

Avaliação da repetibilidade de um aparelho analisador bioquímico na medição da glicose pelo método enzimico-colorimétrico

Repeatability evaluation of a biochemical analyzer instrument in the measurement of glucose by the enzymatic colorimetric method

**Tavany Elisa Santos Maciel¹, Vicente Machado Neto^{1,2},
Miguel Antonio Sovierzoski^{1,2}**

¹ Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica (PPGEB-UTFPR),

² Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)

E-mail: miguelaso@utfpr.edu.br, vmachado@utfpr.edu.br

Resumo: Um dos exames mais solicitados na rotina do laboratório clínico é o de dosagem da glicose, devido a sua importância no diagnóstico e na monitoração terapêutica de várias doenças. Para ter uma confiabilidade maior nos resultados é importante avaliar a repetibilidade de medição para valores dentro da escala do aparelho. Este trabalho apresenta uma avaliação de repetibilidade da dosagem de glicose em um analisador automatizado de bioquímica.

Palavras-chave: erro de medição, repetibilidade, medição de glicose, metrologia química.

Abstract: Commonly executed in clinical laboratory exams, glucose ratio exams have a significant role on the diagnosis of diseases as well as monitoring. In order to obtain greater confiability in the exam results its important to evaluate measurement repeatability of values within the instrument determined range. This work presents a repeatability evaluation in glucose exams operating biochemical instruments.

Keywords: measurement error, repeatability, glucose measurement, chemical metrology.

1. INTRODUÇÃO

Os avanços das pesquisas biomédicas têm atingido de maneira impactante os laboratórios clínicos, aumentando as opções de exames e as técnicas a serem realizadas. Com isso, os médicos utilizam-se cada vez mais de exames laboratoriais para auxiliar no diagnóstico, no controle e no tratamento de doenças [1].

O controle de qualidade é fundamental para os laboratórios clínicos, pois a confiabilidade metrológica dos resultados está diretamente ligada ao controle de qualidade. O documento do INMETRO, DOQ-CGCRE-016 [2], aborda o controle de qualidade de medição abrangendo a validação do método, calibração, estimativa de incerteza de medição, pessoal qualificado e os ensaios de proficiência (Garantia de Qualidade

Externa). Este trabalho avalia a repetibilidade de medidas de um aparelho de análise bioquímica.

2. MÉTODOS

Antes das medidas, foi realizado o controle de qualidade interno do laboratório com uma amostra de referência do Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ). O PNCQ é certificado pela ABNT em conformidade com a NBR ISO 9001:2008. O soro para controle dos exames de bioquímica é de origem humana liofilizado, sendo diluído com 10 ml de água ionizada e armazenada em *ependorf* congelada a -20°C . Essa amostra é passada no aparelho duas vezes ao dia, para garantir a estabilidade e confiança nas medidas do aparelho. Cada analito que é testado possui intervalos de valores de referência. Este estudo utilizou a amostra do lote BQIN041011, com intervalo de referência da glicose de 179 a 205 mg/dl.

2.1 Critérios de inclusão e exclusão de amostra

As amostras utilizadas no trabalho foram de amostras residuais do laboratório clínico. Foi aceita uma amostra que apresentou um valor normal de glicose na primeira medição e outra que apresentou um valor alterado, fora da faixa de normalidade, na primeira medição.

2.2 Sistema de medição

O analisador bioquímico TARGA 3000® possui uma fonte de luz com lâmpada dicróica halógena de 35 watts. Possui detectores com fotodiodos de silício, fazendo leituras em 340, 380, 405, 436, 480, 510, 548, 578, 630 e 700 nanômetros.

2.3 Fontes de erros na dosagem de glicose

As principais fontes de erros relacionados ao processo de medição da glicose são: paciente sem jejum ou jejum incorreto, coleta no tubo errado (erro grosseiro), coleta difícil hemolisando a amostra, centrifugar sem retrainir o coágulo (tubo gel), demora em realizar a análise, aparelho não calibrado, reagente degradado ou fora da

temperatura ideal (2°C - 8°C). Todas estas fontes de erros devem ser monitoradas para tornar os resultados mais próximos dos valores reais.

3. ERRO DE MEDIÇÃO

O erro de medição (3.1) ocorre quando o valor indicado pelo sistema de medição não corresponde ao valor verdadeiro do mensurado [3].

$$E = I - VV \quad (3.1)$$

Onde: E é o erro de medição, I é a indicação do sistema de medição, e VV é o valor verdadeiro do mensurado.

A equação (3.1) é utilizada quando o valor verdadeiro do mensurado é conhecido. Quando não se conhece o valor exato do mensurado utiliza-se o valor verdadeiro convencional que é uma estimativa do valor verdadeiro do mensurado. Com isso utiliza-se a equação (3.2):

$$E = I - VVC \quad (3.2)$$

Onde: E é o erro de medição, I é a indicação do sistema de medição, e VVC é o valor verdadeiro convencional do mensurado.

Os erros de medição são classificados em erro sistemático e erro aleatório. O erro sistemático corresponde ao valor médio do erro de medição e o erro aleatório corresponde a parcela imprevisível do erro de medição, responsável pelas variações encontradas em medições repetidas [3].

Neste trabalho, como o valor verdadeiro do mensurado não é bem definido, está numa faixa de valores, calcula-se então o erro sistemático pela estimativa da tendência (3.3):

$$Td = \bar{I} - VVC \quad (3.3)$$

Onde: Td é uma estimativa da tendência, I é a média de um número finito de indicações, e VVC é o valor verdadeiro convencional do mensurado.

4. EXPERIMENTO

Neste trabalho foram realizadas vinte medições repetidas de uma amostra com alto valor de glicose e vinte medições repetidas de uma amostra com baixo nível de glicose. Antes das análises foi realizado o controle do aparelho com a amostra de soro do PNCQ.

Como o valor normal de glicose é de 60-100 mg/dL, foi utilizado VVC de 100 mg/dL para as indicações com alto nível de glicose e VVC de 60 mg/dL para as indicações com nível normal de glicose. As Td encontradas seguem na tabela (1).

Tabela 1. Tendência.

glicose (mg/dL)	Td
63,4-69,8	5,82
136-146	41,25

Para corrigir o erro sistemático calcula-se a correção (4.1) que é a constante aditiva a indicação, compensando o erro sistemático.

$$C = Td = VVC - \bar{I} \quad (4.1)$$

Quando elimina-se a parcela de erro sistemático adicionando a correção nas indicações, obtém-se a indicação corrigida, que é a indicação de um sistema de medição após a compensação dos erros sistemáticos. As tabelas 2 e 3 apresentam a correção (C), a indicação corrigida (IC) e o erro aleatório (Ea).

Tabela 2. Leituras da amostra de glicose na faixa de 63,4 a 69,8 mg/dL.

Amostra	I	C	IC	Ea
1	65,4	-5,82	59,58	-0,42
2	64,6	-5,82	58,78	-1,22
3	63,8	-5,82	57,98	-2,02
4	65,0	-5,82	59,18	-0,82
5	64,7	-5,82	58,88	-1,12
6	66,6	-5,82	60,78	0,78
7	65,6	-5,82	59,78	-0,22
8	63,4	-5,82	57,58	-2,42
9	63,9	-5,82	58,08	-1,92
10	65,1	-5,82	59,28	-0,72

11	68,5	-5,82	62,68	2,68
12	66,9	-5,82	61,08	1,08
13	67,6	-5,82	61,78	1,78
14	65,0	-5,82	59,18	-0,82
15	69,8	-5,82	63,98	3,98
16	68,0	-5,82	62,18	2,18
17	67,5	-5,82	61,68	1,68
18	65,1	-5,82	59,28	-0,72
19	64,3	-5,82	58,48	-1,52
20	65,7	-5,82	59,88	-0,12

Tabela 3. Leituras da amostra de glicose na faixa de 136 a 146 mg/dL.

amostra	I	C	IC	Ea
1	140	-41,25	98,75	-1,25
2	139	-41,25	97,75	-2,25
3	137	-41,25	95,75	-4,25
4	136	-41,25	94,75	-5,25
5	139	-41,25	97,75	-2,25
6	140	-41,25	98,75	-1,25
7	139	-41,25	97,75	-2,25
8	140	-41,25	98,75	-1,25
9	144	-41,25	102,75	2,75
10	145	-41,25	103,75	3,75
11	146	-41,25	104,75	4,75
12	144	-41,25	102,75	2,75
13	140	-41,25	98,75	-1,25
14	139	-41,25	97,75	-2,25
15	143	-41,25	101,75	1,75
16	140	-41,25	98,75	-1,25
17	146	-41,25	104,75	4,75
18	139	-41,25	97,75	-2,25
19	145	-41,25	103,75	3,75
20	144	-41,25	102,75	2,75

5. REPETIBILIDADE

O erro aleatório, como pode ser observado nas tabelas 2 e 3, é imprevisível, então utiliza-se a repetibilidade para determinar a faixa em que o erro aleatório é esperado. A repetibilidade é a variação das medidas obtidas por um único operador, utilizando o mesmo aparelho de medição e método, ao medir repetidas vezes uma mesma grandeza de uma única peça, é a faixa de valores dentro do qual o erro aleatório de um sistema de medição é esperado. Neste caso foram

realizadas vinte determinações de uma mesma amostra passadas no aparelho pelo mesmo operador, nas mesmas condições e no mesmo dia. Uma amostra com valor de glicose normal e outra amostra com valor de glicose elevado. Determinou-se a média dos valores, o desvio-padrão, e a repetibilidade da média de “n” indicações de medições repetidas (tabela 4).

Tabela 4. Cálculos de repetibilidade.

Repetibilidade	Amostra normal	Amostra alterada
Glicose [mg/dL]	63,4-69,8	136-146
Média	65,82	141,25
Desvio padrão	1,73	3,06
Repetibilidade	3,70	6,55
Repetibilidade da média	0,83	1,46

A repetibilidade é calculada por (5.1) e a repetibilidade da média por (5.2).

$$Re = t.u \quad (5.1)$$

$$Re I = \frac{t.u}{\sqrt{20}} \quad (5.2)$$

Onde: Re é a repetibilidade, t é o coeficiente de *student* = 2,14 para $n=20$, u é a incerteza-padrão (desvio padrão da amostra) e $Re I$ é a repetibilidade da média de “n” indicações de medições repetidas.

6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O erro aleatório é imprevisível, mais se fizéssemos a 21ª medição o erro aleatório da tabela 2, provavelmente, estaria entre 0,12 mg/dL-3,98 mg/dL, e o erro aleatório da tabela 3 provavelmente estaria na faixa de 1,25-5,25 mg/dL, isso se confirma com a repetibilidade, que delimita a amplitude da ação do erro aleatório onde mostra que o erro aleatório da dosagem da glicose pelo sistema de medição em estudo está na faixa de $\pm 3,68$ mg/dL e $\pm 6,52$ mg/dL (tabela 5).

A média das medições repetidas do mensurado (tabela 4) reduziu consideravelmente os erros aleatórios, em comparação com a repetibilidade (tabela 4), essa diferença é devido a um número grande de medições, se aumentarem os números das medições o erro aleatório seria menor ainda. Foi importante encontrar esses valores para estimar a faixa de incerteza associada ao resultado de medição do aparelho.

7. CONCLUSÕES E COMENTÁRIOS

Com o erro de medição obteve-se a correção das indicações e determinou-se a faixa de erro aleatório, assim melhoramos as indicações aumentando a confiabilidade dos resultados, garantindo o melhor tratamento para os pacientes.

O erro sistemático foi maior para a amostra com um nível de glicose alto, isso pode ser justificada pela instabilidade do reagente, a conservação da amostra, ou até mesmo por essa amostra ter um valor de glicose alterada.

O aparelho apresenta uma boa repetibilidade, pois o erro aleatório foi baixo. Esse erro sempre vai existir, espera-se com novas medições encontrar fontes de incertezas que justifiquem esses erros aleatórios e assim, quem sabe, minimizar a ocorrência deles, aumentando a confiabilidade do sistema de medição.

REFERÊNCIAS

- [1] Xavier R X *et al.* 2010 *Laboratório na Prática Clínica*. 2ª Ed, Porto Alegre, Artmed
- [2] INMETRO 2011 DOQ-CGCRE-016 – *Orientação para a Seleção e uso de Materiais de Referência*. Revisão 02-2010, 15 páginas
- [3] Albertazzi A G, Sousa A R 2008 *Fundamentos de Metrologia Científica e Industrial*. 1ª Ed. São Paulo, Manole