



Revista de Saúde Pública

ISSN: 0034-8910

revsp@usp.br

Universidade de São Paulo
Brasil

Fedeli, Ligia G; Vidigal, Pedro G; Mendes Leite, Claudia; Castilhos, Cristina D; Anjos
Pimentel, Robércia; Maniero, Viviane C; Mill, Jose Geraldo; Lotufo, Paulo A; Pereira,
Alexandre C; Bensenor, Isabela M

Logística de coleta e transporte de material biológico e organização do laboratório central
no ELSA-Brasil

Revista de Saúde Pública, vol. 47, núm. 2, junio, 2013, pp. 63-71

Universidade de São Paulo

São Paulo, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67240211009>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

re^oalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal

Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Ligia G Fedeli^I

Pedro G Vidigal^{II}

Claudia Mendes Leite^{III}

Cristina D Castilhos^{IV}

Robércia Anjos Pimentel^V

Viviane C Maniero^{VI}

Jose Geraldo Mill^{VII}

Paulo A Lotufo^{VIII}

Alexandre C Pereira^{VII}

Isabela M Bensenor^{VIII}

^I Laboratório Clínico. Hospital Universitário. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

^{II} Departamento de Propedêutica Complementar. Faculdade de Medicina. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG, Brasil

^{III} Departamento de Ciências Fisiológicas. Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, ES, Brasil

^{IV} Departamento de Medicina Social. Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil

^V Instituto de Ciências da Saúde. Universidade Federal da Bahia. Salvador, BA, Brasil

^{VI} Departamento de Epidemiologia e Métodos Quantitativos em Saúde. Escola Nacional de Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^{VII} Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular. Instituto do Coração da Faculdade de Medicina. Universidade do Estado de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

^{VIII} Centro de Pesquisa Clínica e Epidemiológica. Hospital Universitário. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

Correspondência | Correspondence:

Isabela Martins Bensenor
Centro de Pesquisa Clínica e Epidemiológica
Hospital Universitário
Av. Lineu Prestes, 2565 - 3º andar
Cidade Universitária - Butantã
05508-900 São Paulo, SP, Brasil
E-mail: isabensenor@hu.usp.br

Recebido: 5/10/2011

Aprovado: 5/6/2012

Artigo disponível em português e inglês em:
www.scielo.br/rsp

Logística de coleta e transporte de material biológico e organização do laboratório central no ELSA-Brasil

Logistics of collection and transportation of biological samples and the organization of the central laboratory in the ELSA-Brasil

RESUMO

O Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil) é um estudo de coorte multicêntrico com o objetivo de identificar os fatores de risco associados ao diabetes tipo 2 e à doença cardiovascular na população brasileira. O artigo descreve as estratégias de coleta, processamento, transporte e de controle de qualidade dos exames de sangue e urina no ELSA. O estudo optou pela centralização dos exames em um único laboratório. O processamento das amostras foi realizado nos laboratórios locais, reduzindo o peso do material a ser transportado e diminuindo os custos do transporte para o laboratório central no Hospital da Universidade de São Paulo. O estudo incluiu exames para avaliação de diabetes, resistência à insulina, dislipidemias, alterações eletrolíticas, hormônios tireoidianos, ácido úrico, alterações de enzimas hepáticas, inflamação e hemograma completo. Além desses exames, foram estocados DNA de leucócitos, amostras de urina, plasma e soro. O laboratório central realizou aproximadamente 375.000 exames.

DESCRITORES: Sistemas de Informação em Laboratório Clínico. Técnicas e Procedimentos Diagnósticos. Logística. Testes Hematológicos. Urinálise. Estudos Multicêntricos como Assunto, métodos. Estudos de Coortes.

ABSTRACT

The ELSA (*Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto* – Brazilian Longitudinal Study for Adult Health) is a multicenter cohort study which aims at the identification of risk factors associated with type 2 diabetes and cardiovascular diseases in the Brazilian population. The paper describes the strategies for the collection, processing, transportation, and quality control of blood and urine tests in the ELSA. The study decided to centralize the tests at one single laboratory. The processing of the samples was performed at the local laboratories, reducing the weight of the material to be transported, and diminishing the costs of transportation to the central laboratory at the Universidade de São Paulo Hospital. The study included tests for the evaluation of diabetes, insulin resistance, dyslipidemia, electrolyte abnormalities, thyroid hormones, uric acid, hepatic enzyme abnormalities, inflammation, and total blood cell count. In addition, leukocyte DNA, urine, plasma and serum samples were stored. The central laboratory performed approximately 375,000 tests.

DESCRIPTORS: Clinical Laboratory Information Systems. Diagnostic Techniques and Procedures. Logistics. Hematologic Tests. Urinalysis. Multicenter Studies as Topic, methods. Cohort Studies.

INTRODUÇÃO

Entre as variáveis de exposição em estudos epidemiológicos de doenças crônicas incluem-se dados fisiológicos, bioquímicos, hormonais e inflamatórios. A determinação dessas variáveis consagrou-se no *Framingham Heart Study*, iniciado em 1948, quando 5.000 voluntários compareceram ao centro de investigação (CI) do projeto para realização de uma avaliação clínica e coleta de exames.¹² O resultado mais importante foi a identificação do colesterol sérico elevado como fator de risco maior para doença coronariana, surgindo a “teoria do colesterol”. Posteriormente, outras coortes, como o *The Atherosclerosis Risk in Communities (Aric) Study*³³ e o *Multi-ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)*,⁵ utilizaram metodologia semelhante com a coleta de material biológico nos CIs. Contrastando com esses estudos, coortes como o *Nurses’ Health Study*,⁴ o *Physicians’ Health Study*¹⁹ e o *Womens’ Health Study*⁸ optaram pela inclusão de um número maior de participantes por meio de correspondência. A coleta de material biológico era realizada pelo voluntário (sempre um profissional da área da saúde) utilizando kit de coleta enviado pelo correio e retirado por transportadora após a coleta. A coleta de sangue pelo participante permite realização posterior à linha de base de estudos do tipo caso coorte e caso controle aninhado utilizando amostras congeladas. Exemplo significativo dessa estratégia foi a identificação da associação da proteína C ultrasensível com a doença coronariana no *Physicians’ Health Study*, com 22.071 participantes, mas em que somente 1.086 análises foram realizadas: 543 participantes com infarto do miocárdio e 543 sem doença.²⁷

Estudos de coortes em doenças crônicas propiciam a identificação de marcadores de risco nas coortes primárias e marcadores de prognóstico nas coortes de sobrevida de doenças instaladas. Tanto marcadores de risco quanto os de prognóstico podem ser classificados de acordo com a fisiopatologia em: metabólicos, lipídicos, de função renal, função vascular, estresse oxidativo, angiogênese e de necrose tecidual.⁶ É possível identificar em amostras de urina metabólitos que são produtos da interação de vários fatores de origem dietética, ambientais, medicamentosas, da microbiota intestinal e genéticos.²¹

Independentemente da estratégia de coleta do material biológico, a realização dos exames é geralmente executada em um ou mais laboratórios centrais ou por grupos específicos de exames de acordo com a sofisticação técnica exigida.^{5,33} Entretanto, todas as análises referentes a um exame específico são sempre centralizadas no mesmo laboratório.

O Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil) tem como objetivo a identificação do risco de doenças cardiovasculares e do diabetes em população aparentemente saudável, focando na identificação de biomarcadores na fase inicial do processo aterosclerótico. O ELSA-Brasil tem também como objetivo identificar biomarcadores envolvidos no processo da rede causal que se inicia com o ganho de peso corpóreo e se cristaliza com o desenvolvimento do diabetes tipo 2.³ Do ponto de vista operacional, o ELSA-Brasil optou desde o seu início pela visita do voluntário ao CI para realização de todas as aferições de coleta de material biológico

seguindo modelo de coortes como *Framingham*¹² e *Aric*.³³ O ELSA-Brasil é um estudo multicêntrico inédito no País com protocolo único uniformemente executado nos seis centros. Para tanto constituiu-se um laboratório central responsável pela realização de todos os exames de sangue e urina do estudo e pela padronização da metodologia de extração de DNA.

Em um estudo com as características do ELSA-Brasil a realização de exames em um único laboratório traz várias vantagens, como a diminuição da variabilidade interlaboratorial e a utilização dos mesmos insumos e consumíveis para a realização das dosagens bioquímicas. No entanto, isso não diminui a necessidade de grande cuidado quanto aos aspectos pré-analíticos, descritos neste artigo. As variáveis pré-analíticas contribuem para a diminuição da acurácia de um teste laboratorial, sendo responsáveis por de 32% a 75% da variância total de resultados atribuídos a erros (excluindo-se a variabilidade biológica). Este artigo foca os aspectos pré-analíticos: local de coleta, identificação de participantes, preparação dos participantes, sítio(s) de coleta, aplicação de garrote e tempo, técnica de punção venosa, ordem de coleta dos tubos, volume de coleta, manejo de tubos e processamento de amostras biológicas, centrifugação, congelamento e transporte de material biológico.

DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

Desde o início da organização do estudo discutiu-se sobre a necessidade de centralizar ou não a realização dos exames. Dois modelos eram possíveis: a coleta e a realização descentralizada dos exames ou a coleta descentralizada com transporte do material coletado para laboratório central comum a todo o estudo.

Dos seis centros, o de São Paulo tinha uma tradição maior na área de análises clínicas, está localizado dentro do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (USP). Vários dos pesquisadores do CI em São Paulo já eram usuários do laboratório em outros projetos de pesquisa com bons resultados. Além da base clínica, o Hospital Universitário passava por um excelente momento político que buscava a inserção do hospital não só como local de assistência e ensino, mas também de pesquisa.

O Laboratório do Hospital Universitário possui Sistema de Gestão da Qualidade implantado, com certificação ISO 9001/2000 desde 11/4/2006, acreditado pelo Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos em 18/12/2009 (2005) e participa de programa de

Proficiência Interlaboratorial. Conta ainda com Programa de Controle de Qualidade Interno com pelo menos dois níveis de controle para cada analito, com equipamentos automatizados de alto desempenho e equipe de profissionais qualificados que garantem a qualidade dos exames realizados. A decisão final do estudo foi pela centralização dos exames, à exceção do hemograma, que seria feito localmente por motivos técnicos. O hemograma no ELSA-Brasil foi realizado em equipamentos automatizados, em laboratórios com controles de qualidade interno e externo, participantes de programas de proficiência laboratorial, como o Programa Nacional de Controle da Qualidade,^a Programa de Proficiência em Ensaios Laboratoriais^b e Programa de Acreditação do Colégio Americano de Patologistas.^c

A glicemia de jejum e após sobrecarga de glicose são pontos chave do estudo, já que representam um dos critérios que definirão a presença de diabetes em um estudo focado na doença cardiovascular e no próprio diabetes. Descentralizar a glicemia introduziria um fator de erro importante na determinação de uma das principais variáveis do estudo. Estudos recentes mostram que a coleta de sangue, com posterior centrifugação e congelamento do plasma, têm se mostrado bastante estáveis para a dosagem futura da glicemia.^{7,11} Recentemente, o *Study of Latinos* (SOL) também optou por centralizar a realização dos exames, incluindo a glicemia.³²

Os procedimentos de coleta das amostras biológicas foram padronizados para garantir a uniformidade em todos os CIs ELSA e seguiram as recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso (2005).^d A coleta de sangue foi dividida em duas etapas: após jejum de 12h e 2h após a ingestão de uma sobrecarga de glicose.² Nos participantes com diabetes o teste de tolerância oral à glicose foi substituído por uma carga alimentar padronizada. Além dos exames realizados após duas horas da sobrecarga de glicose ou da carga alimentar, o estudo padronizou a estocagem de material biológico na segunda coleta de sangue. Poucos estudos terão as mesmas condições do ELSA de avaliar marcadores bioquímicos e inflamatórios no soro pós-sobrecarga.

Outro destaque foi a padronização da carga alimentar na forma de lanche composto por alimentos industrializados, incluindo quatro torradas (15 g cada), quatro cubos de queijo processado e suco de laranja (200 ml), totalizando 435 kcal (incluindo 24 g de gorduras, das quais 14 g de gordura saturada e 47 g de

^a Programa Nacional de Controle da Qualidade. [citado 4 mar 2013]. Disponível em: <http://www.pncq.org.br/>

^b Proficiência em Ensaios Laboratoriais. [citado 4 mar 2013]. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/?C=133>

^c College of the American Pathologists. Laboratory Accreditation Program. Northfield (IL): CAP; 2012 [citado 2011 mar 28]. Disponível em: http://www.cap.org/apps/cap.portal?_nfpb=true&cntvwrPtl%7BactionOverride=%2Fportlet%2FcontentViewer%2Fshow&cntvwrPtl%7BactionForm.contentReference%7D=laboratory_accreditation%2Faboutlap.html&_pageLabel=cntvwr

^d Sociedade Brasileira de Patologia Clínica, Medicina Laboratorial. Recomendações da SBPC/ML para coleta de sangue venoso. São Paulo; 2005.

carboidratos de absorção rápida). A opção por alimentos industrializados deveu-se ao fato de não necessitarem refrigeração, apresentarem validade longa, não haver necessidade de preparo no CI e poderem ser comprados com a mesma facilidade em todos os centros. A ideia de se testar uma carga alimentar nos diabéticos baseou-se em evidências recentes de que as alterações do período pós-prandial são fatores importantes no desenvolvimento da aterosclerose.^{9,10,13}

Estabeleceu-se uma sequência de coleta em tubos, de forma que os três primeiros coletados permitiam a realização de todos os exames. Os tubos a seguir garantiam a variedade dos materiais necessários para compor o biobanco ELSA. Além dos exames de cada participante, foram guardadas 42 amostras de 0,5 ml estocadas localmente e na bioteca central.

A coleta urinária no ELSA foi planejada para avaliação da filtração glomerular pelo *clearance* de creatinina e estimar a ingestão de eletrólitos (Na, K) pela excreção renal. Portanto, no ELSA a coleta urinária foi feita por 12h no período noturno, quando a maioria das pessoas encontra-se em casa, reduzindo erros de coleta e aumentando a adesão. À noite a temperatura é mais baixa, reduzindo as perdas de eletrólitos pelo suor. Estudo paralelo similar ao ELSA em população analisou a correlação entre a urina coletada por 24h e por 12h (19h às 7h), tendo-se verificado que o *clearance* de creatinina foi similar nos dois períodos.³¹

Após no máximo 30 min do término da coleta de sangue todos os tubos eram centrifugados sob refrigeração durante 15 min. Em seguida eram separadas as alíquotas para exames em banho de gelo, utilizando-se criotubos previamente identificados com código de barras.

Para viabilizar a implantação do laboratório central foi necessário criar uma estrutura de transporte e de armazenamento em curto prazo das amostras nos vários centros para posterior envio mensal a São Paulo. As alíquotas para a realização de exames ficavam armazenadas em freezer a -80°C até a data do transporte para o Laboratório Central. As amostras coletadas no Hospital Universitário da USP também eram armazenadas em freezer a -80°C por até 30 dias para posterior realização dos exames de forma igual ao realizado pelos outros CIs ELSA.

O transporte de material biológico para o laboratório central também exigiu a definição de uma estratégia. Uma das opções avaliadas foi o transporte do material biológico nos tubos primários após centrifugação. Essa estratégia teria como vantagem que em cada centro a equipe de laboratório local seria muito reduzida, com a função de coletar e centrifugar o material. A maior parte dos procedimentos seria realizada em São Paulo. O ponto negativo é que o peso do material enviado aumentaria muito com o transporte dos tubos primários

para São Paulo, inviabilizando os custos. A segunda opção foi que cada CI tivesse uma equipe para coleta e processamento do material biológico que seria estocado em criotubos a -80°C para posterior transporte. O ponto negativo dessa estratégia seria a necessidade de treinamento e certificação centralizada das equipes dos CI e o ponto positivo a economia de custos. Optou-se, finalmente, pela contratação e treinamento de uma equipe local para processamento do material biológico.

O método escolhido para a realização da extração do DNA foi o de *salting-out* em função do custo menor e da quantidade maior de DNA extraído. As soluções necessárias para a extração eram preparadas em São Paulo e enviadas por transportadora.²⁴

Para o controle de qualidade da coleta e processamento das amostras biológicas no ELSA, foi feito um sorteio aleatorizado de 10% dos códigos de identificação dos participantes. Os participantes sorteados tiveram um tubo de coleta duplicado, que gerou uma alíquota extra de exame, que foi utilizada como controle cego.

Uma vez feita a opção pela centralização dos exames, foi criada uma sala específica para processamento de materiais biológicos de projetos de pesquisa. O estudo reformou uma sala do laboratório no Hospital Universitário para instalação dos equipamentos, o que, além de facilitar a logística do estudo, capacitou o hospital a receber outros projetos de pesquisa de grande porte.

A estratégia de realizar os exames em laboratório central teve como principal objetivo garantir a uniformidade da metodologia utilizada, evitando as variações inevitáveis entre laboratórios em caso de descentralização dos exames. Todos os procedimentos definidos foram detalhadamente descritos em manuais específicos para cada uma das etapas do processo: (1) “Coleta de amostras biológicas”; (2) “Processamento de amostras biológicas”; (3) “Exames e metodologia”; e (4) “Armazenamento e transporte de amostras biológicas”.

Outro importante resultado foi o treinamento centralizado de todos os profissionais de laboratório. Toda a equipe que trabalhou nos seis centros foi treinada em São Paulo pela equipe do Laboratório Central. Após esse treinamento e antes do início do campo, a equipe do laboratório central fez uma visita de certificação a cada CI ELSA para verificar a adesão aos protocolos do estudo. Periodicamente e sempre que necessário, foram agendadas visitas da equipe do laboratório central aos centros ELSA. Além disso, durante a coleta de dados, e sempre que necessário, o laboratório central recebeu novos integrantes das equipes de todos os centros para treinamento ou retreinamento.

A Tabela 1 lista os exames realizados em jejum e após 2h. A Tabela 2 descreve a metodologia e o equipamento utilizado para a realização dos exames com seus valores

Tabela 1. Coletas em jejum e após sobrecarga de glicose ou carga alimentar.

1ª coleta após jejum de 12h	3 tubos com gel ativador de coagulação de 8,5 ml; 3 tubos EDTA de 4 ml; 1 tubo fluoreto/oxalato de 2 ml; 2 tubos contendo citrato como anticoagulante de 4,5 ml; e 1 tubo com heparina de 4 ml.
Exames realizados em jejum	Glicemia, hemoglobina glicada (HbA1C), creatinina, sódio, potássio, ácido úrico, aspartato transaminase (AST), alanina transaminase (ALT), gama glutamil transferase (GT) colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol, triglicérides, TSH, insulina e T4 livre apenas para os indivíduos que apresentaram TSH alterado, proteína C Reativa ultrasensível e sorologia para chagas.
Procedimento pós-coleta	Não diabéticos: ingestão de sobrecarga de glicose para realização do teste de tolerância oral à glicose (TTOG) Diabéticos: carga alimentar composta por 4 torradas, 4 cubos de queijo
2ª coleta após 120 min do início da ingestão da solução de glicose nos não diabéticos e da carga alimentar nos diabéticos	Segunda coleta duas horas após o final da ingestão da sobrecarga glicêmica ou calórica, quando foram obtidos por punção venosa com escalpe à vácuo 1 tubo com gel ativador da coagulação de 8,5 ml; 1 tubo com heparina de 4 ml e 1 tubo com fluoreto/oxalato de 2 ml.
Procedimento pós-coleta	Lanche

Tabela 2. Tipos de exames realizados, sua finalidade, metodologia utilizada e valores de referência.

Exame	Objetivo	Método	Equipamento	Valores de referência
Glicemia	Definição de diabetes	Método da hexoquinase (enzimático) ²⁵	ADVIA 1200 Siemens®	Jejum: 70 a 99 mg/dl 120 minutos pós sobrecarga: < 140 mg/dl: tolerância normal a glicose 140 a 199 mg/dl: intolerância a glicose ≥ 200 mg/dl: diabetes
Colesterol total	Metabolismo de lípidos	Método da colesterol oxidase (enzimático colorimétrico) ¹	ADVIA 1200 Siemens®	Desejável: < 200 mg/dl Limítrofe: 200-239 mg/dl Elevado: > 240 mg/dl
HDL-colesterol	Metabolismo de lípidos	Método colorimétrico homogêneo sem precipitação ³⁴	ADVIA 1200 Siemens®	Valores desejáveis: Não diabéticos: > 40 mg/dl Diabéticos: > 45 mg/dl
Triglicérides	Metabolismo de lípidos	Método do glicerol-fosfato peroxidase segundo Trinder (enzimático colorimétrico) ¹⁷	ADVIA 1200 Siemens®	< 150 mg/dl
LDL-colesterol Utilizada quando triglicérides ≤ 400 mg/dl	Metabolismo de lípidos	Equação de Friedewald		Desejável para: Pacientes de alto risco: < 100 mg/dl Pacientes de médio risco: < 130 mg/dl Pacientes baixo risco: < 160 mg/dl
LDL-colesterol Utilizada quando triglicérides > 400 mg/dl	Metabolismo de lípidos	Método enzimático colorimétrico homogêneo sem precipitação ²⁶	ADVIA 1200 Siemens®	Desejável para: Indivíduos de alto risco: < 100 mg/dl Indivíduos de médio risco: < 130 mg/dl Indivíduos baixo risco: < 160 mg/dl
Creatinina	Função renal	Método de Jaffe ²²	ADVIA 1200 Siemens®	Soro: 0,4 a 1,3 mg/dl Urina de 12 horas: não estabelecido
Ácido úrico	Marcador de metabolismo de purinas	Método da uricase (enzimático colorimétrico) ¹⁶	ADVIA 1200 Siemens®	Homens: 3,5 a 7,2 mg/dl Mulheres: 2,6 a 6,0 mg/dl
Aspartato aminotransferase	Identificador para esteatose hepática	IFCC modificado (enzimático) ²⁹	ADVIA 1200 Siemens®	Homens: 10 a 35 U/L Mulheres: 10 a 31 U/L
Alanina aminotransferase	Identificador para esteatose hepática	IFCC modificado (enzimático) ²⁸	ADVIA 1200 Siemens®	Homens: 9 a 43 U/L Mulheres: 9 a 36 U/L

Continua

Tabela 2. Continuação

Exame	Objetivo	Método	Equipamento	Valores de referência
γ -glutamil-transferase	Identificador para esteatose hepática e de ingestão alcoólica	Szasz Persijn (cinético colorimétrico) ³⁰	ADVIA 1200 Siemens®	Homens: 2 a 30 U/L Mulheres: 1 a 24 U/L
Proteína-C-Ultrassensível	Marcador inflamatório	Imunoquímica por nefelometria ¹⁴	Nefelômetro BN II Siemens®	Para avaliação de risco cardiovascular: Baixo risco: < 1,0 mg/L Médio risco: 1,0 a 3,0 mg/L Alto risco: > 3,0 mg/L
Hemoglobina glicada	Definição de diabetes	Cromatografia de alta pressão (HPLC) ²⁰	Variant Bio Rad®	< 5,7% Tolerância normal a glicose
TSH	Investigação etiológica	Imunoenzimático com pérolas ^{23,35}	Centaur Siemens®	0,55 - 4,78 mUI/ml
T4-livre	Investigação etiológica	Imunoenzimático com pérolas ^{26,35}	Centaur Siemens®	0,89 a 1,76 ng/dl
Insulina	Metabolismo de carboidrato	Imunoenzimático com pérolas ^{23,35}	Centaur Siemens®	Jejum: 3,0-25,0 mUI/L Pós-sobrecarga: Não estabelecido
Na urinário	Ingestão alimentar	Potenciometria com eletrodo íon seletivo	ADVIA 1200 Siemens®	Não estabelecido
K urinário	Ingestão alimentar	Potenciometria com eletrodo íon seletivo	ADVIA 1200 Siemens®	Não estabelecido
Cálcio urinário	Ingestão alimentar	Cresolftaleína (colorimétrico) ¹⁸	ADVIA 1200 Siemens®	Não estabelecido
Microalbuminúria	Função endotelial	Imunoquímico por nefelometria	Nefelômetro BN II Siemens®	Normal: < 20 μ g/min Microalbuminúria: 20 a 200 μ g/min Macroalbuminúria: > 200 μ g/min
Sorologia para Chagas	Diagnóstico diferencial em miocardiopatias	ELISA com fase sólida em microplacas reagente WIENER (CHAGATEST) ¹⁵	Leitora e incubadora de microplacas	Não reagente

IFCC: *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*

de referência. Os hemogramas foram realizados localmente em cada centro. Não foi realizada a leitura de lâminas, devido à dificuldade de padronização interlaboratorial desse procedimento.

Todos os centros do estudo começaram com um ou dois participantes agendados por dia até que se alcançasse a capacidade máxima prevista para cada centro, que variou de quatro a 20 participantes por dia. O número de participantes agendados por dia só aumentava quando a equipe fosse plenamente capaz de realizar a tarefa. Em caso de problemas, a orientação era diminuir o número de participantes e só aumentar novamente quando a equipe estivesse pronta. Isso prolongou o tempo de coleta de dados, mas garantiu a qualidade dos procedimentos realizados.

Em relação aos exames, a entrega da urina de 24h foi o ponto mais complexo. Aproximadamente 10% dos participantes deixaram de entregar o material no dia dos exames. Isso ocorreu nos seis centros de forma semelhante. Entre as mulheres, a causa mais comum foi o início da menstruação. Nesses casos, a participante era orientada a retornar em outro dia para entregar o

material, o que nem sempre acontecia. Nos casos de dificuldade na coleta do sangue, o protocolo seguido pela equipe garantia que as amostras para os exames fossem sempre as primeiras a serem colhidas, de modo que nunca faltou material para a sua realização. O comprometimento nesses casos ocorria em relação às amostras que seriam estocadas.

Em relação ao transporte, embora o estudo tenha utilizado empresa especializada em transporte de material biológico, as poucas opções de voo foram uma dificuldade no decorrer do trabalho de campo. Para minimizar esses problemas foi necessária a criação de um suporte a distância ao laboratório. Uma rede de quatro telefones celulares com revezamento da equipe ficava 24h em plantão à distância para resolver pendências relativas ao transporte como, por exemplo, atraso na entrega das amostras pela companhia transportadora por problemas de trânsito em São Paulo, entre outros. Essa rede contribuiu em muito para a resolução de problemas e para que sempre houvesse alguém da equipe para receber o material e processá-lo o mais rápido possível. A rede, não planejada no início do estudo, foi fundamental e trouxe tranquilidade durante o campo. Um problema

local vivenciado por alguns centros foi a dificuldade de fornecimento de gelo seco, o que muitas vezes atrasava a remessa do material.

Durante os 26 meses da coleta de dados o laboratório recebeu e processou 375.295 exames de sangue e urina dos participantes incluídos no estudo nos seis centros. Não houve perda de material biológico decorrente do transporte nem amostras que ficaram inutilizadas devido a transporte inadequado.

CONCLUSÕES

O ELSA-Brasil é uma coorte multicêntrica composta por seis instituições de pesquisa e ensino superior que visa buscar novas associações do diabetes e da doença cardiovascular na população brasileira. A opção por um laboratório central garantiu a uniformidade da metodologia utilizada para a realização dos exames, evitando as variações inevitáveis entre laboratórios. Apenas o hemograma foi realizado localmente, com leituras automáticas, por impossibilidade de padronização da leitura de lâminas entre os seis centros. A centralização da dosagem da glicemia foi bem-sucedida. O ELSA-Brasil é um dos poucos estudos nos próximos anos que poderá fazer o diagnóstico de diabetes baseado no teste de tolerância à glicose e na hemoglobina glicada, o que abrirá uma nova perspectiva para a pesquisa sobre diabetes em estudos de longa duração.

No balanço dos cálculos realizados antes do início do estudo mostrou-se mais custo-efetiva a realização do processamento do material biológico localmente em cada centro com posterior transporte para São Paulo. O envio do material já processado diminuiu em muito o peso, o que foi fundamental na redução dos custos do transporte. Entretanto, a estratégia escolhida também exigiu a formação de equipes locais em cada centro para coleta e processamento das amostras. A formação de equipes locais, por sua vez, implicou a criação de uma estratégia de treinamento centralizado dessas equipes, com aumento dos gastos de transporte e estada em São Paulo. Comparando-se os custos atrelados à necessidade de treinamento centralizado com a diminuição do volume de material transportado, ficou evidente que processar as amostras localmente era muito mais custo-efetivo.

Os entraves burocráticos na contratação das empresas transportadoras foram muito grandes e puseram em risco o transporte de material biológico. O sucesso do transporte dependeu mais de entraves burocráticos e do trânsito em São Paulo do que de questões técnicas ligadas à coleta e processamento das amostras biológicas. Importante ressaltar que não há apólice de seguro para a perda de material biológico por ser considerada perda irreparável e insubstituível, o que dificulta do ponto de vista jurídico a confecção do contrato de transporte. Outro ponto importante é que não há empresas aéreas com tradição no transporte desse material. Durante a fase inicial do estudo a empresa que concentrava grande parte desse transporte saiu das rotas comerciais. Além disso, a redução do número de voos também comprometeu a logística, um problema que foi minimizado com a criação de uma rede de suporte a distância ao laboratório baseada em celulares, disponível 24h por dia, sete dias por semana. A justificativa da sua necessidade, muitas vezes questionada, poderia ter comprometido a realização do estudo. Essa rede também deu suporte aos laboratórios locais em cada centro de investigação, 24h por dia. A dificuldade no fornecimento de gelo seco foi outro problema que muitas vezes atrasou a remessa do material, alterando a rotina do laboratório central.

No planejamento do estudo muitas necessidades foram subestimadas, implicando novos custos. Embora a pesquisa clínica tenha crescido muito nos últimos anos no Brasil, o transporte de material biológico é feito em pequenas quantidades e em datas específicas. O ELSA-Brasil pela primeira vez fez um planejamento de transporte de material por um período de dois anos e meio. A ausência de perda de material mostra que as soluções encontradas alcançaram sucesso e abrem boa perspectiva para estudos de longo prazo com transporte de material biológico.

Concluindo, o ELSA-Brasil mostrou a exequibilidade de exames multicêntricos serem realizados em território nacional com análise centralizada com qualidade e custo aceitáveis, acoplada à estratégia de guarda permanente de material biológico para estudos futuros.

REFERÊNCIAS

- Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu PC, et al. Enzymatic determination of total cholesterol in serum. *Clin Chemistry*. 1974;20(4):470-5.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2010;33(Suppl 1):S62-9. DOI:10.2337/dc10-S062
- Aquino EM, Barreto SM, Benseñor IM, Carvalho MS, Chor D, Duncan BB, et al. Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil): objectives and design. *Am J Epidemiol*. 2012;175(4):315-24. DOI:10.1093/aje/kw
- Belanger CF, Hennekens CH, Rosner B, Speizer FE. The Nurses' Health Study. *Am J Nurs*. 1978;78(6):1039-40.
- Bild DE, Bluemke DA, Burke GL, Detrano R, Diez Roux AV, Folsom AR, et al. Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis: objectives and design. *Am J Epidemiol*. 2002;156(9):871-81. DOI:10.1093/aje/kwf113
- Blankenberg S, Zeller T, Saarela O, Havulinna AS, Kee F, Tunstall-Pedoe H, et al. Contribution of 30 biomarkers to 10-year cardiovascular risk estimation in 2 population Cohorts. The MONICA, Risk, Genetics, Archiving, and Monograph (MORGAM) Biomarker Project. *Circulation*. 2010;121(22):2388-97. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.901413
- Boyanton Jr BL, Blick KE. Stability studies of 24 analytes in human plasma and serum. *Clin Chem*. 2002;48(12):2242-7.
- Buring JE, Hennekens CH. The Women's Health Study: rationale and background. *J Myocardial Ischemia*. 1992;4:30-40.
- Ceriello A. The possible role of postprandial hyperglycaemia in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetologia*. 2003;46(Suppl 1):M9-16. DOI:10.1007/s00125-002-0931-5
- Ceriello A, Davidson J, Hanefeld M, Leiter L, Monnier L, Owens D, et al. Postprandial hyperglycaemia and cardiovascular complications of diabetes: an update. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2006;16(7):453-6. DOI:10.1016/j.numecd.2006.05.006
- Clark ML, Humphreys SM, Frayn KN. Stability of plasma glucose during storage. *Ann Clin Biochem*. 1990;27(Pt 4):373-7.
- Dawber TR, Meadors GF, Moore Jr FE. Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *Am J Public Health Nations Health*. 1951;41(3):79-81.
- Ebenbichler CF, Kirchmair R, Egger C, Patsch JR. Postprandial state and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 1995;6(5):286-290.
- Férard G, Goester C, Klumpp T, Métails P. Evaluation of immunonephelometry of C-reactive protein in serum [letter]. *Clin Chem*. 1980; 26(6):782-83.
- Ferreira AW, Belem ZR, Moura MEG, Camargo ME. Aspectos da padronização de testes sorológicos para doença de Chagas: um teste imunoenzimático para triagem de doadores de sangue. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 1991;33(2):123-8. DOI:10.1590/S0036-46651991000200006
- Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dihidro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4 aminophenazone chromogenic system in direct enzymatic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem*. 1980;26(2):227-31.
- Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem*. 1982;28(10):2077-80.
- Gieltman HJ. An improved procedure for the determination of calcium in biochemical specimens. *Anal Biochem*. 1967;18(3):521-31. DOI:10.1016/0003-2697(67)90110-8.
- Hennekens CH, Buring JE. Methodologic considerations in the design and conduct of randomized trials: the U.S. Physicians' Health Study. *Control Clin Trials*. 1989;10(4 Suppl):142S-50S.
- Hoelzel W, Weykamp C, Jeppsson JO, Miedema K, Barr JR, Goodall I, et al. IFCC reference system for measurement of hemoglobin A1C in human blood and national standardization schemes in the United States, Japan, and Sweden: a method-comparison study. *Clin Chem*. 2004;50(1):166-74. DOI:10.1373/clinchem.2003.024802
- Holmes E, Loo RL, Stamler J, Bictash M, Yap IKS, Queenie C, et al. Human metabolic phenotype diversity and its association with diet and blood pressure. *Nature*. 2008;453(7193):396-400. DOI:10.1038/nature06882
- Jaffe MZ. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaction des Kreatinins. *Z Physiol Chem*. 1886;10:391-400.
- Kricka LJ. Cheluminescent and bioluminescent techniques. *Clin Chem*. 1991;37(9):1472-81.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(3):1215.
- Neeley WE. Simple automated determination of serum or plasma glucose by a hexokinase/glucose-6-phosphate dehydrogenase method. *Clin Chem*. 1972;18(6):509-15.
- Okada M, Matsui H, Ito Y, Fujiwara A, Inano K. Low-density lipoprotein cholesterol can be chemically measured: a new superior method. *J Lab Clin Med*. 1998;132(3):195-201.
- Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1997;336(14):973-9. DOI:10.1056/NEJM199704033361401
- Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G, Ferrero CA, Franck PF, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Part 4. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. *Clin Chem Lab Med*. 2002;40(7):718-24. DOI:10.1515/CCLM.2002.124

29. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Ferard G, Ferrero CA, Franck PF, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40(7):725-33. DOI:10.1515/CCLM.2002.125
30. Shaw LM, Stromme JH, London JL, Theodosen L. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4. IFCC method for gamma-glutamyltransferase [(gamma-glutamyl)-peptide: amino acid gamma-glutamyltransferase, EC 2.3.2.2]. *J Clin Chem Biochem.* 1983;21(10):633-46.
31. Silva ABT, Molina MCB, Rodrigues SL, Pimentel EB, Baldo MP, Mill JG. Correlação entre depuração plasmática de creatinina utilizando urina coletada durante 24 horas e 12 horas. *J Bras Nefrol.* 2010;32(2):165-72. DOI:10.1590/S0101-28002010000200005
32. Sorlie PD, Avilés-Santa LM, Wassertheil-Smoller S, Kaplan RC, Daviglius ML, Giachello AL, Schneiderman N, et al. Design and implementation of the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos. *Ann Epidemiol.* 2010;20(8):629-41. DOI:10.1016/j.annepidem.2010.03.015
33. The ARIC Investigators. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: design and objectives. *Am J Epidemiol.* 1989;129(4):687-702.
34. Warnick GR, Nauck M, Rifai N. Evolution of methods for measurement of HDL-cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays. *ClinChem.* 2001;47(9):1579-96.
35. Wilkinson E, Rae PW, Thomson KJ, Toft AD, Spencer CA, Beckett CJ. Chemiluminescence third generation assay (Amerlite TSH-30) of thyroid-stimulating hormone in serum or plasma assessed. *Clinl Chem.* 1993;39(10):2167-3173.

Pesquisa apoiada pela Financiadora de Estudos e Projetos (Finep – Processo nº 01 05469).

O Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil) foi financiado pelo Ministério da Saúde (Decit – Departamento de Ciência e Tecnologia) e Ministério de Ciência e Tecnologia (Finep – Financiadora de Estudos e Projetos e CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Processos N°s 01 06 0010.00 RS, 01 06 0212.00 BA, 01 06 0300.00 ES, 01 06 0278.00 MG, 01 06 0115.00 SP, 01 06 0071.00 RJ).

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Artigo submetido ao processo de julgamento por pares adotado para qualquer outro manuscrito submetido a este periódico, com anonimato garantido entre autores e revisores. Editores e revisores declaram não haver conflito de interesses que pudesse afetar o processo de julgamento do artigo.