

## COMPARAÇÃO DE VALORES DE INR OBTIDOS POR MÉTODO CONVENCIONAL E METODOLOGIA DE POINT-OF-CARE

*Carina Calisto\**, *Sónia Póvoa\**, *Fátima Carriço\**, *Renato Abreu\*\**,  
*Violante Câmara\**, *Armindo Chipenda\**, *João Carvalho de Sousa\**

\* Laboratório de Hematologia, Serviço de Patologia Clínica, Hospital de Santa Maria, Lisboa.

\*\* Escola Superior de Tecnologia e Saúde de Lisboa

### RESUMO

A terapêutica com anticoagulantes orais é necessariamente monitorizada com controlo laboratorial, avaliando o grau de inibição dos factores da coagulação, através da determinação da Razão Normalizada Internacional (INR). Nos últimos anos, desenvolveram-se novas metodologias e novas técnicas para facilitar esta monitorização, nomeadamente com a utilização de dispositivos que permitem a determinação do INR em sangue total e possibilitam a sua implementação em auto-teste. Contudo, ainda que a fiabilidade dos equipamentos esteja estabelecida, surge a necessidade de comparar os resultados de INR obtidos com metodologia em sangue total com os valores de INR obtidos com as metodologias convencionais.

No sentido de comparar os valores de INR obtidos com a metodologia de reflectância com aqueles obtidos com metodologia coagulométrica, estuda-

ram-se 71 doentes de ambos os sexos, em fase estável de hipocoagulação oral, utilizando os equipamentos Coaguchek® S e MLA ELECTRA 1600C®.

As determinações do INR foram efectuadas em paralelo no dispositivo portátil Coaguchek® S (Roche Diagnostics) em sangue capilar, por método de reflectância e num equipamento convencional, o MLA ELECTRA 1600C® (Izasa Portugal) em sangue venoso por método coagulométrico. Os resultados obtidos foram comparados, através da estatística descritiva com recurso às medidas de tendência central e de dispersão.

Não se verificou evidência estatística de existência de diferença significativa entre os resultados obtidos pelos dois métodos ( $p = 0.177$ ), sendo a média das diferenças dos 71 pares de (-0.06). Verificou-se uma correlação positiva significativa entre os dois conjuntos de valores ( $r = 0.90$ ).

Concluímos que os resultados de

INR obtidos em sangue capilar (Coaguchek S®) são sobreponíveis aos resultados obtidos com um método convencional na população estudada. Este aspecto é de grande relevância para a possibilidade de gestão da anticoagulação oral, recorrendo à utilização com fiabilidade de dispositivos portáteis na monitorização deste tipo de terapêutica.

### Comparison of INR values obtained by conventional and Point-of-Care methods

#### SUMMARY

Oral anticoagulant therapy is currently evaluated with laboratory monitoring in order to access the inhibition of coagulation factors. Control of this therapy is obtained with INR determination. In the last years new developments have been proposed, including new methods and techniques in order to simplify this control. The great advance has been the use of Point-of-care devices allowing INR determination in capillary blood, also allowing their use in a self-testing scheme.

However, even considering that reliability of these new methods is well established, it is recommended that each centre should perform the comparison of INR results obtained with conventional methods with those obtained with new devices.

With the purpose of comparing the results obtained with a reflectance method with those currently obtained in our laboratory by a chronometric method, 71 patients on stable oral anticoagulant therapy were analysed with both methods, namely Coaguchek S® (Roche Diagnostics) and Electra MLA

1600 C® (Izasa Portugal). INR determinations with both methods were performed simultaneously in each patient.

Results were compared with descriptive statistical methods, using measures of distribution and dispersion evaluation. We found no statistical evidence of significant difference in results distribution ( $p=0.177$ ). Comparing the means of both results sets, (Capillary INR 2.33 ; Venous INR 2.49) the difference was (-0.16), though with no clinical relevance. The mean of the 71 paired results differences was (-0.06).

A significant positive correlation coefficient was obtained between the two methods ( $r=0.90$ ). Also, using a regression model, results from one test can be extrapolated from the other method.

We concluded that capillary INR results obtained with Coaguchek S® are similar to INR results obtained with the chronometric conventional method, in the studied population.

The Point-of-Care device tested in this study is therefore a reliable alternative to the conventional method use in an hospital setting and is suitable for use in self-test conditions, provided patients are well instructed.

## 1. INTRODUÇÃO

A terapêutica com anticoagulantes orais está indicada em número significativo de doentes com diferentes patologias. Constituem indicações fundamentais mais frequentes: a fibrilhação auricular, a cirurgia cardíaca valvular<sup>2</sup> e o tromboembolismo venoso<sup>4</sup>, abrangendo no seu conjunto um número significativo de doentes.

A terapêutica com esta classe de fármacos, como a varfarina por exem-

plo, está sujeita a variações intra e inter individuais consideráveis<sup>2</sup>. Este aspecto condiciona a respectiva monitorização e controlo laboratoriais, no sentido de conseguir o nível de hipocoagulação desejável para evitar o desenvolvimento de acidentes trombóticos, sem risco hemorrágico significativo.

Como é conhecido, a monitorização da acção dos antagonistas da vitamina K é habitualmente realizada pelo Tempo de Protrombina (TP)<sup>8</sup>. Este teste, originalmente descrito por Quick<sup>12</sup>, consiste na medição do tempo de coagulação do plasma após adição de um reagente de tromboplastina cálcica.

De forma a padronizar os resultados do TP e possibilitar uma melhor monitorização terapêutica, os resultados são expressos em Razão Normalizada Internacional (INR - International Normalized Ratio), que pretende eliminar as variações da determinação inerentes aos métodos e técnicas. O cálculo desta razão inclui o Índice de Sensibilidade Internacional (ISI) do reagente utilizado, que correlaciona a sensibilidade das tromboplastinas comerciais com uma tromboplastina de referência<sup>6</sup>.

Com o objectivo de facilitar a monitorização da terapêutica desenvolveram-se técnicas e dispositivos passíveis de serem utilizados por profissionais menos especializados ou mesmo pelo próprio doente (em auto-teste). Estes dispositivos, utilizando uma metodologia diferente da convencional, permitem uma racionalização dos recursos utilizados, quer materiais quer humanos, facilitando a descentralização da monitorização laboratorial, indispensável para uma boa gestão de recursos quando aplicada a terapêu-

ticas de longa duração. Contudo, é necessário estabelecer a fiabilidade destas metodologias assegurando que os resultados obtidos são sobreponíveis àqueles que resultam da aplicação dos testes convencionais.

O objectivo deste trabalho foi a comparação dos resultados obtidos para os valores de INR em doentes hipocoagulados, com a utilização de duas metodologias. Comparam-se valores de INR em sangue capilar (INR capilar) no dispositivo Coaguchek® - S (Roche Diagnostics) e em plasma obtido de sangue venoso (INR venoso) por metodologia convencional no MLA ELECTRA® 1600C (Izasa Portugal).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Doentes

Do universo de doentes que frequentam a consulta de hipocoagulação oral hospitalar, foram incluídos no estudo 71 doentes, seleccionados aleatoriamente, após consentimento informado. Foram admitidos doentes de ambos os sexos, entre os 30 e os 80 anos, em fase estável de hipocoagulação (monitorização terapêutica laboratorial há pelo menos três meses). Foram utilizados como critérios de exclusão a existência de insuficiência renal, polimedicação (excluídos doentes com quatro ou mais medicamentos), alcoolismo, alterações dietéticas conhecidas e patologias intercorrentes que interferissem na estabilidade das determinações<sup>2</sup>.

### 2.2 Desenho do estudo

O estudo, prospectivo longitudinal, teve início em Fevereiro de 2004. As

colheitas foram efectuadas entre Fevereiro e Março de 2004, nos dias em que os doentes tinham previsto a respectiva consulta de controlo.

Em cada doente estudado, efectuou-se primeiro uma colheita por punção capilar (utilizou-se uma lanceta automática fornecida juntamente com o dispositivo). O sangue capilar foi testado no Coaguchek®-S (Roche Diagnostics) imediatamente após a colheita.

A colheita por punção venosa (com sistema convencional) foi efectuada com uma diferença máxima de 10 minutos após a punção capilar. O sangue venoso foi distribuído para tubos colectores com citrato de sódio a 3.2%, numa proporção de anticoagulante/sangue total de 1/10. Na primeira hora após a colheita, procedeu-se à centrifugação do sangue venoso total durante 10 minutos a 3000 rpm numa centrífuga refrigerada, de forma a obter plasma pobre em plaquetas, analisado no coagulómetro MLA ELECTRA 1600C® (Izasa Portugal) utilizando a IL RecombiPlasTin® (ISI de 0.98).

### 2.3 Métodos Laboratoriais

O aparelho Coaguchek®-S é um fotómetro de reflectância usado para medir os valores de TP/INR capilar utilizando tiras de reacção cuja superfície está revestida com uma mistura de partículas de óxido de ferro e tromboplastina. A tira é inserida no aparelho e adiciona-se então uma gota de sangue total que, por capilaridade chega à zona de reacção, entrando em contacto com a tromboplastina. A leitura é efectuada numa célula fotoelétrica, que detecta a diminuição da reflectância à medida que ocorre a formação do coágulo<sup>15</sup>.

A calibração do dispositivo para a determinação do INR em sangue capilar é efectuada a partir de um “code chip” (onde estão todas as informações necessárias sobre reagentes e tempo de reacção da determinação) fornecido pelo fabricante, correspondente ao lote das tiras de reacção em utilização.

O controlo de qualidade é efectuado após a calibração de acordo com a metodologia recomendada pelo fabricante (Roche Diagnostics®). São fornecidos dois níveis de controlo com cada lote de tiras de reacção, um nível de controlo com valores baixos e um nível de controlo com valores elevados de INR.

O equipamento MLA ELECTRA 1600C® é um analisador computadorizado de coagulação, multiparamétrico com preparação automática das amostras, para determinação de INR em plasma (INR venoso). Utiliza a detecção fotométrica para realizar testes cronométricos ou coagulométricos e colorimétricos, sendo multimetodológico. É composto por quatro canais ópticos independentes, permitindo que sejam analisadas quatro amostras de plasma simultaneamente. Os ensaios coagulométricos ou cronométricos (como é o caso da determinação de Tempo de Protrombina) baseiam-se no aumento da densidade óptica da amostra, à medida que o fibrinogénio é convertido em fibrina, após a adição dos reagentes, sendo medido o tempo de formação do coágulo.

O controlo de qualidade foi efectuado diariamente utilizando dois níveis de controlo (IL low control® e IL normal control®) que correspondem a valores de INR elevados e normais respectivamente.

**Quadro I** – Descrição dos dados obtidos, relativos à distribuição do grupo estudado

	Total	Feminino	Masculino
n	71	43 (60%)	28 (40%)
Média Idades	56	55	58
Desvio Padrão	9.8	10.1	7.7
Idade Mínima	31	31	49
Idade Máxima	80	80	77

### Métodos estatísticos

Os dados de INR dos 71 doentes foram tratados através da estatística descritiva, com recurso às medidas de tendência central e de dispersão. Foi analisada a bondade do ajustamento das distribuições dos dados, relativos aos dois equipamentos através do teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Para comparar os resultados de INR utilizou-se o teste *t de student* emparelhado e a correlação de Pearson.

O tratamento estatístico foi realizado através da ferramenta informática “SPSS 13.0 for Windows®”.

### 3. RESULTADOS

O grupo de doentes seleccionados (n=71) revelou uma média de idades de 56 anos (desvio padrão de 9.8) com uma distribuição relativamente ao sexo de aproximadamente 40% indivíduos do sexo masculino e 60% indivíduos do sexo feminino, de idades entre os 31 e 80 anos. O sexo feminino (n=43) revelou uma média de idades de 55 anos, com um desvio padrão de 10.1 (idade mínima de 31 e idade máxima

de 80), enquanto que o sexo masculino (n=28) revelou uma média de idades de 58 anos com um desvio padrão de 7.7 (idade mínima de 49 e idade máxima de 77) (Quadro I).

Relativamente ao INR capilar obteve-se uma média de resultados de 2.33 (intervalo de confiança: 2.21-2.64). A mediana registou um valor de 2.2 que está incluído no intervalo de confiança da média. No que se refere às medidas de dispersão, obteve-se um desvio padrão de 0.89, com um valor mínimo de 0.9 e máximo de 4.8.

Relativamente ao INR venoso obteve-se uma média de resultados de 2.49 (intervalo de confiança: 2.29-2.69). A mediana registou um valor de 2.35 que está incluído no intervalo de confiança da média. No que se refere às medidas de dispersão, obteve-se um desvio padrão de 0.84 com um valor mínimo de 0.97 e máximo de 4.65 (Quadro II).

Em relação ao teste da normalidade de Kolmogorov-Smirnov, com a correcção de Lilliefors, concluiu-se que para o INR, quer capilar quer venoso, a distribuição dos resultados segue a normalidade ( $p > 0.196$ ).

No que se refere à correlação linear dos dados bivariados (Coaguchek® S vs ELECTRA 1600C®) obteve-se uma forte correlação positiva ( $r=0.900$  e  $r^2=0.809$ ). A recta linear do modelo em estudo define-se pela fórmula  $\text{INR venoso} = 0.842 \text{ INR capilar} + 0.449$  (Figura 1).

A média das diferenças entre INR capilar e INR venoso dos 71 pares foi -0.06366 (intervalo de confiança: -0.15685 – 0.02953). Em função do teste *t de student* concluiu-se não existir evidência estatística de diferença das médias ( $t = -1.362$ ;  $p = 0.177$ ). Salienta-se que a amostra (n=71) não põe em

causa a utilização do teste *t de student*.

Os resultados do INR capilar são liminarmente mais baixos do que os resultados do INR venoso (Figura 2), como aliás se verificou a partir da diferença de médias. Devemos salientar que mesmo em resultados de INR superiores a 3.0, este facto não se observa sistematicamente, existindo valores exactamente sobreponíveis, como se pode verificar na Figura 2.

#### 4. DISCUSSÃO

Os dispositivos para determinação do INR em sistemas miniaturizados foram desenvolvidos com o intuito de facilitar a monitorização da hipocoagulação oral, permitindo a sua utilização como testes de ambulatório, de realização simplificada em “Point-of-Care” ou em “Auto-teste”<sup>11</sup>. Com este objectivo, é fundamental que os resultados obtidos sejam sobreponíveis àqueles que se obtêm com um sistema convencional. Neste estudo compararam-se portanto os resultados obtidos na determinação dos valores de INR nos dois sistemas, em doentes hipocoagulados a longo termo, em casos de cirurgia cardíaca valvular, tromboembolismo venoso e fibrilhação auricular, aliás similarmente a estudos já efectuados<sup>8,9</sup>. Não se pretendeu fazer uma comparação de métodos e técnicas, aceitando-se os graus de precisão e de exactidão referidos pelos fabricantes. Igualmente não foi objectivo do trabalho avaliar a linearidade de qualquer dos métodos. Refere-se a este propósito que vários estudos anteriores<sup>3,6-9,13,16</sup> já avaliaram esta problemática. Contudo, não deve ser esquecido que estes equipamentos e métodos utilizam matrizes de amostras diferen-

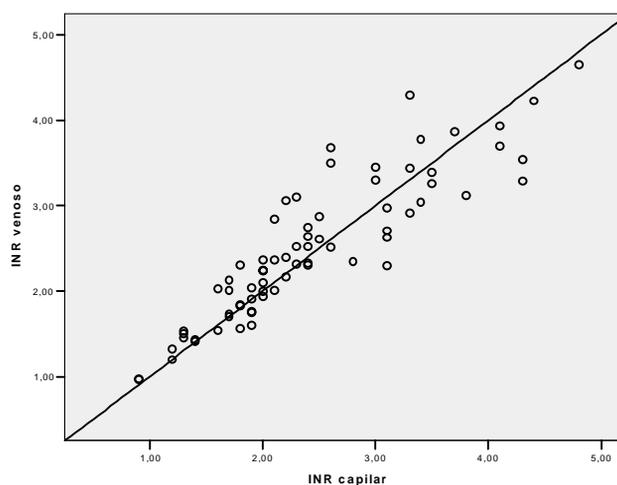


Fig. 1 – Valores de INR capilar e INR venoso para cada determinação.

Quadro II – Comparação dos valores de INR capilar e INR venoso (estatística descritiva)

	INR Capilar	INR Venoso
Média	2,33	2,49
Intervalo Confiança	2,21 – 2,64	2,29 – 2,69
Mediana	2,2	2,35
Desvio Padrão	0,89	0,84
INR mínimo	0,9	0,97
INR máximo	4,8	4,65

tes. O Coaguchek® S utiliza sangue total capilar e o MLA ELECTRA 1600C® utiliza plasma pobre em plaquetas obtido a partir de sangue venoso. Ainda assim, outros estudos comparativos com matrizes diferentes de amostras do mesmo indivíduo demonstraram que estas interferências são mínimas, como se refere no trabalho publicado por van den Besse-laar e colaboradores<sup>17</sup>.

Todos os doentes deste estudo já estavam monitorizados laboratorialmente pelo método convencional há

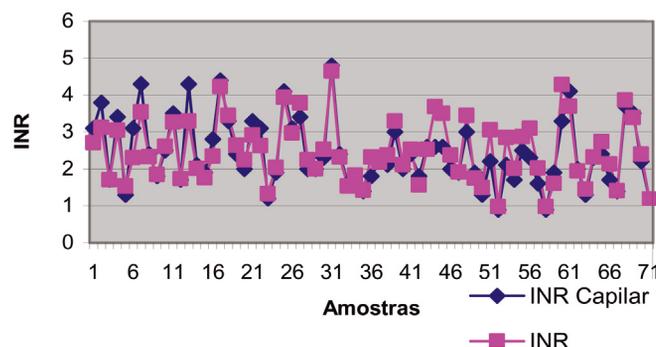


Fig. 2 – Valores de INR capilar e INR venoso para cada determinação.

pelo menos três meses, estando portanto em fase estável de hipocoagulação oral. Sendo assim, a maioria dos resultados do INR apresentam-se dentro do intervalo terapêutico recomendado<sup>1</sup>, não tendo sido analisados resultados muito elevados ( $\text{INR} > 5$ ).

A amostra ( $n=71$  doentes), quer no número e na sua distribuição é semelhante à do estudo efectuado por McBane e colaboradores<sup>9</sup>. Não se estratificaram os resultados em intervalos de valores de INR, como se fez no estudo publicado por Jonsson e colaboradores, utilizando intervalos de distribuição de valores ( $\text{INR} < 2$ ;  $2 < \text{INR} < 4$  e  $\text{INR} > 4$ ). Tal facto ficou a dever-se à dimensão da amostra em estudo.

Os resultados obtidos para as médias dos valores de INR capilar e venoso, com uma média de diferenças sem significado estatístico ( $-0.06366$ ;  $p = 0.177$ ) permite concluir que os resultados obtidos para o INR determinado no CoaguChek® S são sobreponíveis àqueles determinados no sistema convencional. Este resultado é bastante semelhante ao obtido no estudo efectuado por McBane e colaboradores<sup>9</sup> que obtiveram uma diferença de médias de  $-0.2$  (desvio padrão de  $0.31$ ) igualmente de sinal negativo e sem diferença significativa. Já no estudo efectuado por Jonsson e

colaboradores<sup>8</sup> a diferença encontrada foi de  $0.23$  (desvio padrão de  $0.5$ ). Existe portanto grande consistência de resultados neste e noutros estudos, tornando muito evidente a fiabilidade de utilização destes equipamentos. Aliás, a análise da correlação linear dos dados bivariados mostrou forte correlação positiva ( $r = 0.900$  e  $r^2 = 0.809$ ) entre os dois métodos executados, permitindo a extrapolação dos resultados de um método para o outro.

A utilização da determinação do INR em sangue capilar, em substituição da sua determinação em sangue venoso tem importantes implicações no controlo da terapêutica com anti-coagulantes orais. A realização da determinação em ambulatório, sem necessidade de deslocação dos doentes a um centro especializado, não só possibilita uma monitorização mais frequente, como também permite alcançar um grau de controlo estável mais apropriado<sup>5</sup>. Na eventualidade de realização de auto-teste, a monitorização e o respectivo controlo podem ser efectuados pelo próprio doente<sup>10</sup>, com a devida formação nesse sentido. Vários estudos têm demonstrado que esta última possibilidade implica menor morbidade e maior grau de controlo dos doentes<sup>14</sup>.

Em qualquer caso, a flexibilidade

que caracteriza estas determinações, traduz-se na possibilidade de gestão da monitorização e controlo destes doentes com reflexos na gestão dos cuidados de saúde.

## REFERÊNCIAS

1. Ansell, J; Hirsh, J; Poller, L; Bussey, H; Jacobson, A; Hylek, E: The pharmacology and management of the vitamin K antagonists: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*. 2004 Sep; 126(3 suppl): 204S-233S.
2. Crowther, M A; Ginsberg, J S : Anticoagulant therapy. In: *Blood, Principles and Practice of Haemathology*. Eds. Handin R I; Lux, S E; Stossel, T P., 2<sup>nd</sup> edition, Lippincott Williams e Wilkins, Philadelphia, 2003 pp 1327 – 43.
3. Douketis, J D ; Lane, A ; Milne, J ; Ginsberg, J S: Accuracy of a Portable International Normalization Ratio Monitor in Outpatients Receiving Long-Term Oral Anticoagulation Therapy: Comparison with a Laboratory Reference Standard Using Clinically Relevant Criteria for Agreement. *Thrombosis Research*. 1998; 92: 11-17.
4. Filippi, A; Sessa, E; Trifiro, G; Mazzaglia, G; Pecchioli, S; Caputi, A P; Cricelli, C : Oral anticoagulant therapy in Italy: prescribing prevalence and clinical reasons. *Pharmacol Res*. 2004 Dec; 50 (6): 601-3.
5. Gardiner, C; Williams, K; Mackie, I J; Machin, S; Cohen, H: Patient self-testing is a reliable and acceptable alternative to laboratory INR monitoring. *Br J Haematol*. 2004; 128: 242-7.
6. Gosselin, R; Owings, J T; White, R H; Hutchinson, R; Branch, J; Mahackian, K; Johnston, M; Larkin, E C : A Comparison of Point-of-Care Instruments Designed for Monitoring Oral Anticoagulation with Standard Laboratory Methods. *Tromb Haemost*. 2000; 83:698-703.
7. Jackson, S L ; Bereznicki, L R ; Peterson, G M; Marsden, K A; Jupe, D M L; Tegg, E; Vial, J H; Kimber, R I : Accuracy, reproducibility and clinical utility of the CoaguChek S portable international normalized ratio monitor in an outpatient anticoagulation clinic. *Clin. Lab. Haem*. 2004; 26: 49-55.
8. Jonsson, M; Hillarp, A; Svensson, P : Comparison between Coaguchek S- and Owren-type prothrombin time assay for monitoring anticoagulant therapy. *Thrombosis Research*. 2004;114: 83-89.
9. McBane, R D; Felty, C L; Hartgers, M L; Chaudhry, R; Beyer, L K; Santrach, P J : Importance of Device Evaluation for Point-of-Care Prothrombin Time International Normalizer Ratio Testing Programs. *Mayo Clin Proc*. 2005; 80(2):181-186.
10. Menendez-Jandula, B ; Souto, J C ; Oliver, A ; Montserrat, I ; Quintana, M ; Gich, I ; Bonfill, X ; Fontcuberta, J : Comparing self-management of anticoagulant therapy with clinic management: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2005 Jan; 142: 1-10.
11. Murray, E T ; Fitzmaurice, D A ; McCahon, D : Point of care testing for INR monitoring: where are we now? *Br J Haematol*. 2004 Nov; 127: 373-8.
12. Quick, A : The Prothrombin time in haemophilia and in obstructive jaundice. *J Biol Chem*. 1935; 109: 73-4.
13. Shiach, C R; Campbell, B; Poller, L; Keown, M; Chauhan, N : Reliability of point-of-care prothrombin time testing in a community clinic: a randomized crossover comparison with hospital laboratory testing. *Br J Haematol*. 2002; 119:370-375.
14. Tripodi, A : Control of Oral Anticoagulant Therapy with Whole Blood Prothrombin Time Devices: the Future Has Begun. *Thromb Haemost*. 2000; 84:362-3.
15. Tritscher, W; Zerback, R; Plesch, W. *Optimized Control of Anticoagulation Therapy with the Coaguchek S System: Results of Performance Assessments and User Evaluations*. Ed. Ramstetter, E., Mannheim, Germany, 2001. Accessed March 2005 at [www.coaguchek.com](http://www.coaguchek.com).
16. Van den Besselaar, A M H P : A Comparison of INRs Determined with a Whole Blood Prothrombin Time Device and two International Reference Preparations for Thromboplastin. *Thromb Haemost*. 2000; 84: 410-2.
17. Van den Besselaar, A M H P; Meeuwisse-Braun, J; Schaefer-van Mansfeld, H; van Rijn, C; Witteveen, E: A comparison between capillary and venous blood international normalized ratio determinations in a portable prothrombin time device. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. 2000; 11: 559-562.