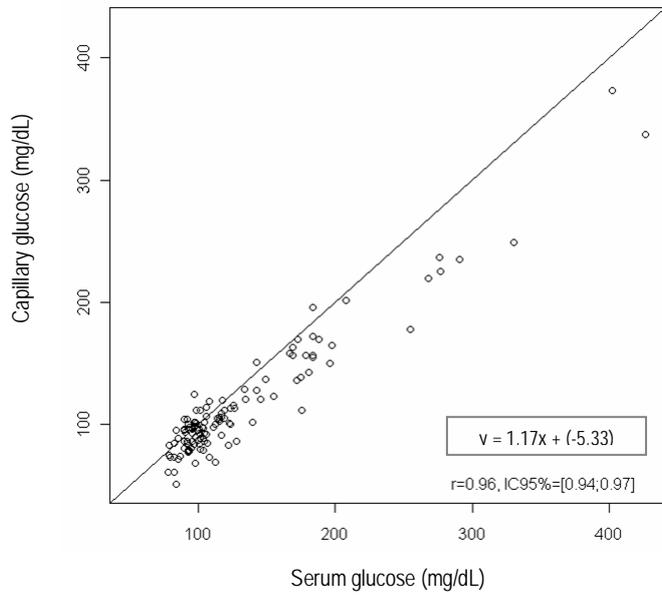


Figure 1: Scatter plot of serum glucose vs. capillary blood glucose (mg/dL)

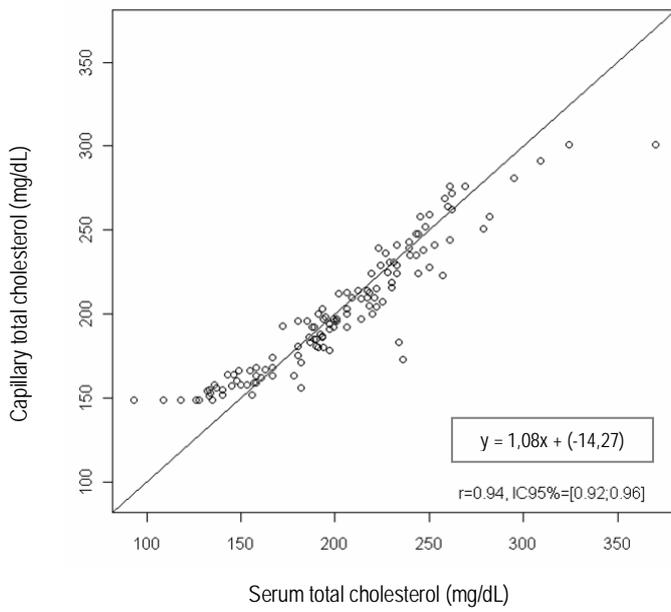


Figure 2: Scatter plot of serum cholesterol vs. capillary blood cholesterol (mg/dL)

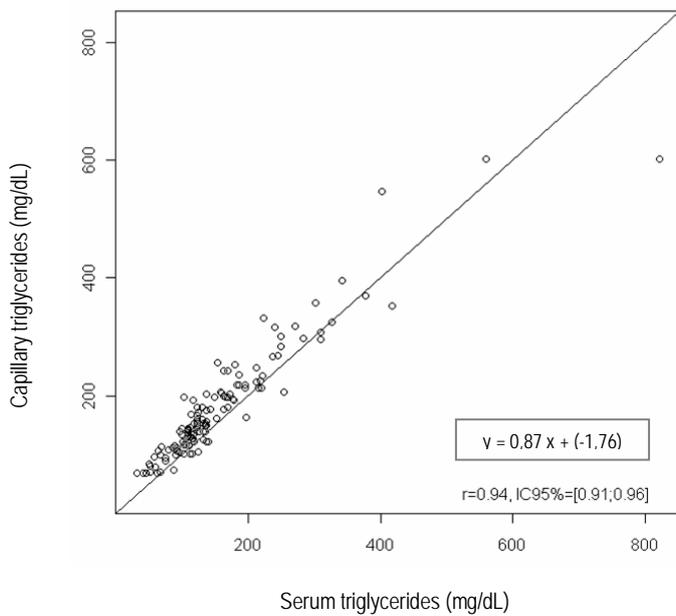


Figure 3: Scatter plot of serum triglycerides vs. capillary blood triglycerides (mg/dL)

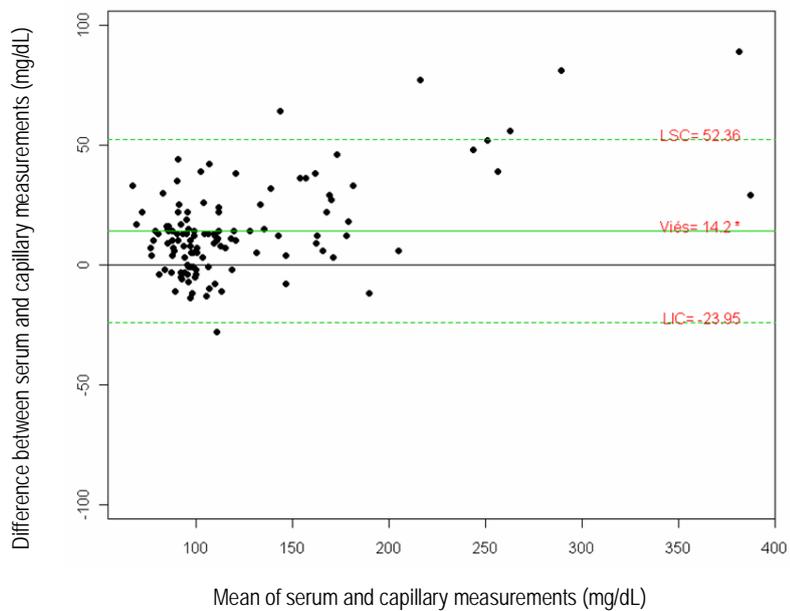


Figure 4: Bland-Altman plot of serum and capillary blood glucose measurements

LSC > ULA
 Viés > Bias
 LIC > LLA

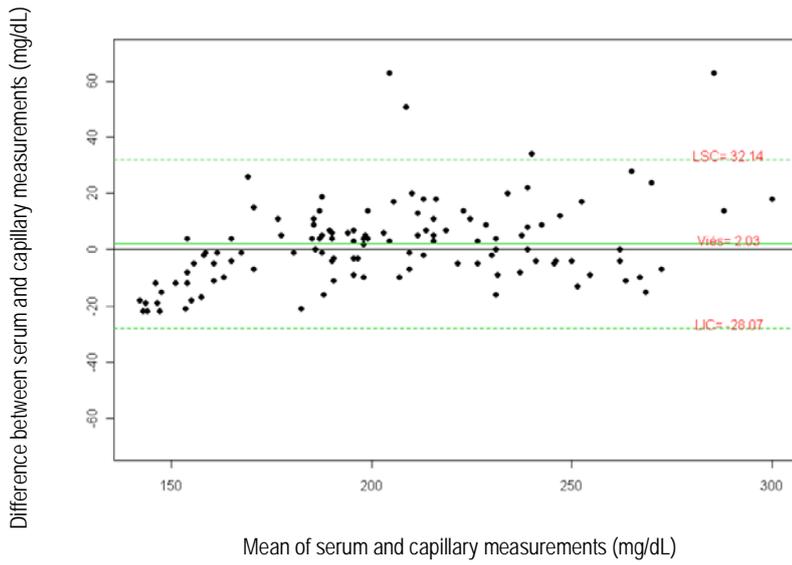


Figure 5: Bland-Altman plot of serum and capillary cholesterol measurements

LSC > ULA
Viés > Bias
LIC > LLA

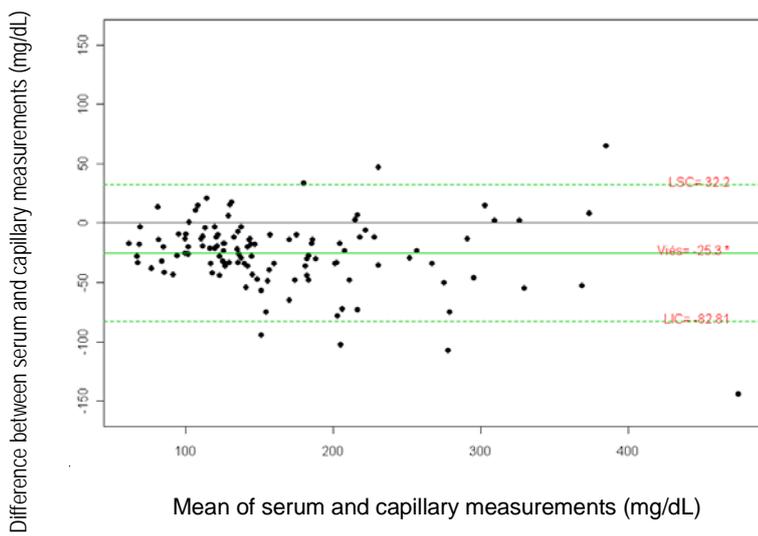


Figure 6: Bland-Altman plot of serum and capillary triglyceride measurements

LSC > ULA
Viés > Bias
LIC > LLA

References

1. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes – 2012. *Diabetes Care*, January 2012. v.35(suppl 1):S13-S63.
2. Patel , P; Macerollo, A. Diabetes Mellitus: Diagnosis and Screening. *Am Fam Physician*. 2010 Apr 1;81(7): 863-870.
3. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. *Circulation* 2002, 106:3143-3421.
4. NHLBI National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III, 2004. Grieve R, Beech R, Vincent J, Mazurkiewicz, J. Near patient testing in diabetes clinics: appraising the costs and outcomes. *Health Technol Assess* 1999; 3:1-74.
5. Fuentes B., Castillo J., José B. S., Leira R., Serena J., Vivancos J., *et al.* The Prognostic Value of Capillary Glucose Levels in Acute Stroke: The Glycemia in Acute Stroke (GLIAS) Study. *Stroke* 2009;40(2): 562-568.
6. Price C. P. Regular Review: Point of care testing. *BMJ* 2001;322:1285-1288.
7. Issa J. S., Strunz C., Giannini S. D., Forti N., Diament J. Precisão e Exatidão das Dosagens de Lípidos Sanguíneos em Equipamento Portátil (Cholestech -LDX). *Arq Bras Cardiol* 1996; 66(6):339-342.
8. Shemesh T., Rowley K. G., Shepard M., Piers L. S., O’Dea K. Agreement between laboratory results and on-site pathology testing using Bayer DCA2000+ and Cholestech LDX point-of-care methods in remote Australian Aboriginal communities. *Clinica Chimica Acta* 2006; 367:69-76.

9. Marley J. V., Davis S., Coleman K., Hayhow B. D., Brennan G., Mein J. K., Nelson C., Atkinson D., Maguire G. P. Point-of-care testing of capillary glucose in the exclusion and diagnosis of diabetes in remote Australia. *MJA* 2007; 186:500-503.
10. Plessis M., Ubbink J. B., Vermaak W. J. H. Analytical Quality of Near-Patient Blood Cholesterol and Glucose Determinations. *Clinical Chemistry* 2000; 46(8):1085-1090.
11. Accutrend. Roche Diagnóstica Brasil, Manual de Instruções.
12. SPC-HCPA Validação e Comparação de Métodos/*kits* Analíticos Quantitativos - BIO78 versão 1 - POP Institucional.
13. Accutrend® Glucose. Alemanha: Roche Diagnostics Gmbh, 03/2003. Bula.
14. Accutrend® Cholesterol. Alemanha: Roche Diagnostics Gmbh, 11/2003. Bula.
15. Accutrend® Triglycerides. Alemanha: Roche Diagnostics Gmbh, 10/2003. Bula.
16. Glicemia: Glicose Hexoquinase II (GLUH). Austrália: Siemens Healthcare Diagnostics Inc., 2008. Bula.
17. Colesterolemia: Colesterol_2 (CHOL_2). Austrália: Siemens Healthcare Diagnostics Inc., 2009. Bula.
18. Trigliceridemia: Trigliceridos (TRIG). Austrália: Siemens Healthcare Diagnostics Inc., 2009. Bula.
19. James O. Westgard, Method Validation - The comparison of methods experiment, 2000.
20. Hulley, S B et al. Delineando a Pesquisa Clínica – Uma abordagem epidemiológica. 3ª ed. Tradução Michael Schmidt Duncan e Ana Rita Peres. - Porto Alegre: Artmed, 2008.

21. Bland JM, Altman DG (1986). "Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement". *Lancet* 1 (8476): 307–10.
22. Hirakata, V N; Camey, AS. Análise de concordância entre métodos de Bland-Altman. *Rev HCPA* 2009;29(3):261-268.
23. R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.