

## Precisão e Exatidão das Dosagens dos Lípides Sangüíneos em Equipamento Portátil (Cholestech-LDX)

Jaqueline Scholz Issa, Célia Strunz, Sergio Diogo Giannini, Neusa Forti, Jayme Diament  
São Paulo, SP

**Objetivo** - Verificar se a precisão e exatidão das dosagens de lípidos, realizadas em equipamento portátil, Cholestech-lipid desktop analyser (LDX), concordam com os critérios estabelecidos pelo National Cholesterol Education Program (NCEP).

**Métodos** - Amostras de soro de 45 pacientes ambulatoriais, coletadas para dosagem do colesterol total (CT), HDL-colesterol (HDL-C) e triglicérides (TG), foram analisadas simultaneamente pelo Cholestech-LDX e por métodos enzimáticos automatizados utilizados no Laboratório Clínico do Instituto do Coração. A precisão foi determinada repetindo 20 dosagens da mesma amostra de sangue venoso. A exatidão foi estabelecida confrontando os valores das variáveis lipídicas obtidos no Cholestech-LDX com aqueles determinados pela rotina laboratorial automatizada.

**Resultados** - A precisão e exatidão das dosagens das variáveis lipídicas obtidas pelo Cholestech-LDX concordam com as recomendações do NCEP. Exatidão obtida para o CT foi 1,60% (NCEP  $\leq$ 3%), para o HDL-C foi 2,74% (NCEP  $\leq$ 6%) e para o TG foi 2,11% (NCEP  $\leq$ 5%). Precisão obtida para o CT foi 3,05% (NCEP  $\leq$ 3%), para o HDL-C foi 1,05% (NCEP  $\leq$ 6%) e para o TG foi 2,65% (NCEP  $\leq$ 5%).

**Conclusão** - Precisão e exatidão das dosagens de lípidos sangüíneos pelo Cholestech-LDX concordam com as recomendações do NCEP, tornando-se alternativa confiável à rotina laboratorial convencional, permitindo avaliação de amostras populacionais.

**Palavras-chave:** lípidos, controle de qualidade, padrão de referência

### Precision and Accuracy of Blood Lipids Analyses by a Portable Device - (Cholestech-LDX)

**Purpose** - To verify whether precision and accuracy of lipids analyses by a new portable device, Cholestech - lipid desktop analyzer (LDX), were in agreement with the guidelines of the National Cholesterol Education Program (NCEP).

**Methods** - Serum samples from 45 outpatients were collected for the determination of total Cholesterol (TC), HDL-cholesterol (HDL-C) and triglycerides (TG). These samples were analysed simultaneously by the Cholestech-LDX, and by the automatic enzymatic methods routinely used at the Heart Institute's laboratory.

Precision was determined by repeating 20 times the evaluation of the same sample of venous blood. Accuracy was established confronting the values of the lipids variables obtained with Cholestech-LDX against the values determined by the automatic enzymatic routine.

**Results** - Accuracy for TC was 1.60% (NCEP  $\leq$ 3%), for HDL-C was 2.74% (NCEP  $\leq$ 6%) and for TG was 2.11% (NCEP  $\leq$ 5%). Precision for CT was 3.05% (NCEP  $\leq$ 3%), for HDL-C was 1.05% (NCEP  $\leq$ 6%) and for TG was 2.65% (NCEP  $\leq$ 5%).

**Conclusion** - Precision and accuracy of lipids evaluation by the Cholestech-LDX are within the guidelines of the National Cholesterol Education Program. Therefore the cholestech-LDX seems to be a reliable alternative to the conventional biochemical routine, allowing population screenings.

**Key-words:** lipids, quality control, reference standards

Arq Bras Cardiol, volume 66 (nº6), 339-342, 1996

O caráter universal da doença arterial coronária (DAC) e os elevados índices de mortalidade que ela determina tornam indispensáveis programas populacionais pre-

ventivos. Neles devem ser realizadas determinações dos lípidos sangüíneos em grandes amostras de indivíduos, pois estudos de ordem epidemiológica, experimental e intervenção terapêutica evidenciam a associação direta de colesterol total (CT), LDL-colesterol (LDL-C) e DAC<sup>1-3</sup> e inversa entre esta e HDL-colesterol (HDL-C). Para tal é desejável a utilização de recursos que tornem fáceis e rápidas as dosagens bioquímicas. Alguns aparelhos portáteis vêm sendo usados com essa finalidade, mas se exige fidedignidade dos seus resultados, uma vez que a decisão clínica e a ori-

Instituto do Coração do Hospital das Clínicas - FMUSP

Correspondência: Jaqueline Scholz Issa - Serviço de Prevenção Cardiológica do Incor - Av. Dr. Enéas C. Aguiar, 44 - 05403-000 - São Paulo, SP

Recebido para publicação em 11/12/95

Aceito em 13/3/96

entação de tratamento são fundamentadas nos níveis de CT e suas frações<sup>4,5</sup>.

O emprego dos métodos convencionais de determinações dos lípidos sanguíneos pode resultar em variações inter e intralaboratoriais<sup>6</sup>, ocasionadas por: variações biológicas (peso, dieta, hábitos); erro pré-analítico (ação de fármacos, processo inflamatórios e infecciosos, exercício físico precedendo a coleta, manipulação, transporte e estocagem da amostra); e erro analítico (relacionado diretamente ao método de dosagem). Estes fatos levaram o *National Institute of Health* dos Estados Unidos, através do seu Programa Nacional de Educação sobre Colesterol (NCEP), a estabelecer critérios rígidos de avaliação dos métodos usados, que se consubstanciou no Painel de Padronização Laboratorial para lípidos (LSP)<sup>7</sup>, que recomenda normas e padronização de coleta, assim como estabelece parâmetros de qualidade dos métodos, utilizando como níveis de exatidão e de precisão valores  $\leq 3\%$  para CT; 6% para HDL-C; 5% para triglicérides (TG).

É recente o lançamento do Cholestech-LDX, aparelho portátil que permite a dosagem simultânea dessas variáveis lipídicas em 5min, a partir de pequena quantidade de sangue, obtida por punção digital ou venosa. A utilização do aparelho facilita particularmente o rastreamento de distúrbios lipídicos em amostras populacionais. O objetivo da presente investigação foi o de avaliar a precisão e exatidão das determinações de lípidos obtidas através do Cholestech-LDX, e também aspectos técnicos envolvidos na sua utilização, comparando seus resultados aos de métodos convencionais utilizados no Laboratório Clínico do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da USP.

### Métodos

O Cholestech-LDX é um equipamento portátil, com 22cm de comprimento, por 13cm de altura e 13cm de largura, pesando aproximadamente 800g, e que com amostra de 35 $\mu$ L (sangue total, plasma ou soro) processa dosagens de CT, TG, HDL-C e glicose, fornecendo valores da fração LDL-C, calculados a partir da fórmula de Friedewald<sup>8</sup> [LDL-C = CT - (HDL-C + TG/5)].

O princípio consiste na colocação da amostra de sangue total ou plasma (coletada de ponta de dedo ou venoso) num tubo capilar coberto com lítio heparina, que é aplicado num cassete, posteriormente, inserido no Cholestech-LDX (fig. 1). Neste momento existe a separação do plasma das células sanguíneas: a porção plasmática direcionada para lado direito do cassete, aciona os sítios de reação de CT e de TG, e a porção plasmática direcionada para a esquerda do cassete, aciona os sítios de reação de HDL-C.

O Cholestech-LDX dosa o CT e HDL-C por método enzimático, através de reações de química seca, baseado no método de Allain e col<sup>9</sup> e Roeschlau e col<sup>10</sup>. Os TG são dosados por método enzimático através de química seca, baseado na hidrólise dos mesmos pela *cholesterol esterase* em glicerol e ácidos graxos livres. Todas as reações utilizam

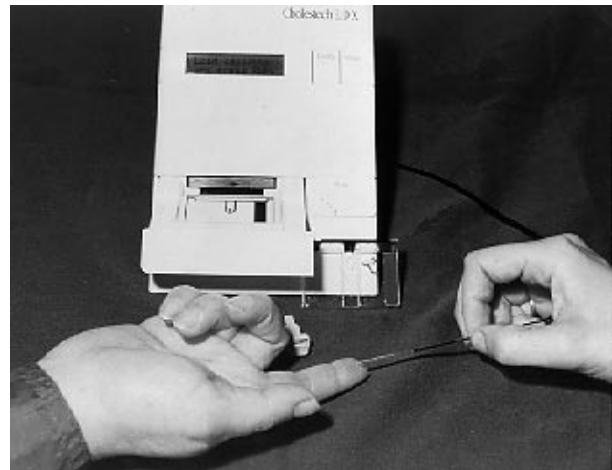


Fig. 1 - Cholestech -LDX e respectivo cassete (seta) onde se coloca a amostra de sangue

peroxidase e as cores resultantes são medidas por fotometria refletiva.

Cada cassete contém uma fita magnética com informações necessárias para a calibração requerida pelo Cholestech-LDX para converter a leitura fotométrica em % de reflexão (% R) em concentração por mg/dl de CT, HDL-C e TG.

O método utilizado no laboratório Clínico do Incor para dosagem de CT, HDL-C e TG é o enzimático automatizado. As amostras de soro são submetidas a analisadores bioquímicos automatizados *Cobas Mira Plus* da Roche para dosagem de CT e HDL-C e Abbott VP para dosagem de TG.

A determinação do HDL-C é realizada pela dosagem de CT do sobrenadante obtido a partir da precipitação da amostra de soro com ácido fosfotungstíco/cloreto de magnésio.

Foram utilizados como calibradores o soro calibrador marca BMB e como controles os soros comerciais BMB e Roche. Além disso foram analisados, juntamente com as amostras, soros comerciais do Programa de Controle de Qualidade Internacional da Baxter Inc. Amostras de soro do laboratório foram enviadas ao *Pacific Biometrics Research Foundation*, serviço credenciado pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), órgão reconhecido oficialmente pelo LSP<sup>7</sup>, o que possibilitou tomar os resultados do Laboratório do Incor como referência para este estudo.

A investigação envolveu duas fases. Na 1ª (fase piloto) foram feitas: a) avaliação de eventuais diferenças entre lotes de cassetes disponíveis para as dosagens lipídicas. Foram feitas duas punções digitais em 20 pacientes ambulatoriais e as amostras duplicadas submetidas a dosagens através de dois lotes de cassetes (lotes A e B); b) análise da interferência de condições técnicas na coleta do sangue da polpa digital e os resultados obtidos com as 10 primeiras amostras de sangue da polpa digital foram comparados aos obtidos em 10 amostras subsequentes, quando supostamente já haveria maior habilidade técnica na coleta.

Os resultados desta fase receberam as seguintes análises

lises: 1) foram comparadas as dosagens de CT realizadas nos lotes A e B pelo teste t pareado (nível de significância de 5%  $p < 0,05$ ). A interferência das condições de coleta sobre os resultados de CT, HDL-C e TG foi avaliada pela comparação dos coeficientes de variação analítica (que exprime a dispersão dos resultados em termos relativos ao valor médio do conjunto), considerando o conjunto dos 10 primeiros pacientes (conjunto 1) contra o conjunto dos 10 pacientes subsequentes (conjunto 2). Na 2ª fase (fase estudo), foram determinadas a exatidão (variação máxima, para mais ou para menos, do valor obtido em relação ao método de referência padrão) e a precisão (variação máxima, para mais ou para menos, em determinações repetidas da mesma amostra e no mesmo laboratório, expressa através do coeficiente de variação analítico) das dosagens de CT, HDL-C e TG do cholestech-LDX, a partir de amostras de sangue obtidas de pacientes do ambulatório do InCor, adotando-se a seguinte seqüência: coleta de sangue da veia braquial de 45 pacientes cujas amostras do sangue total e dos respectivos soros foram usadas para dosagens de rotina no laboratório clínico e para dosagens no Cholestech-LDX; coleta de sangue da polpa digital de 25 pacientes aleatórios, dentre os 45 acima referidos, para dosagens no Cholestech-LDX. Assim, em 25 pacientes foram feitas três dosagens: da polpa digital, do sangue venoso e do soro.

A precisão foi obtida submetendo uma mesma amostra de sangue venoso a 20 dosagens no cholestech-LDX, sendo os resultados analisados por meio do coeficiente de variação analítica (Cva).

A exatidão foi determinada confrontando os resultados do Cholestech-LDX com os obtidos no laboratório clínico do InCor, tomado como padrão de referência. Com os dados das variações para mais e para menos determinou-se a variação média. Os resultados da precisão e da exatidão para as diferentes variáveis foram analisados em relação aos recomendados pelo NCEP.

## Resultados

Fase piloto - Não houve diferenças significativas entre as dosagens das variáveis lipídicas realizadas através do cassete do lote A e aquelas realizadas através dos cassetes do lote B ( $p=0,92$ ).

O Cva das variáveis lipídicas (CT, HDL-C e TG) obtidos no conjunto 1 (10 primeiros pacientes) foi mais elevado que o obtido no conjunto 2 (10 pacientes subsequentes) (tab. I).

Fase estudo - precisão do Cholestech-LDX: os valores percentuais do Cva obtidos através das determinações lipídicas no Cholestech-LDX atendem às recomendações do NCEP (tab. II); exatidão do Cholestech-LDX: as médias e os respectivos desvios-padrão para cada variável, referente às determinações obtidas no Cholestech-LDX (para amostras da polpa digital, do sangue venoso e do soro) e às obtidas no laboratório clínico do InCor estão na tabela III.

Todas as determinações em amostras de sangue da

Variáveis	Conjunto 1	Conjunto 2
CT	1,3%	0,2%
HDL-C	2,1%	0,6%
TG	1,02%	0,2%

CT- colesterolemia total; HDL-C- colesterol ligado a lipoproteína de alta densidade; TG- trigliceridemia

Variáveis	Cholestech-LDX	NCEP
CT	3,05%	≤3,0%
HDL-C	1,05%	≤6,0%
TG	2,65%	≤5,0%

CT- colesterolemia total; HDL-C- colesterol ligado a lipoproteína de alta densidade; TG- trigliceridemia; NCEP- *National Cholesterol Education Program*

	Cholestech-LDX		Laboratório InCor	
	Sangue venoso	Ponta dedo Soro	Soro	
CT	222±46	224±45	223±41	227±43
HDL-C	43±16	46±18	46±15	45±15
TG	193±129	192±122	194±125	188±119

CT- colesterolemia total; HDL-C- colesterol ligado a lipoproteína de alta densidade; TG- trigliceridemia; NCEP- *National Cholesterol Education Program*

polpa digital, venoso e as do soro, realizadas no cholestech-LDX, foram comparadas com as realizadas por rotina convencional do laboratório clínico do InCor. As variações percentuais entre os resultados assim obtidos e os valores recomendados pelo NCEP para a exatidão estão na tabela IV.

	Polpa digital	Sangue Venoso	Soro	NCEP
CT	1,16%	2,25%	1,6%	3%
HDL-C	-0,93%	3,85%	-2,74%	6%
TG	-1,67%	-1,13%	-2,11%	5%

CT- colesterolemia total; HDL-C- colesterol ligado a lipoproteína de alta densidade; TG- trigliceridemia; NCEP- *National Cholesterol Education Program*

## Discussão

Tendo como referência os padrões sugeridos pelo NCEP, os dados obtidos nesta investigação permitem expressar que o Cholestech-LDX executa as dosagens de CT, TG e de HDL-C com precisão e exatidão.

A confiabilidade nos resultados de dosagens dos lípidos sanguíneos é absolutamente fundamental para o diagnóstico e orientação terapêutica dos diferentes estados dislipidêmicos. Baseados em valores que derivam do uso de métodos de baixa precisão e exatidão, há a possibilidade de que alguns indivíduos deixem de ser tratados e que outros sejam submetidos a longo prazo e sem necessidade, a programas terapêuticos rigorosos<sup>11</sup>. Por exemplo, em um indivíduo a verificação de colesterolemia de 190mg/dL significaria baixo risco para DAC, por ser <200mg/dL, que é o valor de referência desejável pelo Consenso<sup>5</sup>. Contudo se esse valor foi obtido por meio de método com precisão e exatidão >3%, o valor real poderia ser mais elevado. Assim, poderia estar incorrendo em erro que levasse à exclusão desse indivíduo de qualquer orientação terapêutica. Por outro lado, a constatação de valores >240mg/dL poderia levar a manter o indivíduo sob tratamento prolongado dispensável.

É fundamental salientar que, embora o Cholestech-LDX realize dosagens com precisão e exatidão, para se obter tais resultados é importante seguir a padronização da técnica de coleta e do manuseio do equipamento, obedecendo às normas indicadas em seu manual. A observância dessas condições permite a obtenção de resultados mais confiáveis, evitando assim interferência de erros na fase pré-ana-

lítica. A fase piloto evidencia este aspecto, mostrando que o coeficiente de variação analítica do conjunto 1 das medidas, foi maior que o coeficiente de variação do conjunto 2, embora todos estivessem dentro da faixa recomendada pelo NCEP. Essa variação menor foi obtida pelo maior rigor técnico na coleta, com especial atenção a detalhes como: secagem do álcool residual da polpa digital; desprezo da primeira gota de sangue; nenhuma ou pequena pressão sobre o dedo puncionado; tempo de colocação da amostra de sangue no tubo capilar <20s; inexistência de bolhas de ar no tubo capilar utilizado, e tempo <4min na colocação do sangue do capilar no cassete. A não observância destas variáveis técnicas pode interferir nos valores dos lípidos, por mecanismos de hemoconcentração ou hemodiluição<sup>12</sup>.

Considerando ser o Cholestech-LDX equipamento portátil, capaz de realizar estas determinações em 5min, em sangue obtido por punção digital, este tem os atributos necessários aos levantamentos populacionais (incluindo também facilidade para dosar lípidos em crianças), podendo também ser excelente auxiliar de ambulatórios e clínicas privadas. É importante considerar que o aparelho fornece de imediato o valor da fração LDL-C (mg/dl), permitindo a estratificação do risco coronário individual. Embora seu custo operacional seja mais elevado que a dos laboratórios clínicos que utilizam métodos automatizados, suas características podem justificar o seu emprego, particularmente quando do estudo de amostras populacionais.

Concluimos, pois, que o Cholestech-LDX é um equipamento preciso e exato, segundo os critérios estabelecidos pelo NCEP.

## Referências

1. Kannel WB, Castelli W, Gordon T et al - Cholesterol in the predictive of atherosclerotic disease, new perspective based on The Framingham Study. *Ann Int Med* 1979; 90: 85-91.
2. Armstrong ML, Heistad DD, Marcus ML et al - Structural and hemodynamic responses of peripheral arteries of macaque monkeys to atherogenic diet. *Arteriosclerosis* 1985; 5: 336-46.
3. Giannini SD, Forti N, Issa JS et al - Valor do tratamento das dislipidemias no prognóstico de pacientes com doença arterial coronária. *Arq Bras Cardiol* 1995; 65: 297-9.
4. Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. *Ann Int Med* 1989; 149: 505-10.
5. Consenso Brasileiro sobre Dislipidemia. Detecção, Avaliação e Tratamento. *Arq Bras Cardiol* 1993; 61(supl): 1-13.
6. Bowers Jr GN - Accuracy and blood cholesterol measurements. *Clin Chem* 1988; 34: 192.
7. Current status of blood cholesterol measurements in clinical laboratories in the United States: a report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. *Clin Chem* 1988; 34: 193-201.
8. Warnick GR, Knopp RH, Fitzpatrick V et al - Estimating low-density lipoprotein cholesterol by the Friedewald equation is adequate for classifying patients on the basis of nationally recommended cutpoints. *Clin Chem* 1990; 36: 15-19.
9. Allain CC, Poon LS, Chan CSG et al - Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 1974; 20: 470-5.
10. Roeschlau P, Bernt E, und Gruber W - Enzymatische bestimmung des gesamtcholesterins im serum. *Z Klin Chem Biochem* 1974; 12: 226.
11. Thompson SG, Pocock SJ - The variability of serum cholesterol measurements: implications for screening and monitoring. *J Clin Epidemiol* 1990; 43: 783-9.
12. Laboratory Methods Committee - Lipid Research Clinics Program. Cholesterol and triglyceride concentrations in serum/plasma pairs. *Clin Chem* 1971; 23: 60-3.