



Estudo comparativo da glicemia em soro e em plasma de pacientes atendidos pelo laboratório da Faculdade de Medicina do ABC

Comparative evaluation of glucose measurements in serum and plasma of patients from the ABC School of Medicine laboratory

Recebido em 09/12/2009

Aceito em 14/02/2011

Nádia Cristina Croque Pegoraro¹, Thaís Moura Gascón¹, Aleksandra Vanessa Lambiasi Sant'Anna¹, Ana Paula Fantinato Moreira¹, Adriana Florentino de Souza², Ligia Ajaimé Azzalis³, Edimar Cristiano Pereira³, Virginia Berlanga Campos Junqueira, Enny Fernandes Silva¹, Fernando Luiz Affonso Fonseca^{1,3*}

¹ Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Lab. de Análises Clínicas, Disciplina de Hematologia e Oncologia, Santo André, SP, Brasil

² Universidade Católica de Santos (UNISANTOS), Curso de Farmácia e Bioquímica, Disciplina de Bioquímica, Santos, SP, Brasil

³ Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Departamento de Ciências Biológicas, Diadema, SP, Brasil

RESUMO

A glicose possui papel fundamental na pesquisa de certas patologias e por ser tão presente na rotina Laboratorial, esse estudo buscou analisar se a dosagem de glicemia sofria algum tipo de alteração em relação ao tubo em que a amostra era coletada. Outro ponto importante nessa pesquisa, foi focar a importância da parte pré-analítica, sendo essa responsável por até 70% de uma análise bioquímica total. Utilizou-se tubo seco e com fluoreto/EDTA para a obtenção de soro e plasma, respectivamente. Das 202 amostras analisadas, a glicemia no soro apresentou uma média de $115,43 \pm 37,86$ e no plasma $114,13 \pm 37,61$. O teste *t* pareado mostrou diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,001$) e a correlação entre os métodos foi positiva e forte ($r = 0,991$; $p < 0,001$). Foi observada reprodutibilidade das concentrações de glicose nos dois métodos de coleta. Sendo assim, tanto a dosagem no soro quanto no plasma são factíveis para se avaliar glicose quando se prepara e centrifuga-se a amostra até 1 hora e 30 minutos após a venopunção. Desse modo, enfatiza-se que a preparação da amostra e a recomendação na fase pré analítica interferem na determinação e na geração de resultados.

Palavras-chave: Glicemia, Soro, Plasma, Dosagem

ABSTRACT

Glucose has a fundamental role in diagnosis of specific pathologies, and it is a routine laboratory exam. The principle aim of this study was to analyze whether glucose measurement was altered by its collection method. An additional important aim in this study was to evaluate the relationship between the pre-analytical phase and the final result because the pre-analytical phase is responsible for up to 70% of the total biochemical analysis. Dry and Fluoride/EDTA tubes were used to obtain serum and plasma, respectively. A total of 202 samples were analyzed. The serum and glucose averages were 115.43 ± 37.86 and 114.13 ± 37.61 , respectively. The paired t-test showed a significant difference ($p < 0.001$), and there was both a strong and positive correlation ($r = 0.991$, $p < 0.001$) between the two methods. The measurement of glucose concentration from both collection methods was reproducible. Glucose levels were measureable from both the serum and plasma collection methods for up to 1.5 hrs following vein collection. This study has demonstrated that both sample management and the pre-analytical method used can modify the end results.

Keywords: Blood glucose, Serum, Plasma, Measurement

* **Contato:** Laboratório de Análises Clínicas da FMABC Av. Lauro Gomes, 2000 CEP: 09060-870 – Santo André (SP) – Tel.: 4993-5488, e-mail: fon_fonseca@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A glicose é o monossacarídeo presente em maior quantidade no sangue, onde é transportada em concentrações bem controladas e recebe o nome de glicemia (do grego *glucos* - açúcar e *hemos* - sangue) (Ferreira, 2010). A glicose consumida pelas células do nosso organismo é obtida principalmente da dieta ou do glicogênio hepático. A membrana celular é permeável a glicose livre no sangue. A função da glicose é gerar energia na forma de ATP (adenosina trifosfato) nas células, mas, para isso, precisa ser convertida em piruvato, através de uma via chamada de glicolítica (Ferreira, 2010). Uma molécula de glicose é convertida em duas moléculas de piruvato. Assim, que o piruvato é sintetizado, ele pode ser convertido em dióxido de carbono e água nas reações aeróbicas ou seguir outra via, sendo convertido em lactato, em condições anaeróbicas (Campbell, 2001). Além da via glicolítica ser utilizada em todos os tecidos para a quebra da glicose com o objetivo de fornecer energia, também pode ser considerada intermediária de outras vias metabólicas. Pode ser definida então, como a maneira pela qual a glicose é degradada pelos organismos vivos, com o principal propósito de liberar a energia para as funções biológicas (Champe *et al.*, 2006).

A análise bioquímica para avaliar a concentração de glicose no sangue é a glicemia em jejum, a qual exige do paciente um jejum de 12 horas e condições adequadas no ambiente de coleta para evitar estressá-lo. A fase pré-analítica é responsável por cerca de 70% do resultado final da análise laboratorial. Essa fase inclui a indicação do exame, redação da solicitação, transmissão de eventuais instruções de preparo ao paciente, condições prévias do local de coleta, procedimento correto de coleta, acondicionamento, preservação e transporte da amostra biológica até o momento em que o exame seja efetivamente realizado, envolvendo uma sequência de ações de um grande número de pessoas e qualquer erro pode gerar um resultado final incorreto (Brasil, 2005). O valor de referência utilizado na determinação de glicemia é de até 99 mg/dL (American Diabetes Association, 2005). Para a dosagem de glicose não é necessário nenhum tipo de garrote específico e a ordem dos tubos não interfere nos resultados, diferente de alguns exames que necessitam de ordem específica de coleta ou o não garroteamento, entre outras especificações. Idade e sexo não são interferentes (a não ser no caso do Teste de tolerância à glicose) que prevê concentrações diferentes entre adultos e crianças (BRASIL, 2005). No entanto, fatores externos podem interferir especificamente na dosagem glicêmica. Fatores como exercícios físicos, estresse e alguns medicamentos podem alterar o resultado (BARBOSA & ANDRADE, 2008).

Rotineiramente, para a realização das dosagens de glicemia nos Laboratórios de Análises Clínicas, as coletas são efetuadas nos tubos que contém a presença do anticoagulante Fluoreto de Sódio (tampa cinza) e tanto para o exame de Teste de tolerância à glicose como para a glicemia pós-prandial, podem ser usados tubos com gel (tampa amarela) que contém ativador de coágulo jateado nas paredes do tubo, cuja função é acelerar o processo de coagulação. Com a automação, existe a possibilidade da utilização desses tubos com gel, facilitando a rotina laboratorial e diminuindo o risco de erro pré-analítico (BD, 2009).

Devido à realização de um grande número de dosagens de glicose atualmente feitos em nosso Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Medicina do ABC, surgiu o interesse de comparar os resultados da dosagem de glicemia

no soro e no plasma, tendo como propósito adotar apenas a dosagem de glicemia realizada rotineiramente no soro, verificando a possibilidade de maior praticidade sem que haja qualquer tipo de interferência e alteração no resultado clínico.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do trabalho foram coletadas 202 amostras de pacientes que utilizaram os serviços de análises laboratoriais da Faculdade de Medicina do ABC. Nesse estudo, os tubos utilizados para a coleta do sangue venoso foram da marca BD Vacutainer®. O período de coletas realizou-se no mês de maio de 2007 sendo que os pacientes apresentaram o pedido do exame de glicemia de jejum em suas solicitações médicas. Foi preconizado um protocolo de dois tubos para realização da glicemia sendo que um era BD Vacutainer® Fluoreto/EDTA e o outro, BD Vacutainer® Gel BD SST® II Advance, destinado para a obtenção de plasma e soro, respectivamente. As amostras foram obtidas através do método de venopunção, seguindo o procedimento padrão do serviço de coleta do laboratório. As amostras foram enviadas ao laboratório para o processo de centrifugação (10 minutos a 2.500 rpm) e posteriormente ao setor de análises bioquímicas. No total, o tempo gasto em todos os processos foi de aproximadamente uma hora e trinta minutos.

As amostras lipêmicas ou hemolisadas não foram incluídas no estudo. As dosagens foram realizadas no aparelho Express onde a reação utilizada foi a de Método Colorimétrico-Enzimático. Assim, tendo a glicemia de jejum realizada nos dois diferentes tubos, foi realizada uma análise estatística comparativa dos resultados obtidos através do Software SPSS, versão 16.0.

Todos os pacientes do estudo foram informados sobre a utilização das amostras biológicas e autorizaram, voluntariamente, sua utilização no estudo após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina do ABC (processo nº 109/07).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a determinação das concentrações de glicose utilizando os dois métodos de coleta, foram calculados a média, o desvio padrão, a mediana e o coeficiente de variação tanto no soro quanto no plasma. Os valores mínimos e máximos de glicose também foram determinados nos dois tipos de amostras. Os valores encontrados estão explicitados na Tabela 1.

Foi realizado o estudo do teste *t* pareado comparando os valores de glicemia obtidos em cada um dos processos, mostrando diferenças significativas nos valores em soro e plasma.

Os resultados mostram que os valores em soro são relativamente mais altos que os valores em plasma ($p < 0,001$). Apesar de poucos trabalhos na literatura discutirem os valores de glicemia obtidos no soro e plasma, Schrot *et al.* (2007) obtiveram resultados semelhantes aos aqui apresentados. Segundo os citados autores, o tempo necessário para se obter o soro, atrasa a dosagem de glicose, podendo contribuir para que a diferença entre a dosagem sérica de glicose seja de 2 a 5% maior do que a plasmática.

Tabela 1. Variáveis descritivas obtidas em amostras de soro e plasma (mg/dL)

Glicose	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	CV	P
Soro	202	115,43	37,86	103,00	72,00	327,00	32,79	< 0,001
Plasma	202	114,13	37,61	101,00	70,00	314,00	32,96	

Como citado anteriormente, poucos trabalhos compararam as dosagens de glicose em soro e em plasma. Em relação à dosagem de glicose no sangue, encontrou-se um estudo de determinação das glicemias capilar e venosa com glicosímetro versus dosagem laboratorial de glicose plasmática (Cordova *et al.*, 2009); um artigo de revisão sobre os fatores que afetam a auto dosagem de glicose (Ginsberg, 2009) e um trabalho onde os níveis de glicose em sangue total de ratos machos Wistar-Kyoto diminuíram após estocagem de 3, 24 e 72 h (Peng *et al.*, 2010).

Após determinação dos valores citados anteriormente, foi verificada a correlação entre os métodos de dosagem propostos. A Figura 1 mostra a correlação positiva ($r = 0,991$; $p < 0,001$) entre os valores de glicose obtidos em soro e plasma. Dessa maneira, verifica-se que os resultados mostram-se confiáveis, independente da amostra ser em soro ou em plasma.

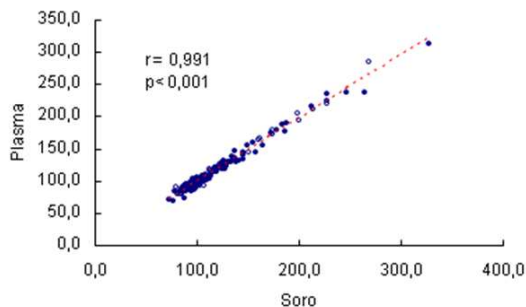


Figura 1. Correlação dos valores obtidos de glicose em soro e plasma.

Também foi determinada a reprodutibilidade das concentrações obtidas no soro e no plasma. A Figura 2 foi elaborada a partir de gráfico de Bland-Altman para avaliação de reprodutibilidade das concentrações e mostra que ambos os métodos são reprodutíveis, já que a média da diferença situa-se próximo a zero (-1,3) com intervalo de 95% de confiança.

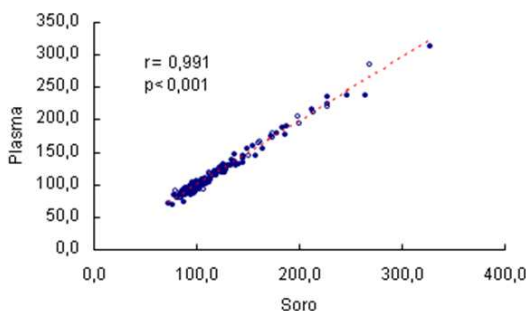


Figura 2. Gráfico de Bland-Altman; Reprodutibilidade das concentrações de glicose obtidas tanto em soro quanto em plasma.

Os resultados mostram que ambos os métodos são confiáveis. Tanto as amostras em soro como em plasma podem ser utilizadas na dosagem de glicose uma vez que há uma forte correlação entre os resultados obtidos nas amostras testadas nesse estudo. Segundo a Tabela 1 de resultados, pode-se observar que a medida das dispersões, ou desvio padrão (SD) obteve uma diferença de mais ou menos 0,25 e que a medida da variabilidade dos dados em relação à média, ou seja, o coeficiente de variação (CV) obteve uma pequena diferença de 0,17 entre as dosagens de glicose realizadas no tubo seco e as do tubo com fluoreto, portanto ambos são considerados eficazes para dosagens de glicemias.

O anticoagulante Fluoreto de Sódio tem como característica ser um inibidor glicolítico, impedindo a utilização da glicose pelas hemácias e leucócitos, sendo formado por uma solução de EDTA e de Fluoreto. O EDTA atua bloqueando o cálcio ionizado, originando um complexo insolúvel de EDTA – Cálcio e o Fluoreto, permitindo que a glicose se mantenha estável (Manual de procedimento, 2009). O fluoreto inibe a enzima enolase. A enolase é responsável pela conversão de 2-fosfoglicerato em fosfoenolpiruvato. Como consequência ocorre inibição da via glicolítica e assim previne o consumo de glicose pelas hemácias e leucócitos (Ferreira, 2010). O tubo seco por sua vez, apresenta apenas um ativador de coágulo jateado nas paredes do tubo e o gel separador que atua permitindo que o soro seja obtido com melhor qualidade e sem interferência das células presentes no sangue total. A rápida separação do soro evita o consumo de glicose pelas células do sangue (BD, 2009).

De acordo com esse estudo, pode-se utilizar o tubo Gel BD SST® II Advance® para a análise da glicemia em jejum. Isso foi possível devido ao fato da rotina laboratorial desse exame não exigir um anticoagulante, já que o exame é feito em menos de uma hora e meia. Por outro lado, o tubo BD Vacutainer® Fluoreto/EDTA é utilizado em exames que exigem um tempo a mais até a realização de sua análise, como é o exame de Teste de tolerância à glicose, onde devido ao próprio procedimento do exame, requer um tempo maior para cada amostra, sendo o anticoagulante necessário para que o resultado seja confiável (Junior *et al.*, 2007).

Esse estudo revelou que a avaliação pré-analítica torna-se fundamental para resultados precisos e confiáveis, pois a forma como o material é manipulado tem relação direta com o resultado final. O protocolo utilizado para o trabalho mostrou-se eficaz e confiável. Ambos os tubos eficientes, e devido a essas considerações, são utilizados na rotina do Laboratório.

As solicitações dos exames de glicose e curva glicêmica, bem como sua interpretação, vêm sendo alvos de grandes controvérsias e de disputas entre médicos, pacientes e laboratórios. Vale a pena lembrar que os primeiros testes de sobrecarga de glicose datam de 1958 e foram padronizados segundo os critérios do bioquímico O' Sullivan, quando ainda não existiam as diretrizes das grandes organizações mundiais da saúde (Ferraz, 2009), nem os consensos das atuais

sociedades científicas no mundo inteiro que trabalham com as chamadas evidências clínicas e epidemiológicas.

A dosagem de glicose é utilizada para a monitoração e descoberta de algumas patologias tendo como principal e predominante o Diabetes, sendo esta uma situação clínica frequente, acomete 7,6% da população adulta, 0,3% das gestantes (Gross *et al.*, 2002). Em 2005, a população de diabéticos no Brasil era superior a 4,5 milhões de pessoas, fato que colocou o país entre aqueles com o maior número de diabéticos no mundo (Wild *et al.*, 2004).

Alguns exames específicos são realizados para diagnóstico e tratamento do diabetes. A dosagem de glicemia de jejum e o Teste de tolerância à glicose são métodos simples, econômicos, de fácil execução (Ferraz, 2009).

A glicose deve ser dosada em no máximo uma hora e meia após a venopunção. O fluoreto tem como função evitar a glicólise, e estudos mostram que este processo, por possuir uma velocidade considerável, pode causar perda de glicose de 7mg/dL/h (quando em temperatura ambiente) e por este fato, a centrifugação imediata após a coleta deve ser priorizada (Wild *et al.*, 2004).

Quando não possível a centrifugação imediata, utiliza-se a refrigeração que mantém a amostra estável por até 48 horas (2-8°C), e quando não possível, recomenda-se a utilização de tubos acrescidos de um inibidor da glicólise que neste estudo foi o fluoreto, esse previne a glicólise por 1 hora (Wild *et al.*, 2004). Entretanto, alguns estudos mostram que mesmo na presença de fluoreto e com separação de plasma em 1 hora observa-se queda de 5-7% no valor total (Dimas & Sohler, 2008).

CONCLUSÃO

Após análise dos resultados conclui-se que as dosagens de glicose pelo protocolo utilizado no trabalho mostram uma correlação positiva e forte. Sendo assim, tanto a dosagem no soro quanto no plasma são factíveis para se avaliar glicose quando se prepara e centrifuga-se a amostra até 1 hora e 30 minutos após a venopunção. Desse modo, enfatiza-se que a preparação da amostra e a recomendação na fase pré analítica interferem na determinação e na geração de resultados.

AGRADECIMENTOS

A Faculdade de Medicina do ABC pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*; 28(1): S4-S36, 2005.
- Barbosa, C.A & Andrade, C.T. *Interferência do ácido ascórbico na dosagem glicêmica. Ciências da Saúde*, 6(2): 121-130, 2008.
- BD (Brasil Diagnostics). *Preanalytical Systems*. São Paulo, 2009. 76 p.
- Brasil. *Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / ML para Coleta de Sangue Venoso, elaborado pelo Comitê de Coleta de Sangue da SBPC/ML*, 2005. 76 p.

Campbell MK. *Bioquímica*. São Paulo: Artmed Editora, 2001. 751 p.

Champe CP, Harvey AR & Ferrier RD. *Bioquímica Ilustrativa*. São Paulo: Artmed Editora, 2006. 533 p.

Cordova CMM, Valle JP, Ymanaka, C.N. *et al.* *Determinação das glicemias capilar e venosa com glicosímetro versus dosagem laboratorial da glicose plasmática. J Bras Patol Med Lab.* 45(5): 379-384, 2009.

Dimas FL & Sohler PM. Exame do líquido cefalorraquidiano: influência da temperatura, tempo e preparo da amostra na estabilidade analítica. *J Bras Patol Med Lab.* 44(2): 97-106, 2008.

Ferraz I. Exames de Rotina para Diagnosticar Diabetes, Sociedade Brasileira de Diabetes, Disponível em: <http://www.diabetes.org.br/exames/531-exames-de-rotina-para-diagnosticar-o-diabetes>. Acesso em 05/10/2009.

Ferreira CP. *Bioquímica Básica*. 9. ed. São Paulo: MNP, 2010. 463 p.

Ginsberg BH. Factors affecting blood glucose monitoring: sources of errors in measurement. *J Diabetes Sci Technol.* 3(4): 903-913, 2009.

Gross LJ, Silveiro PS, Camargo LJ. *et al.* *Diabetes Mellito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. Arq Bras Endocrinologia e Metabolismo.* 46(1): 16-26, 2002.

Junior GA, Silva AAB, Martino MC. *et al.* Validação do sistema de transporte e das dosagens de amostras biológicas enviadas para a central de um laboratório de grande porte. *J. Bras. Patol. Med. Lab*, 43(4): 235-240, 2007.

Manual de procedimento. *Fluoreto-Anticoagulante*. Disponível em [HTTP://www.bioblin.com.br](http://www.bioblin.com.br). Acesso em 15/07/2009.

Peng TC, Hsu BG, Yang FL. *et al.* *Stability of blood chemistry levels in animal model research: effects of storage condition and time. Biological Research fo Nursing*, 11(4): 395-400, 2010.

Schrot RJ, Patel KT, Foulis P. Evaluation of inaccuracies in the measurement of glycemia in the laboratory, by glucose meters, and through measurement of hemoglobin A1c. *Clinical Diabetes*, 25(2): 43-49, 2007.

Wild S, Roglic G, Green A, *et al.* Global prevalence of diabetes. *Diabetes Care*, 27(5): 1047-1053, 2004.