

ENSAIO DE PROFICIÊNCIA DEMONSTRA QUE O DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS PODE SER INFLUENCIADO POR DIFERENTES METODOLOGIAS



G. S. Lima-Oliveira¹, C. Albuquerque², R. Doellinger², V. Biasoli², A. Duarte³.

¹Universidade Federal do Parana, Curitiba-PR, ²ControlLab, Rio de Janeiro, ³Universidade de São Paulo LIM56, São Paulo

ABSTRACT

Background: From 2003 to 2007, the ADA introduced several changes in the diagnostic criteria of diabetes mellitus. However, none of the published guidelines specified which glucose measurement methodology should be used in the clinical laboratory. Latin American laboratories utilize several methods, especially oxidase and hexokinase assays.

Objective: To evaluate if different methodology of glucose determination would change the diagnosis of diabetes mellitus in clinical laboratories.

Methods: This study received IRB approval and identification of all laboratories were preserved. To compare different methodology among the different laboratories the authors used data from the clinical proficiency testing of ControlLab, supported by the Brazilian Society of Clinical Pathology/Laboratory Medicine (SBPC/ML). For the different methods the ControlLab calculates the robust mean, standard deviation and coefficient of variation (CV), employing the ISO 13528 (algorithm A). To calculate the acceptance range, ControlLab applies to the robust mean the limits recommended by Brazilian regulatory agencies. The rate of success is

calculated by the formula: results in the acceptance range divided by all results. We evaluated glucose results reported by 1154 laboratories to ControlLab between July, 2003 and July, 2007, obtained by different methodology in Latin American laboratories (oxidase, colorimetric and UV hexokinase in several types of clinical analyzer systems). To evaluate if different methods of glucose determination would change the diagnosis we used ANOVA and Dunnett's T3 tests.

Results: The rate of success is significantly higher using the UV hexokinase glucose determination method (Dunnett's test $p < 0,0001$).

Discussion and conclusion: It is crucial to establish guidelines standardizing the methodology for the diagnosis and therapeutic monitoring of diabetes in clinical laboratories because several methods can be influenced by methodology used in open or closed clinical analyzer automation. This work demonstrates that oxidase and colorimetric hexokinase assays have higher coefficients of variation, and this can lead to diagnostic mistakes.

INTRODUÇÃO

Em 2003, a Associação Americana de Diabetes (ADA) através do Comitê de Diagnóstico e Classificação do Diabetes Mellitus apresentou diversas mudanças nos critérios para diagnóstico de diabetes estabelecidos em 1997. Em 2004, a ADA publicou uma nova recomendação sobre o diagnóstico e classificação do diabetes (Tabela 1). Entretanto, nenhuma recomendação sobre o uso de um método específico para a determinação de glicose em laboratórios clínicos foi feita. Atualmente, os laboratórios brasileiros usam diversos métodos para a determinação da glicose, principalmente glicose oxidase e hexokinase. Nós acreditamos que o diagnóstico de diabetes mellitus pode ser influenciado pelos métodos e metodologias utilizados nos laboratórios latino-americanos.

Todos os laboratórios retornaram o resultado do ensaio de proficiência com informação sobre o método (oxidase, hexokinase colorimétrica ou hexokinase UV), reagente e equipamento utilizados para determinar a concentração de glicose.

Para comparar as diferentes metodologias utilizadas pelos diferentes laboratórios, foram usados os dados do ensaio de proficiência da ControlLab apoiado pela Sociedade Brasileira de patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML).

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa e a identidade dos laboratórios participantes foi preservada.

Métodos estatísticos aplicados pela ControlLab no ensaio de proficiência

Para cada método foi determinada a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação, tendo como base o procedimento robusto (Algoritmo A) recomendado pela ISO 135285. Para calcular a faixa de resultados aceitável foi utilizado o limite de 13%, recomendado pela ANVISA/REBLAS, aplicado à média robusta.

O percentual de acerto foi calculado pela divisão entre os resultados dentro da faixa aceitável e todos os resultados.

Métodos estatísticos aplicados por nosso grupo de pesquisa

Para avaliar se diferentes métodos de determinação da glicose (oxidase, Hexokinase colorimétrica ou hexokinase UV) poderiam mudar o diagnóstico de diabetes mellitus foram usados ANOVA e o teste de Dunnett T3.

Para avaliar se a diferença entre as metodologias (sistema aberto ou fechado) poderia mudar o diagnóstico de diabetes mellitus foram formados 6 grupos e aplicado o teste de Mann-Whitney. Os grupos formados foram: (1) oxidase – sistema aberto; (2) oxidase – sistema fechado; (3) hexokinase colorimétrica – sistema aberto; (4) hexokinase colorimétrica – sistema fechado; (5) hexokinase UV – sistema aberto; (6) hexokinase UV – sistema fechado.

Foram considerados estatisticamente significativos os p valores $< 0,05$.

Tabela 1: PRINCIPAIS MUDANÇAS NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA DIABETES MELLITUS (mg/dL)

	antes de 1997	1997	2003	2004
Normal de Glicemia de jejum	<110	<110	<100	<100
Glicemia de jejum/ Glicemia pós-prandial (2h)	≥140/ ≥200	≥126/ ≥200	≥126/ ≥200	≥126/ ≥200
Glicemia a qualquer hora do dia somada a sintomas característicos	—	—	—	≥200

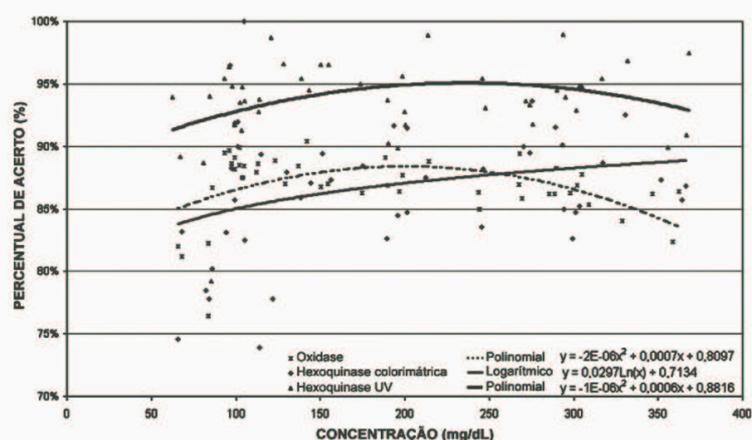
OBJETIVO

Avaliar a influência da aplicação de diferentes metodologias e métodos utilizados nos laboratórios latino-americanos no diagnóstico de diabetes.

MÉTODOS E PROCEDIMENTOS

No período de julho de 2003 a julho de 2007 foram enviados pela ControlLab, 45 amostras do ensaio de proficiência de glicose (4 vezes por ano), para 1154 laboratórios latino-americanos, que reportaram resultados obtidos por diferentes metodologias e métodos.

Figura 1: ANÁLISE DE REGRESSÃO DO PERCENTUAL DE ACERTO DOS LABORATÓRIOS E CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE USANDO DIFERENTES MÉTODOS (OXIDASE, HEXOQUINASE COLORIMÉTRICA E UV)



A regressão foi estabelecida por uma relação matemática entre os valores Y em função de X

RESULTADOS

O percentual de acerto foi significativamente mais alto nos laboratórios que usaram o método hexokinase UV (teste de Dunnett $p < 0,0001$), quando não avaliada a metodologia (Figura 1).

Foi observada diferença de desempenho entre sistema aberto e fechado para todos os métodos (oxidase, hexokinase colorimétrico e UV). Não foi observada diferença no desempenho entre oxidase e hexokinase UV em sistema fechado e entre oxidase e hexokinase colorimétrico por sistema aberto (Tabela 2 e Figura 2).

Dos 1154 laboratórios avaliados, 81% realizam a determinação de glicose por sistema aberto (71% utilizaram o método glicose oxidase). Apenas 18% utilizaram sistema fechado (Tabela 3).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

É importante padronizar a metodologia adotada para diagnosticar e monitorar a terapêutica do diabetes nos laboratórios clínicos. Diversos métodos podem ser influenciados pela metodologia, por exemplo, pelos sistemas abertos ou fechado dos equipamentos automatizados. Atualmente, o sistema aberto é a metodologia mais utilizada na América Latina.

Neste estudo foi feita um comparação entre os resultados do ensaio de proficiência de 1154 laboratórios e verificado que diferentes métodos e metodologias poderiam interferir no diagnóstico de diabetes mellitus.

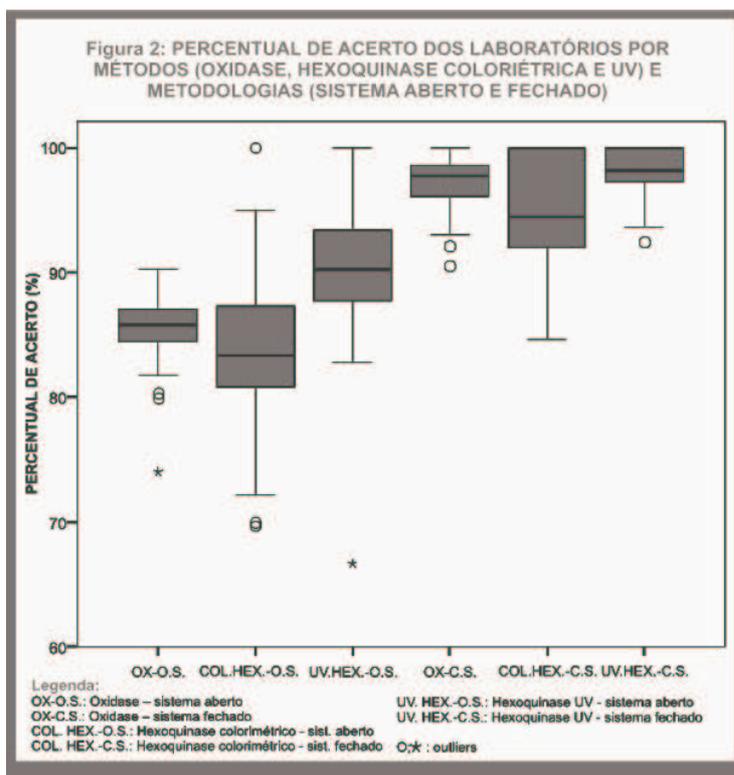


Tabela 2: COMPARAÇÃO DO PERCENTUAL DE SUCESSO DE DIFERENTES MÉTODOS E METODOLOGIAS PARA O ENSAIO DE GLICOSE

método – metodologia	Hexoquinase colorimétrico – sist. aberto	Hexoquinase UV – sist. aberto	Oxidase – sist. fechado	Hexoquinase colorimétrico – sist. fechado	Hexoquinase UV – sist. fechado
Oxidase – sist. aberto	0.270	0.000	0.000	0.000	0.000
Hexoquinase colorimétrico - sist. aberto	-	0.000	0.000	0.000	0.000
Hexoquinase UV – sist. aberto	-	-	0.000	0.000	0.000
Oxidase – sist. fechado	-	-	-	0.048	0.944
Hexoquinase colorimétrico – sist. fechado	-	-	-	-	0.002

Tabela 3: ESTATÍSTICAS DO PERCENTUAL DE SUCESSO PARA DIFERENTES MÉTODOS E METODOLOGIAS NO ENSAIO DE GLICOSE

método – metodologia	Laboratórios N - %	Amostras	Mínimo	1ºQ	Mediana	3ºQ	Máximo
Oxidase – sist. Aberto	816 – 71%	45	74.0	84.5	85.8	87.1	90.2
Hexoquinase colorimétrico - sist. aberto	55 – 5%	45	69.7	80.9	83.3	87.3	100.0
Hexoquinase UV - sist. aberto	71 – 6%	45	66.7	87.7	90.2	93.4	100.0
Oxidase – sist. fechado	124 – 11%	45	90.6	96.1	97.8	98.5	100.0
Hexoquinase colorimétrico - sist. fechado	25 – 2%	45	84.6	92.0	94.4	100.0	100.0
Hexoquinase UV - sist. fechado	63 – 5%	45	92.5	97.3	98.1	100.0	100.0

CONTATO

g_lima_oliveira@yahoo.com.br
carla.albuquerque@controllab.com.br

O

Os resultados demonstraram que o desempenho do método é influenciado pela metodologia utilizada (sistema aberto ou fechado). A análise isolada da figura 1 poderia conduzir a uma falsa interpretação de que um método tem melhor desempenho do que os demais. Porém, uma análise mais detalhada da tabela 2 e da figura 2 demonstra que um melhor percentual de acerto está fortemente relacionado ao sistema fechado.

A análise dos dados nos permite uma interessante compreensão da diferença de performance de diferentes métodos e metodologias, com destaque para a necessidade de padronização das metodologias utilizadas.

REFERÊNCIAS

- National Diabetes Data Group: Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. Diabetes 28:1039-57,1979.
- The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 20:1183-97, 1997.
- The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. Diabetes Care 26:3160-67, 2003.
- American Diabetes Association: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 27:S5-10, 2004.
- ANVISA – Procedimento GGLAS nº. 02/43: Critérios para a Habilitação de Provedores de Ensaio de Proficiência. 2ª.ed., Brasília, 2002.
- ISO 13528:2005(E) – Statistical Methods for use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons. Annex C (normative) – Robust Analysis.