



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS – MACPro**

Isabella Pinheiro Costa do Amaral

**Análise comparativa entre os métodos de HPLC e Imunoensaio por
Turbidimetria na dosagem de Hemoglobina Glicada**

Belém-PA
2017



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS – MACPro**

**Análise comparativa entre os métodos de HPLC e Imunoensaio por
Turbidimetria na dosagem de Hemoglobina Glicada**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas da Universidade Federal do Pará para obtenção do Título de Mestre

Mestranda: Isabella Pinheiro Costa do Amaral
Orientador: Prof. Dr. José Ricardo dos Santos Vieira

Belém-PA
2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Amaral, Isabella Pinheiro Costa do
Análise comparativa entre os métodos de HPLC e Imunoensaio por turbidimetria na dosagem de Hemoglobina glicada / Isabella Pinheiro Costa do Amaral. – Belém/PA, 2017. 21p.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, 2017
Orientador: Prof. Dr. José Ricardo dos Santos Vieira.

1. Diabetes Melittus. 2. Diagnóstico. 3. Hemoglobina glicada.
Universidade Federal do Pará.
Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas.

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, Carlos Alberto Amaral Costa (*in memoriam*), minha eterna inspiração. Homem ético e sensato. Tenho certeza que ele está extremamente feliz com a concretização deste sonho.

A minha mãe, Helena Maria da Penha Pinheiro da Costa, que dia a dia admiro ainda mais, por sua ternura e por sempre acreditar e estar junto às minhas conquistas.

Ao meu esposo Alberto Arruda do Amaral, grande incentivador e companheiro de todas as jornadas e que nas horas de maior aflição estava perto para ajudar e amenizar a tensão.

Aos meus filhos Lorena e Carlos Alberto que tenho orgulho de suas trajetórias.

Aos meus irmãos, pelo carinho que sempre me dispensaram.

Aos meus netos que me mostram diariamente a responsabilidade cada vez maior que terei ao longo da minha existência.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todos os dons e graças recebidas. Minha fé é constante.

Ao Prof. Dr. José Ricardo dos Santos Vieira, meu orientador, que, com muita competência, paciência e conhecimento, proporcionou-me as condições ideais para concretização deste trabalho. Um grande exemplo de profissional comprometido com o ensino e a pesquisa.

A todos os professores do curso pelos conhecimentos repassados.

Ao amigo David Bichara, que sempre me incentivou a fazer a seleção de mestrado, o meu agradecimento pelo apoio e ajuda incondicional.

Ao Renato Guerra, que sempre esteve à disposição, contribuindo para a realização deste estudo, o meu carinho e eterna gratidão pela sua incansável ajuda.

A Professora Cléa Bichara agradeço o incentivo, a disponibilidade, dedicação e os valiosos ensinamentos que foram fundamentais para a realização desse trabalho.

Aos colegas de turma pela boa convivência, respeito e amizade.

Aos colaboradores do Laboratório Amaral Costa, em especial à Gergiane e Renan pelo apoio e colaboração técnica.

E, a todas as demais pessoas, que de alguma forma, em vários momentos, deram sua contribuição ao meu aperfeiçoamento profissional.

“Em meio à dificuldade encontra-se a oportunidade”
Albert Einstein.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	7
2. OBJETIVOS	8
2.1 OBJETIVO GERAL	8
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
3. ARTIGO	9
ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE OS MÉTODOS DE HPLC E IMUNOENSAIO POR TURBIDIMETRIA NA DOSAGEM DE HEMOGLOBINA GLICADA.	
4. ASPECTOS ÉTICOS	18
APENDICE 1 - NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA PARAENSE DE MEDICINA	19

1 INTRODUÇÃO GERAL

Como profissional médica, especialista em Patologia Clínica e Medicina Laboratorial, atuante há mais de 40 anos, não poderia ser diferente a opção em buscar aperfeiçoamento nesta área, que permitiria realizar um trabalho da vivência do dia-a-dia na ambiência das análises clínicas.

Assim, entre os diversos agravos a ser estudado, usando ferramentas simples, e outras mais modernas, a escolha não foi fácil. Entretanto, a opção foi eleger uma das grandes epidemias não infecciosa dos últimos cem anos – a Diabetes Mellitus.

A *Diabetes Mellitus* é caracterizada pela elevada concentração de glicose na corrente sanguínea (hiperglicemia), resultante de defeitos na secreção da insulina, ação da insulina, ou ambos. A hiperglicemia crônica da diabetes está associada com danos a longo prazo, disfunções e mau funcionamento de diferentes órgãos, especialmente, olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos¹.

Faltava então definir a linha de estudo em tão vasto campo. E, o que mais se observa, não é somente o diagnóstico dos casos, mas a importância do controle dos pacientes submetidos às diversas condutas terapêuticas, dentro de um contexto em que a equipe de saúde possa ter as informações do comportamento glicêmico destes por um período de 90 dias, realizando tão somente um tipo de análise laboratorial - trata-se da dosagem da Hemoglobina glicada (HbA1c), considerada a partir de 2009, pela American Diabetes Association (ADA), também como método de diagnóstico².

Com as primeiras definições do que seguir na pesquisa, outra possibilidade se abriu quando se depara com mais de um método, com os mesmos propósitos, pois a HbA1c pode ser dosada por Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC), Imunoensaio por Turbidimetria (IT) e outras metodologias.

Dosar HbA1c por estes testes trariam resultados semelhantes? Haveria divergências? Qual o melhor método?

A partir destas questões norteadoras, o estudo ficou definido como “*Análise comparativa entre os métodos de HPLC e Imunoensaio por turbidimetria na dosagem de Hemoglobina glicada*”.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar a reprodutibilidade de três métodos certificados de alta complexidade para a dosagem de HbA1c, sendo um HPLC por troca iônica, um HPLC por afinidade ao boronato e um Imunoensaio por Turbidimetria (IT).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar se há variação significativa entre os resultados dos três métodos;
- Avaliar se a variação observada nos três métodos implica em tomada de decisão clínica.

ARTIGO *

Análise comparativa entre os métodos de HPLC e Imunoensaio por turbidimetria na dosagem de Hemoglobina Glicada.

Isabella Pinheiro Costa do Amaral (1), Renan Chaves de Lima (2), Gergiane Lopes Vaz (3), Renato Borges Guerra Junior (4), Carlos David Araújo Bichara (5), José Ricardo dos Santos Vieira (6)

* Submetido para publicação na Revista Paraense de Medicina da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará.

ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE OS MÉTODOS DE HPLC E IMUNOENSAIO POR TURBIDIMETRIA NA DOSAGEM DE HEMOGLOBINA GLICADA**

COMPARATIVE ANALYSIS BETWEEN HPLC METHOD AND TURBIDIMETRIC IMMUNOASSAY METHOD FOR THE DETERMINATION OF GLYCATED HEMOGLOBIN

Isabella Pinheiro Costa do AMARAL (1), Renan Chaves de LIMA (2), Gergiane Lopes VAZ (3), Renato Borges GUERRA JUNIOR (4), Carlos David Araújo BICHARA (5), José Ricardo dos Santos VIEIRA (6)

RESUMO

Objetivo: Comparar a reprodutibilidade de três métodos certificados de alta complexidade para a dosagem de HbA1c, sendo um HPLC por troca iônica, um HPLC por afinidade ao boronato e um Imunoensaio por Turbidimetria (IT).

Método: Estudo transversal descritivo, de abordagem quantitativa, que utilizou dados secundários de exames previamente realizados em um laboratório de análises clínicas, em Belém-PA. As dosagens foram realizadas em amostras de sangue de 200 pacientes que buscavam dosar HbA1c e realizar controle ou diagnóstico de Diabetes Mellitus, utilizando os métodos mencionados. A seleção de amostras foi por conveniência, a partir da observação das etiquetas dos tubos com sangue total identificados para dosagens de HbA1c, por HPLC e IT. **Resultados:** Os resultados obtidos foram semelhantes nos três métodos ($p = 0.8643$) e quando avaliados o nível de HbA1c, considerando-se os três métodos comparativamente, os valores mínimos, máximos, de tendência central e variância foram próximos entre si ($p = 0.1989$). **Conclusão:** Os dados obtidos mostraram similaridade de segurança de resultados quando utilizados os testes laboratoriais por HPLC e IT para a determinação da HbA1c no diagnóstico e monitoramento terapêutico de pacientes diabéticos.

Descritores: Diabetes Mellitus. Diagnóstico. Hemoglobina glicada

** Dosagens realizadas no Laboratório Amaral Costa, Belém, Pará, Brasil

1. Médica Patologista Clínica. Mestranda do MACPro/UFPA 2. Biomédico. Mestrando do MACPro/UFPA; 3. Biomédica. Especialista em Acreditação de Serviços de Saúde; 4. Biólogo. Especialista em Análises Clínicas. 5. Médico Patologista Clínico. Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários; 6. Farmacêutico Doutor em Genética e Biologia Molecular. Diretor do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA.

INTRODUÇÃO

Diabetes Mellitus (DM) é uma doença crônica, caracterizada pela elevada concentração de glicose na corrente sanguínea (hiperglicemia), resultante de defeitos na secreção da insulina, ação da insulina, ou ambos. O descontrole permanente da glicemia acarreta a longo prazo, uma série de complicações que comprometem a produtividade, a qualidade de vida e a sobrevivência dos indivíduos, mostrando a presença de múltiplas afecções metabólicas, que configuram a heterogeneidade da doença, com efeitos deletérios sobre os capilares sanguíneos, afetando todos os tecidos por eles irrigados, principalmente o nervoso, cardiovascular, renal e ocular¹.

Atualmente, a Associação Americana de Diabetes (ADA), classifica este agravo, de acordo com aspectos fisiopatológicos, em quatro classes clínicas: Diabetes mellitus tipo 1, Diabetes mellitus do tipo 2 (90-95%), Diabetes gestacional e outros tipos de Diabetes³.

Nos últimos 30 anos o mundo enfrenta uma verdadeira epidemia de DM. Isso se deve ao crescente envelhecimento populacional e ao estilo de vida adotado por grande parte dos indivíduos com hábitos pouco saudáveis, como o sedentarismo e a má alimentação⁴.

Em 2015, foram registradas 415 milhões de pessoas com diabetes no mundo. A previsão é que esse número aumente para 642 milhões até 2040. Neste mesmo ano foram registradas 5 milhões de mortes pela doença, que além de causar um grande impacto na saúde da

população, também gera um alto custo para o setor financeiro, visto que recentemente o investimento na saúde pública para a assistência aos diabéticos superou os 673 bilhões de dólares⁵.

O Brasil tem cerca de 14,3 milhões de DM, ocupando a quarta posição no mundo, sendo superado pela China (109,6 milhões), Índia (69,2 milhões) e Estados Unidos (29,3 milhões). Foram registradas aproximadamente 247.500 mortes em 2015 na América Central e do Sul, sendo que 130.700 ocorreram no Brasil⁵. A epidemia de DM predomina entre a população de países em desenvolvimento, com crescente proporção de pessoas afetadas em grupos etários mais jovens, coexistindo com o problema que as doenças infecciosas ainda representam⁶.

Ao longo dos anos no enfrentamento da diabetes, um dos grandes desafios, entre outros, era o diagnóstico e o controle dos pacientes sob tratamento. Até junho de 2009, apenas três critérios eram aceitos para o diagnóstico de DM: sintomas de poliúria, polidipsia e perda ponderal acrescidos de glicemia casual acima ou igual a 200mg/dl, glicemia de jejum acima ou igual a 126mg/dl e glicemia de 2 horas pós-sobrecarga de 75g de glicose acima ou igual a 200mg/dl⁶.

Em relação às provas laboratoriais, era necessário uma ferramenta que evitasse fatores de interferência e que desse resposta dos níveis glicêmicos, flutuantes ou não, ao longo dos meses. Este tipo de perfil glicêmico pode ser observado, como em uma linha do tempo, a partir do momento que se passou a usar

hemácias, cuja sobrevivência alcança períodos de 90 dias, utilizando assim a hemoglobina como memória para estimativa dos níveis glicêmicos, surgindo os ensaios de hemoglobina glicada (HbA1c)⁷.

Somente com a publicação dos artigos Diabetes Control and Complications Trial (DCCT), de 1993, e United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS), de 1998, este parâmetro laboratorial passou a ser reconhecido. A American Diabetes Association (ADA) em 1996 começou a patrocinar a criação do National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP), para comparar e certificar os diversos métodos utilizados para dosagem da HbA1c⁸.

Desde então, o valor considerado adequado para o controle do diabetes, ficou estabelecido como até 7% ou, mais recentemente, até 6,5% de acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes⁸.

A partir de julho de 2009 a HbA1c deixou de ser utilizada apenas para acompanhamento e controle do paciente diabético, e passou a ser adotada como critério diagnóstico do DM, representando consenso entre ADA, International Expert Committee European Association for the Study of Diabetes². Em 2011, a Organização Mundial de Saúde adotou também a utilização da HbA1c no diagnóstico do DM⁹. A HbA1c possui as seguintes vantagens: método padronizado e alinhado com DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) / UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study), apresenta melhor índice para a

exposição glicêmica global e risco de complicações, menor variação biológica, menor instabilidade pré-analítica, não necessita jejum nem coletas de horário, não é afetada por alterações agudas da glicemia (ex: stress, outras), uso corrente para controle e ajuste terapêutico e define níveis glicêmicos em que aumentam as complicações clínicas².

Muitos métodos laboratoriais têm sido desenvolvidos para quantificação da HbA1c incluindo a Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC), Imunoensaios e a Eletroforese capilar. Estes métodos são baseados em diferentes princípios. Alguns interferentes como as hemoglobinas variantes, persistência da hemoglobina fetal, hemoglobina carbamylada nos urêmicos, dentre outras, são situações que levam a uma redução da vida média das hemácias e causam interferência. As metodologias atualmente disponíveis para a dosagem da HbA1c apresentam elevados níveis de exatidão e reprodutibilidade¹⁰.

Assim, ciente de que já estão disponíveis diversas metodologias para a realização do teste da HbA1c na rotina laboratorial, esta deve ser selecionada de acordo com o melhor custo/efetividade, considerando os seguintes aspectos: registro do conjunto diagnóstico junto à ANVISA e métodos certificados pelo NGSP^{11,12}, tais como: Imunoensaio Turbidimétrico, Eletroforese, HPLC por troca iônica e HPLC por afinidade ao boronato. E, é neste contexto, que o presente trabalho faz sua abordagem comparando a reprodutibilidade de três métodos

certificados de alta complexidade, sendo dois por HPLC e um por Imunoensaio.

MÉTODO

Trata-se de um estudo transversal descritivo, de abordagem quantitativa, que utiliza dados secundários de exames previamente realizados em um laboratório de análises clínicas, em Belém-PA, por 200 pessoas que buscavam dosar HbA1c. As amostras utilizadas foram escolhidas por conveniência, a partir da identificação das etiquetas dos tubos com sangue total identificados para dosagens de HbA1c, por HPLC e IT.

Para as dosagens de HbA1c pelos três métodos foram coletadas amostras de sangue total com EDTA, em tubos à vácuo disponíveis no mercado, não sendo necessário jejum. As estantes com os tubos foram dispostas nos equipamentos.

No método de HPLC por Troca Iônica, realizado no equipamento Variant II (BioRad), as amostras são diluídas e agitadas automaticamente no equipamento e injetadas na coluna analítica. As hemoglobinas são separadas com base em suas interações iônicas com o material da coluna. Em seguida, as hemoglobinas que foram separadas atravessam a célula de fluxo do fotômetro, onde são medidas por filtros 415 nm. Um filtro adicional, de 690 nm, corrige a absorção em segundo plano. O software Clinical Data Management (CDM) realiza a redução dos dados brutos coletados em cada análise. Um relatório, incluindo os tempos

de retenção dos picos detectados e um cromatograma, é gerado pelo CDM para cada amostra. O pico da HbA1c é sombreado. Essa área é calculada utilizando um algoritmo Gaussiano Exponencialmente Modificado (EMG)¹³.

As dosagens de HbA1c pelo método HPLC por Afinidade ao Boronato, foram processadas no sistema analítico Premier Hb9210 da Trinity, onde uma bomba transfere os reagentes através da coluna que contém *ácido aminofenilborônico* ligado a um suporte de polímero poroso (gel). A fração glicada liga-se ao boronato, sendo detectada pelo filtro de 413 ± 2 nm, enquanto a fração não glicada passa diretamente pela coluna e é detectada pelo mesmo filtro. Os resultados são calculados pelo software do equipamento Premier Hb9210 da Trinity¹⁴.

O sistema analítico ADVIA 1800 da Siemens, realiza as dosagens pelo método de Imunoensaio por turbidimetria. Para a medição de HbA1c é utilizado um método de inibição de aglutinação de látex. Obtém-se uma curva de concentração através da monitorização da alteração em luz difusa como uma alteração da absorvância (694 nm). A alteração real da absorvância é inversamente proporcional à concentração de HbA1c na amostra. A concentração de HbA1c é calculada por meio da razão entre o valor de HbA1c e de hemoglobina total (596 nm), calculados pelo software do equipamento¹⁵.

Foi realizada estatística descritiva (medidas de frequência absoluta, relativa,

valores mínimo e máximo, média aritmética e mediana) e variância (desvio padrão) para cada método de dosagem. Para avaliação entre as faixas de estudo da HbA1c (4,0-6,0%; 6,1-7,0%; > 7,0%) e o método de dosagem foi utilizado o teste G. Para avaliação entre o nível de dosagem e o método de diagnóstico, foi utilizado o teste T de Student. Considerou-se significativo o p-valor ≤ 0.05 . Toda inferência estatística foi calculada utilizando o software BioEstat 5.4.

RESULTADOS

A dosagem de HbA1c não apresentou diferenças significativas quando considerados os métodos utilizados ($p = 0.8643$). A amostra foi composta em sua maioria por pacientes com dosagens acima de 7%, sendo o método de HPLC por troca iônica responsável por detectar o maior valor percentual em 57,5% (115/200). Tabela I, Figura I.

Tabela I - Descrição dos níveis de HbA1c segundo a metodologia para dosagem, Belém-PA, 2016.

HbA1c %	HPLC Troca Iônica	HPLC Afinidade ao boronato	Imunoensaio (turbidimetria)	p-valor
4 a 6	77 (38,5%)	77 (38,5%)	81 (40,5%)	0.8643
6,1 a 7	8 (4,0%)	11 (5,5%)	12 (6,0%)	
> 7	115 (57,5%)	112 (56,0%)	107 (53,5%)	
Total	200 (100%)	200 (100%)	200 (100%)	

Fonte: Protocolo de pesquisa

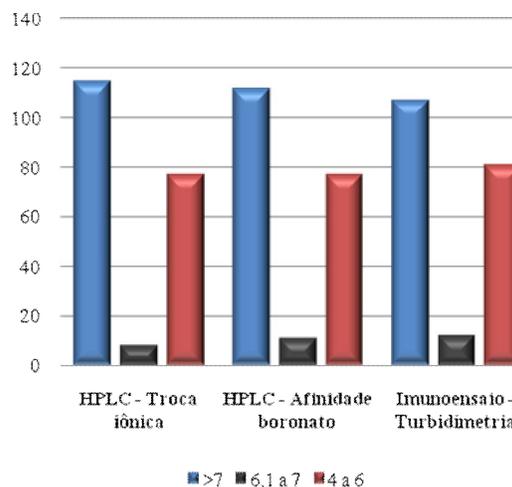


Figura 1 - Resultados dos testes para diagnóstico e controle de diabetes, segundo os métodos HPLC e Turbidimetria em amostra de pacientes, Belém-PA, 2016.

Na avaliação do nível de HbA1c segundo o método de dosagem, os valores mínimos, máximos, de tendência central e variância encontrados foram próximos entre si. Os valores do método de Imunoensaio por Turbidimetria foram os mais baixos para todas as categorias avaliadas. (Tabela II).

Tabela II - Resultados de testes para diagnóstico e controle de diabetes, segundo os métodos HPLC e Turbidimetria em amostra de pacientes, Belém-PA, 2016.

Método Diagnóstico	Mín.	Máx.	Média	Mediana	Desvio padrão
Troca Iônica	4.3	16.1	7.58	5.9	2.21
Afinidade Boronato	4.7	15.5	7.47	6.2	2.14
Imunoensaio	4.0	14.0	7.32	6.1	1.90

Fonte: Protocolo de pesquisa

A distribuição se mostrou similar nos três grupos, sendo os valores de média muito próximos entre si (Figura 2).

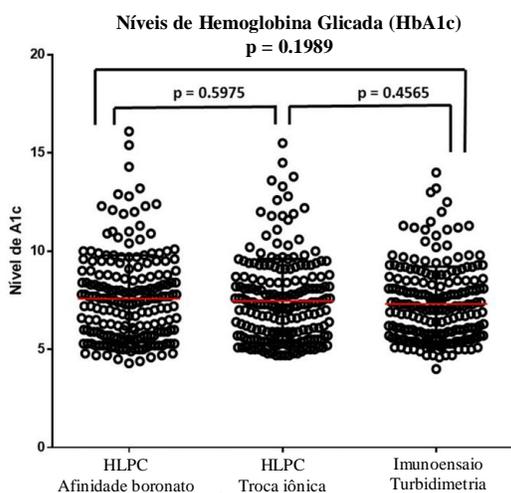


Figura 2 - Níveis de HbA1c segundo o método de dosagem, Belém-PA, 2016.

DISCUSSÃO

A pesquisa envolveu amostras que foram classificadas em três níveis de dosagem de HbA1c (4 a 6, 6,1 a 7 e >7), que foram também separadas por grupos de acordo com o método diagnóstico.

A determinação da HbA1c, como diagnóstico, sobretudo como índice retrospectivo de controle glicêmico necessita de métodos confiáveis⁷. As técnicas de ensaio são baseadas em diferentes princípios analíticos, utilizando as modificações das propriedades físico-químicas e/ou imunológicas da hemoglobina induzida pelo processo de glicação.

Os resultados mostraram que os métodos são semelhantes entre si, sem importância quanto à escolha, e, estatisticamente, não houve diferenças ($p > 0,05$). Assim, os dados obtidos estão de acordo com os relatórios de referência e outros estudos^{16,17,18}.

Confirmam, assim, que os ensaios de determinação da HbA1c devem ser

interpretados com segurança, respeitando-se algumas peculiaridades de pacientes quanto à possibilidade na variação genética da hemoglobina, doenças que alteram o tempo de sobrevivência das hemácias, presença de grandes quantidades de vitamina C e E, anemia por carência de ferro, vitamina B12 ou folato, hipertrigliceridemia, hiperbilirrubinemia, presença de hemoglobina quimicamente modificada, como a carbamylada, que está associada a uremia¹⁰. Como a insuficiência renal é a complicação mais comum em pacientes com DM, a interferência na medição de HbA1c nesses pacientes pode necessitar ser corrigida^{19, 20, 21}.

Vale ressaltar que a metodologia de HPLC por troca iônica identifica, também, outras variantes de hemoglobina, o que pode ser um fator adicional na tomada de decisão clínica.

Na avaliação geral, os dados sugerem que diferentes métodos de ensaio, desde que registrados na Anvisa e certificados pelo NGPS, expertise técnica de quem realiza e capacidade de interpretação dos mesmos, podem ser utilizados na rotina da investigação do diagnóstico e controle de pacientes com diabetes.

CONCLUSÕES

Após a comparação quanto à reprodutibilidade observada entre os três métodos de dosagem da HbA1c, pode-se dizer que os mesmos não apresentam variações significativas e que os resultados encontrados não interferem nas decisões clínicas.

SUMMARY

COMPARATIVE ANALYSIS BETWEEN HPLC METHOD AND TURBIDIMETRIC IMMUNOASSAY METHOD FOR THE DETERMINATION OF GLYCATED HEMOGLOBIN

Isabella Pinheiro Costa do AMARAL (1), Renan Chaves de LIMA (2), Gergiane Lopes VAZ (3), Renato Borges GUERRA JUNIOR (4), Carlos David Araújo BICHARA (5), José Ricardo dos Santos VIEIRA (6)

Objective: To compare the reproducibility of three high complexity certified methods, 1 ion exchange HPLC, 1 boronate affinity HPLC and 1 Turbidimetric Immunoassay (TI) for HbA1c determination. **Method:** A descriptive, cross-sectional, quantitative study using secondary data from previously performed tests in a clinical laboratory in Belém, PA. Dosages were performed on blood samples from 200 patients who sought to dose HbA1c and perform control or diagnosis of Diabetes Mellitus using the above-mentioned methods. The samples used were chosen for convenience, from the observation of the tags of the whole blood tubes identified for HbA1c dosages, by HPLC and TI. **Results:** The results obtained were similar in the three methods ($p = 0.8643$) and when the HbA1c level was evaluated, considering the three methods comparatively, the minimum, maximum, central tendency and variance values were close to each other ($p = 0.1989$). **Conclusion:** The data obtained showed similarity of safety of results when using laboratory tests by HPLC and IT for the determination of HbA1c in the diagnosis and therapeutic monitoring of diabetic patients.

Keywords: Diabetes Mellitus. Diagnosis. Glycated hemoglobin

1. Médica Patologista Clínica. Mestranda do MACPro/UFPA 2. Biomédico. Mestrando do MACPro/UFPA; 3. Biomédica. Especialista em Acreditação de Serviços de Saúde; 4. Biólogo. Especialista em Análises Clínicas. 5. Médico Patologista Clínico. Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários; 6. Farmacêutico Doutor em Genética e Biologia Molecular. Diretor do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA.

REFERÊNCIAS

1. 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* 2003, 26: 5-20.
2. The International Expert Committee. International Expert Committee Report on the Role of the A1C Assay in the Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*, 2009, 32(7): 1327-1334.
3. American Diabetes Association (ADA). Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care* 2015, 38: S8-S16.
4. Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Atenção Básica à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Diabetes mellitus. *Cadernos de Atenção Básica*, 2006, n 16.
5. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 7ª Ed. Bruxelas, Bélgica: International Diabetes Federation, 2015. Disponível em: <http://www.diabetesatlas.org/resources/2015-atlas.html>. Acesso em: 22 jan. 2017.
6. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2009 (3.ed.) – Itapevi, SP: A. Araújo Silva Farmacêutica, 2009. 400p.:il.
7. American Diabetes Association (ADA). Consensus statement on the worldwide a standardization of the hemoglobin A1c measurement. *Diabetes Care*, 2007, 30(9): 2399-2400.
8. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016). Hemoglobina Glicada – Manifestações Clínicas. p.111-117.
9. World Health Organization (WHO). Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus. 2011. Disponível em: http://www.who.int/diabetes/publications/report-HbA1c_2011.pdf. Acessado em: 05 de janeiro de 2017.
10. Grupo Interdisciplinar de Padronização Da Hemoglobina Glicada (GIPHG). Atualização sobre hemoglobina Glicada (A1C) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do Diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais. Posicionamento Oficial. 3ª ed. 2009. Página eletrônica. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320090402145957.pdf>. Acessado em: 05 de janeiro de 2017
11. Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). S/D. Página eletrônica. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acessado em: 05 de janeiro de 2017
12. National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP). Certified Methods and Laboratories. List of NGSP Certified Methods (2016).
13. Variant II Hemoglobin A1c Program. Manual de Instruções - Bio-Rad Laboratories, Versão 270-210NU_08-2010.
14. Premier Hb9210, com Software Affinity. Manual do Usuário. Trinity Biotech (2016).
15. Hemoglobina A1c (HbA1c). Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Versão 10493997_PT Rev. G, 2013-09.
16. Pocino, K., Molinario, R., Manieri, R., Bianucci, L., & Capoluongo, E. (2016) The Hemo One Autoanalyzer for Glycated Hemoglobin Assay. *Lab Medicine* 2016, 47(2): 119–123. <https://doi.org/10.1093/labmed/lmv034>
17. Ucar F, Erden G, Ozdemir S, Yildiz Z, Arzuhal AE, Temel I. Evaluation of the Tosoh G8 Analyzer and Comparison with the Trinity Biotech Premier Hb9210 Analyzer for the Measurement of HbA1c. *Clin Lab*. 2016; 62(3):443-9.
18. Herpol M, Lanckmans K, Van Neyghem S, Clement P, Crevits S, De Crem K, Gorus FK, Weets I. Evaluation of the Sebia Capillars 3 Tera and the Bio-Rad D-100 Systems for the Measurement of Hemoglobin A1c. *Am J Clin Pathol*. 2016, 146(1): 67-77. doi: 10.1093/ajcp/aqw081
19. Zhu, Y; Williams, LM; Horne, BD. Disparity in estimated average glucose due to different hemoglobin A1c methods and hemoglobin S trait. *Clin Chem Lab Med*, 2010, 48(4): 571–572

20. Dolscheid-Pommerich, R.C., Kirchner, S., Weigel, C., Eichhorn, L., Conrad, R., Stoffel-Wagner, B., & Zur, B. (2015). Impact of carbamylation on three different methods, HPLC, capillary electrophoresis and TINIA of measuring HbA1c levels in patients with kidney disease. *Diabetes Res Clin Pract*, 108(1): 15-22.
21. Hamouda, A.E; Nabih, E.S.; Khalek, A. A.E. - Novel Equation for Correlation of Glycated Hemoglobin and Calculation of Carbamylated Hemoglobin in Diabetic Uremic Patients. *Res. J. Chem. Sci.* 2013, 3(12): 6-11.

4. ASPECTOS ÉTICOS



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS – MACPro**

Termo de Compromisso de Utilização de Dados (TCUD)

Eu, **Isabella Pinheiro Costa do Amaral**, da **Universidade Federal do Pará**, mestranda do **Programa de Pós-graduação em análises clínicas**, no âmbito do projeto de pesquisa intitulado “Análise comparativa entre os métodos de HPLC e Imunoensaio por turbidimetria na dosagem de Hemoglobina glicada”, comprometo-me com a utilização dos dados contidos no sistema banco de dados do sistema Softlab do Laboratório Amaral Costa, a fim de obtenção dos objetivos previstos.

Comprometo-me a manter a confidencialidade dos dados coletados nos arquivos do laboratório. Esclareço que o material já estava colhido e processado, antes mesmo do presente trabalho, fazendo parte dos arquivos do laboratório supracitado sem identificação pessoal, somente os resultados deste material será utilizado.

Declaro entender que é minha responsabilidade cuidar da integridade das informações e de garantir a confidencialidade dos dados.

Também é minha a responsabilidade de não repassar os dados coletados ou o banco de dados em sua íntegra, ou parte dele, a pessoas não envolvidas na equipe da pesquisa.

Por fim, comprometo-me com a guarda, cuidado e utilização das informações apenas para cumprimento dos objetivos previstos nesta pesquisa aqui referida. Qualquer outra pesquisa em que eu precise coletar informações serão submetidas à apreciação do CEP/ENSP.

Belém, 15 de junho de 2016.

Assinatura do pesquisador responsável

ANEXO 1 - NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA PARAENSE DE MEDICINA



INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Orientações gerais](#)
- [Formatação de artigos](#)
- [Endereço para correspondência](#)

ISSN 0101-5907
versão impressa

Orientações gerais

A **Revista Paraense de Medicina** aceita para publicação, trabalhos científico-culturais da área de saúde, sob forma de: **Artigo original; Atualização/Revisão; Relato de caso; Artigos especiais e sobre a linguagem médica; Nota prévia e Carta ao editor.**

Os artigos devem ser enviados em CD-RW Rewritable 1X-12X 700MB ou disquete 3 ½ polegadas, com dois textos originais, impressos em papel A4, digitados no Windows 98 e Microsoft Word versão 2000 XP, com espaço simples, fonte TNR-12 e duas colunas. O SUMMARY, fonte 11 e referências fonte 10, em uma coluna.

As tabelas e quadros, incluídas no texto, devem possuir legenda na parte superior, fonte TNR 10, identificados com números romanos, indicando o que, onde e quando do tema, com nota de rodapé TNR 9. Os gráficos, fotos, esquemas, etc. são considerados como figuras, recebendo identificação inferior, TNR 10, sequencial único em algarismos arábicos.

Fotografias deverão ser enviadas em tamanho 9x13cm, preto e branco com boa qualidade e com as estruturas a serem identificadas. As figuras de anatomia, histopatologia e endoscopia poderão ser coloridas.

Os autores são responsáveis pelos conceitos emitidos e devem atentar à seriedade e qualidade dos trabalhos, cujos dados devem receber tratamento estatístico, sempre que indicados.

Encaminhar, aos editores da RPM, os artigos com carta modelo, com timbre da Instituição e assinada pelos autores para devida avaliação pelo Conselho Editorial.

Todo trabalho com investigação humana e pesquisa animal deve ser acompanhado da aprovação prévia da Comissão de Ética em Pesquisa da instituição, onde se realizou o trabalho, conforme recomenda a Declaração de Helsinki (de 1975 e revisada em 1983) e as Normas Internacionais de Proteção aos Animais e a Resolução nº 196/96, do Ministério da Saúde, sobre pesquisa em seres humanos.

Os artigos enviados à RPM não podem ser publicados em outras revistas biomédicas.

Formatação dos artigos

Editorial

É o artigo inicial de um periódico. Comenta assunto atual de interesse à área de saúde, editoração, metodologia científica ou temas afins.

Artigo original

Aborda temas de pesquisa observacional ou experimental, transversal (incidência ou prevalência), horizontal ou longitudinal (retrospectiva ou prospectiva), estudo randomizado ou duplo cego, máximo de 6 a 10 laudas. A pesquisa bibliográfica acompanha todo trabalho biomédico.

1) Título e subtítulo (se houver), em português, TNR fonte 12, com tradução para o inglês, fonte 11, centralizados.

2) Nome completo dos autores, máximo de 6, com sobrenome em letras maiúsculas, TNR 11, também, centralizados.

3) No rodapé da 1ª página, citar a instituição onde foi realizado o trabalho e titulação dos autores, TNR 10, numerada conforme a seqüência dos autores.

4) O resumo deve ser escrito em parágrafo único, itálico, TNR 12, contendo: objetivo, método (casuística e procedimento), resultados (somente os significantes) e conclusão ou considerações finais.

5) Descritores: citar no máximo 5 e em ordem de importância para o trabalho, conforme relação do Index Medicus.

6) Introdução: mostra a hipótese formulada, atualiza o leitor na relevância do tema sem divagação e termina com o objetivo do trabalho.

7) Método: descreve a casuística, amostra ou material e procedimentos utilizados para o trabalho.

8) Resultados: constituído por, no máximo, 6 tabelas numeradas, com legenda superior (TNR 10) e fonte de informação abaixo (TNR 9), acompanhadas ou não de gráficos. Não fazer comentários, reservando-os para o item Discussão.

9) Discussão: compara os resultados da pesquisa com os da literatura referenciada, de maneira clara e sucinta.

10) Conclusões ou considerações finais sobre os resultados da pesquisa ou estudo, de forma concisa e coerente com o tema.

11) Summary: versão do resumo do trabalho para a língua inglesa, TNR 11, itálico. Deve constar o título, nomes dos autores e os itens superpostos.

12) Key words: segundo o DECS e na língua inglesa.

13) Referências: devem ser atualizadas, (TNR 10), obedecendo ao estilo Vancouver, em ordem numérica conforme a citação no texto, máximo de 30 citações.

Exemplificando

Artigos:

TEIXEIRA, JRM. - Efeitos analgésicos da *Maytenusguianensis*: estudo experimental, *Rev. Par. Med.* 2001, 15(1): 17-21 O nome do periódico é de forma itálica.

Livro e monografia: COUSER, WG – Distúrbios glomerulares. In: CECIL – *Tratado de Medicina Interna*, 19 ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, p. 477-560, 1993

Internet:

MOKADDEM, A (e colaboradores). Pacemaker infections, 2002. Disponível em <http://www.pubmed.com.br> – Acessado em...

As qualidades básicas da redação científica são: concisão, coerência, objetividade, linguagem correta e clareza.

Atualização/revisão

Obedece ao mesmo padrão do artigo original, dispensando o item RESULTADOS, máximo, máximo de 5 a 6 laudas.

Relato de caso

Deve ter relevância científica, conciso, máximo de 3 laudas, esquemático e didático; o método é o próprio relato do caso e dispensa resultados.

Nota prévia

Descrição de pesquisa inédita ou de inovação técnica, de maneira sucinta e objetiva, máximo de 2 laudas.

Solicitamos aos autores e colaboradores da RPM que sigam as normas referidas e encaminhem os artigos após revisão e correção gramatical, inclusive o disquete.

No final de cada artigo, anotar o endereço completo com CEP, telefone para contato e endereço eletrônico (e-mail).

Endereço para correspondência

REVISTA PARAENSE DE MEDICINA
Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará
Rua Oliveira Bello, 395 - Umarizal
CEP: 66.050-380 Belém - Pará
Fone: (0xx91) 4009-2213/4009-9022
Fax: (0xx91) 4009-2299
e-mail:borinfor@amazon.com.br