

UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL - UNISC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROMOÇÃO DA SAÚDE - MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PROMOÇÃO DA SAÚDE

Rosileidi Pappen Umpierres

**QUANTIFICAÇÃO DE GLICOSE SALIVAR POR FT-IR E SUA ASSOCIAÇÃO
COM MARCADORES GLICO-LIPÊMICOS EM TRABALHADORES RURAIS E DA
AGROINDÚSTRIA**

Santa Cruz do Sul

2019

Rosileidi Pappen Umpierres

**QUANTIFICAÇÃO DE GLICOSE SALIVAR POR FT-IR E SUA ASSOCIAÇÃO
COM MARCADORES GLICO-LIPÊMICOS EM TRABALHADORES RURAIS E DA
AGROINDÚSTRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde – Mestrado, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Promoção da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Valeriano Antonio Corbellini
Coorientador: Prof^ª. Dr^ª. Hildegard Hedwig Pohl

Santa Cruz do Sul

2019

Rosileidi Pappen Umpierres

**QUANTIFICAÇÃO DE GLICOSE SALIVAR POR FT-IR E SUA ASSOCIAÇÃO
COM MARCADORES GLICO-LIPÊMICOS EM TRABALHADORES RURAIS E DA
AGROINDÚSTRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Promoção da Saúde – Mestrado, Universidade de Santa Cruz
do Sul – UNISC, como requisito parcial para obtenção do
título de Mestre em Promoção da Saúde.

Banca examinadora

Dr. Valeriano Antonio Corbellini

Professor orientador – UNISC

Dr^a. Hildegard Hedwig Pohl

Professor coorientador – UNISC

Dr^a. Andréia Rosane de Moura Valim

Professor examinador – UNISC

Dr^a. Daiane Heidrich

Professor examinador – UNIVATES

Santa Cruz do Sul

2019

Dedico esse trabalho à minha família, sobretudo aos meus pais, por terem me concedido o bem mais valioso, a educação, tornando possível a realização dessa etapa profissional e ensinando-me a nobreza da vida; toda a minha gratidão a vocês pelo amor, incentivo e apoio incondicional;

Ao meu pai José, fostes a minha inspiração de vida e na área que escolhi da Odontologia, assim como os talentosos profissionais de nossa família que doutrinastes nessa profissão, e mesmo que apenas fisicamente não estejas mais conosco, nosso eterno muito obrigado por todos teus ensinamentos. Te amamos muito!

AGRADECIMENTOS

A toda equipe de professores do curso do Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde (PPGPS) da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), bem como aos colegas do curso de mestrado ao dividir comigo esta realização.

Ao meu orientador Prof. Dr. Valeriano Antonio Corbellini, tens a essência da pesquisa; obrigada pela oportunidade, confiança na realização do experimento e por toda a orientação e empenho necessários à realização deste estudo.

À minha coorientadora, Prof^ª. Dr^ª. Hildegard Hedwig Pohl, por todo o auxílio prestado com doçura e sabedoria, pelo engajamento e esforços dedicados ao seu Projeto que por intermédio de seus integrantes tornaram possível a concretização de minhas análises.

À Prof^ª. Dr^ª. Andréia Rosane de Moura Valim e à Prof^ª. Dr^ª. Daiane Heidrich, pela disponibilidade e contribuição em compor parte da banca examinadora deste trabalho.

Aos Laboratórios de Bioquímica e Imunologia, e do infravermelho da UNISC pela acolhida.

À minha irmã de caminhada Tatiane, com seu auxílio incondicional na elaboração deste trabalho; fostes o meu pórtico nos momentos em que mais precisei.

A toda minha família, a base de tudo, me amparando e contribuindo para o meu crescimento pessoal e profissional, dando-me todo o apoio para a conclusão deste trabalho, e a Deus pelo dom da Vida!

Com vocês divido a alegria dessa experiência!

*“O dinheiro faz homens ricos, o conhecimento faz homens sábios,
e a humildade faz grandes homens.” Mahatma Gandhi*

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

Introdução: No monitoramento das doenças crônicas degenerativas tem se destacado o controle dos perfis glico-lipêmicos enquadrando glicose, colesterol total, HDL, LDL e triglicerídeos. Estes são contemplados com uma nova tecnologia através da FT-IR, voltada ao seu diagnóstico e controle clínico. **Objetivo:** Os objetivos desse estudo foram desenvolver e validar métodos de quantificação de glicose salivar por FT-IR tendo como referência a espectroscopia de absorção molecular no UV/Visível, e avaliar a associação entre os espectros FT-IR salivares e os respectivos valores do perfil glico-lipêmico sanguíneo e salivar. **Metodologia:** Trata-se de um estudo transversal com 104 indivíduos de ambos os sexos, com idade superior a 18 anos dos municípios de Encruzilhada do Sul, Rio Pardo, Candelária, Passo do Sobrado e Vale Verde. As mensurações de glicose sanguínea e salivar foram realizadas por meio de um estudo analítico, com análises bioquímicas e espectroscópicas no infravermelho. **Resumo do artigo 1:** A glicose salivar não se mostrou um biomarcador adequado para avaliar o perfil glico-lipêmico em trabalhadores rurais. Por meio da espectroscopia de infravermelho FT-IR auxiliada por método quimiométrico, foi possível correlacionar glicose salivar com os parâmetros glico-lipêmicos. **Resumo do artigo 2:** A fim de complementar e agilizar as análises clínicas convencionais, até então realizadas por exames enzimáticos, surge a possibilidade por intermédio da FT-IR embasada por método quimiométrico, quantificar através do espectro salivar os parâmetros glico-lipêmicos de maneira rápida, não invasiva e livre de reagentes. **Considerações Finais:** Com base nos achados em termos de custos e rapidez de resultados, a FT-IR é um método eficaz para a quantificação de glicose salivar associando-a com os perfis glico-lipêmicos para os trabalhadores rurais integrantes dessa pesquisa; mostrou-se uma ferramenta inovadora e promissora ao associar o espectro salivar na correlação dos parâmetros sanguíneos dos sujeitos desse estudo.

Palavras-chave: FT-IR, quimiometria, saliva, perfil glico-lipêmico, trabalhadores rurais.

ABSTRACT

Introduction: In the monitoring of chronic degenerative diseases, the control of the glyco-lipemic profiles including glucose, total cholesterol, HDL, LDL and triglycerides, has been highlighted. These are contemplated with a new technology through FT-IR, focused on its diagnosis and clinical control. **Objective:** The objectives of this study were to develop and validate methods for salivary glucose quantification by FT-IR with reference to UV / Visible molecular absorption spectroscopy and to evaluate the association between salivary FT-IR spectra and respective profile values glycemic and salivary. **Methodology:** This is a cross-sectional study with 104 individuals of both sexes, aged over 18 years of the municipalities of Encruzilhada do Sul, Rio Pardo, Candelária, Passo do Sobrado and Vale Verde. Blood and salivary glucose measurements were performed by means of an analytical study, with biochemical and spectroscopic analyzes in the infrared. **Summary of article 1:** Salivary glucose was not shown to be a suitable biomarker to evaluate the glyco-lipemic profile in rural workers. Through the FT-IR infrared spectroscopy aided by chemometric method, it was possible to correlate salivary glucose with the glyco-lipemic parameters. **Summary of the article 2:** In order to complement and streamline the conventional clinical analyzes previously performed by enzymatic tests, the possibility arises through FT-IR based on a chemometric method, quantifying the salivary spectrum the glyco-lipemic parameters of fast, non-invasive and reagent free. **Conclusion:** Based on the findings in terms of cost and speed of results, FT-IR is an effective method for the quantification of salivary glucose by associating it with the glyco-lipemic profiles for rural workers who are part of this research; was an innovative and promising tool to associate the salivary spectrum in the correlation of the blood parameters of the subjects of this study.

Keywords: FT-IR, chemometrics, saliva, glyco-lipemic profile, rural workers.

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS DO REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1 - Municípios do Conselho Regional de Desenvolvimento (COREDE) Vale do Rio Pardo – 2008.....	18
Figura 2 - Localização das glândulas salivares	26

FIGURAS DO ARTIGO I

Figura 1 - Distribuição de parâmetros glico-lipêmicos de trabalhadores masculinos e femininos em função da glicose salivar.	45
Figura 2 - Espectro médio FT-IR salivar de 104 trabalhadores rurais.	46
Figura 3 - Distribuição VL1xVL2 de elementos, correlação de resíduos, curva de predição e vetor de regressão para o modelo PLS Glicose/SRIFTS e respectivos gráficos de predição da amostra investigada.....	47

FIGURAS DO ARTIGO II

Figura 1 - Espectro médio FT-IR salivar referente à triplicata de 104 indivíduos obtidas por espectroscopia de reflectância especular.....	64
Figura 2 - Distribuição VL1xVL2 de elementos de conjuntos de calibração (CC, n = 52) e predição (CP, n = 52) e respectivos gráficos de predição de modelos PLS/FT-IR salivar de parâmetros glico-lipêmicos.....	65
Figura 3 - Correlação de resíduos com valores de referência e vetores de regressão de modelos PLS/FT-IR salivar de parâmetros glico-lipêmicos.....	66

LISTA DE TABELAS

TABELAS DO ARTIGO I

Tabela 1 - Médias e desvio padrão dos parâmetros glico-lipêmicos e glicose salivar de 104 trabalhadores rurais.....	44
Tabela 2 - Figuras de mérito do modelo PLS de predição de glicose salivar por SRIFTS.....	47

TABELAS DO ARTIGO II

Tabela 1 - Figuras de mérito dos modelos PLS de parâmetros glico-lipêmicos por FT-IR salivar.....	67
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i>
AVC	Acidente Vascular Cerebral
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CC	Conjunto de Calibração
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CNS	Conselho Nacional de Saúde
COREDE	Conselho Regional de Desenvolvimento
CP	Conjunto de Predição
CT	Colesterol Total
DCNT	Doença Crônicas Não Transmissíveis
DCV	Doença Cardiovascular
DM	Diabetes <i>Mellitus</i>
DM1	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 1
DM2	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2
DMG	Diabetes <i>Mellitus</i> Gestacional
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DORT	Distúrbios Osteomusculares Relacionados ao Trabalho
DP	Desvio Padrão
EUA	Estados Unidos da América
FT-IR	Espectroscopia de Absorção Molecular no Infravermelho com Transformada de Fourier
FT-NIR	<i>Fourier Transform Near Infrared</i>
Gli	Glicose
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HDL- c	<i>High Density Lipoproteins Cholesterol</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IV	Espectroscopia de Infravermelho
LAFISA	Laboratório de atividade Física e Saúde
LDL- c	<i>Low Density Lipoproteins Cholesterol</i>
LER	Lesões por Esforços Repetitivos

LOOV	<i>Leave-one Out Validation</i>
LOOCV	<i>Leave-one Out Cross Validation</i>
MIR	Infravermelho Médio
NR	Norma Regulamentadora
OIT	Organização Internacional do Trabalho
OMS	Organização Mundial da Saúde
OSC	<i>Orthogonal Signal Correction</i>
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PCMSO	Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PLS	<i>Partial Least Squares</i>
pH	Potencial de Hidrogênio
R ²	Coefficiente de Determinação
R _r	Coefficiente de Correlação de Resíduos
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
RMSEP	<i>Root Mean Square Error of Prediction</i>
RMSECV	Erro Quadrático Médio de Validação Cruzada
RPM	Rotação por Minuto
RS	Rio Grande do Sul
RSD	<i>Relative Standard Deviation</i>
SD	<i>Standard Deviation</i>
SRIFTS	<i>Specular Reflect of Infrared Fourier Transform Spectroscopy</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TAG	Triacilgliceróis
TG	Triglicerídeos
VL	Variável Latente
UNISC	Universidade de Santa Cruz do Sul

LISTA DE SÍMBOLOS

β	Letra beta do alfabeto grego
cm	Centímetro
L	Litro
mg/dL	Miligrama por decilitro
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mmHg	Milímetros de mercúrio
mmol.L	Milimol por Litro
μL	Microlitro
%	Porcentagem
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celsius
>	Maior
<	Menor
\pm	Mais ou menos
\bar{x}	Média

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	14
CAPÍTULO I	
REFERENCIAL TEÓRICO	15
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 SAÚDE DO TRABALHADOR: diretrizes e novas abordagens para o seu monitoramento.....	18
2.1 Doenças crônicas não transmissíveis.....	20
2.2 Saúde bucal e sua relação com DCNT	24
2.3 Fluido salivar: composição, propriedades e fisiologia	25
2.4 Saliva como meio diagnóstico para doenças	26
2.5 Espectroscopia de absorção molecular no infravermelho com transformada de Fourier para diagnóstico clínico.....	28
2.6 Interdisciplinaridade na promoção da saúde	31
3 OBJETIVOS.....	33
3.1 Objetivo geral	33
3.2 Objetivos específicos.....	33
CAPÍTULO II	
ARTIGO I.....	35
ARTIGO II	55
CAPÍTULO III	
CONCLUSÕES GERAIS	75
CAPÍTULO IV	
NOTA À IMPRENSA	617
CAPÍTULO V	
RELATÓRIO DE CAMPO	83
REFERÊNCIAS	70

ANEXOS

ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido	77
ANEXO B – Questionário de história médica pregressa	79
ANEXO C – Carta de Aceite.....	95
ANEXO D – Carta de Aceite	96
ANEXO E – Carta de Aceite.....	97
ANEXO F – Ofício Comitê de Ética e Pesquisa UNISC	98
ANEXO G – Ofício Comitê de Ética e Pesquisa UNISC.....	99
ANEXO H – Parecer Consubstanciado do CEP.....	100
ANEXO I – Normas da Revista do Artigo I.....	103
ANEXO J – Normas da Revista do Artigo II.....	118

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul é composta por seis partes: projeto de pesquisa, relatório de trabalho de campo, artigo I, artigo II, nota para divulgação da pesquisa na imprensa e anexos.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Santa Cruz do Sul e defendido em setembro de 2017, perante a presença dos professores e alunos do Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde da UNISC.

A dissertação citada consta de dois artigos apresentados no mês de dezembro de 2018 à pré-defesa, mediante banca interna do Programa, intitulados: GLICOSE SALIVAR: ASSOCIAÇÃO COM PARÂMETROS GLICO-LIPÊMICOS E QUANTIFICAÇÃO POR FT-IR EM TRABALHADORES RURAIS e PADRONIZAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE PERFIL GLICO-LIPÊMICO POR FT-IR SALIVAR.

A dissertação será defendida mediante banca constituída dentro das exigências do CAPES e normas regimentais do PPGPS no mês de fevereiro de 2019, fazendo parte da banca os professores: Dr. Valeriano Antonio Corbellini, Dr^a. Hildegard Hedwig Pohl, Dr^a. Andréia Rosane de Moura Valim e Dr^a. Daiane Heidrich, convidada externa ao programa.

CAPÍTULO I
REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

A saúde do indivíduo com abrangência desde a criança ao idoso é uma necessidade para um desenvolvimento sustentável e igualitário. No entanto, os trabalhadores rurais têm encontrado dificuldades relacionadas à carência ou desassistência aos serviços básicos de saúde, além da quantidade insuficiente de medicamentos cedidos para as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) por meio do sistema de saúde, o que caracteriza algumas das deficiências destes trabalhadores (FETAG-RS, 2017).

As DCNT atuam interferindo na diminuição das atividades do trabalhador relacionadas a sua rotina produtiva e diminuindo o seu potencial. Tal situação pode interferir na estabilização de sua remuneração, requerendo com isso precocemente sua aposentadoria e gerando como consequência um déficit na economia brasileira (HYEDA et al., 2016).

As DCNT estão inseridas como sérios problemas de saúde pública; segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em esfera mundial respondem por 58,5% dos óbitos e 45,9% das doenças (OMS, 2005). Nas duas últimas décadas no Brasil as DCNT foram as responsáveis pela maioria das causas de mortalidade, superadas pelas doenças infecciosas e parasitárias, aumentando o ônus relativo a despesas com assistência hospitalar no Sistema Único de Saúde (SUS) (MELLO et al., 2017).

O êxito das intervenções de saúde pública, tanto para a redução dos fatores de risco como à prevalência das DCNT torna-se mais evidente quando atingem as ações de promoção da saúde em conjunto com a prevenção das DCNT. Para isso, articula-se a implementação de estratégias setoriais e intersetoriais, cuidando de forma integral das pessoas com DCNT e das causas que às predis põem (BRASIL, 2008).

De acordo com a OMS, são classificadas como doenças crônicas: neoplasias, diabetes *mellitus* (DM), doenças respiratórias crônicas, cardiovasculares, englobando nestas as cérebro vasculares e isquêmicas. Também estão inseridas nesse quadro de enfermidades as neurológicas, mentais, articulares e ósseas, doenças bucais, incluindo as patologias oculares e auditivas, além daquelas de ordem genética (OMS, 2005).

As DCNT têm sido alvo de preocupações tanto para a área da saúde como para a sociedade por abranger várias doenças, que além do custo social que promovem, gerando um aumento do índice de mortes prematuras. Como resultante, pode tornar o indivíduo portador dessas doenças limitado em suas atividades como trabalho e o lazer, interferindo assim em sua qualidade de vida, tornando-se um agravante em potencial de iniquidade social (MALTA et al., 2014).

Nas áreas da odontologia e medicina, para o auxílio das análises de doenças sistêmicas e orais, a saliva representa um meio de diagnóstico importante nas avaliações fisiológicas e patológicas dos seres humanos. Destacam-se suas vantagens por utilizar um método simples, não invasivo, de fácil armazenamento e baixo custo. A busca por técnicas modernas associadas a produtos químicos e instrumentação de equipamentos para tal faz prosperar o uso da saliva para exames laboratoriais, com aplicabilidade tanto na saúde básica quanto nas intervenções clínicas (LIMA et al., 2010).

Para a análise do fluido salivar novas técnicas têm-se apresentado, entre elas podemos citar a Espectroscopia de Absorção Molecular no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), possibilitando ser utilizada para o diagnóstico e associação da saliva relacionadas com certas patologias (SCOTT et al., 2010).

A FT-IR destaca-se por um método na obtenção de análises biológicas, por meio de informações bioquímicas e imagens na busca pelo diagnóstico, possibilitando a leitura celular ou do tecido em análise e liberando dados espectrais por meio de uma diversidade de algoritmos computacionais. Tais imagens originam-se de espectros de impressão digital, refletindo o estado de saúde da amostra analisada. As análises espectrais esboçam a categoria das células baseadas na estruturação de lipídios, proteínas, carboidratos e de seu ácido desoxirribonucleico (DNA) (BAKER et al., 2014).

Shaw e Mantsch (2011) apontam que a FT-IR tem se destacado como um método analítico para uma ampla variedade de aplicações, não necessitando reagentes específicos para as suas análises e reduzindo assim o seu custo.

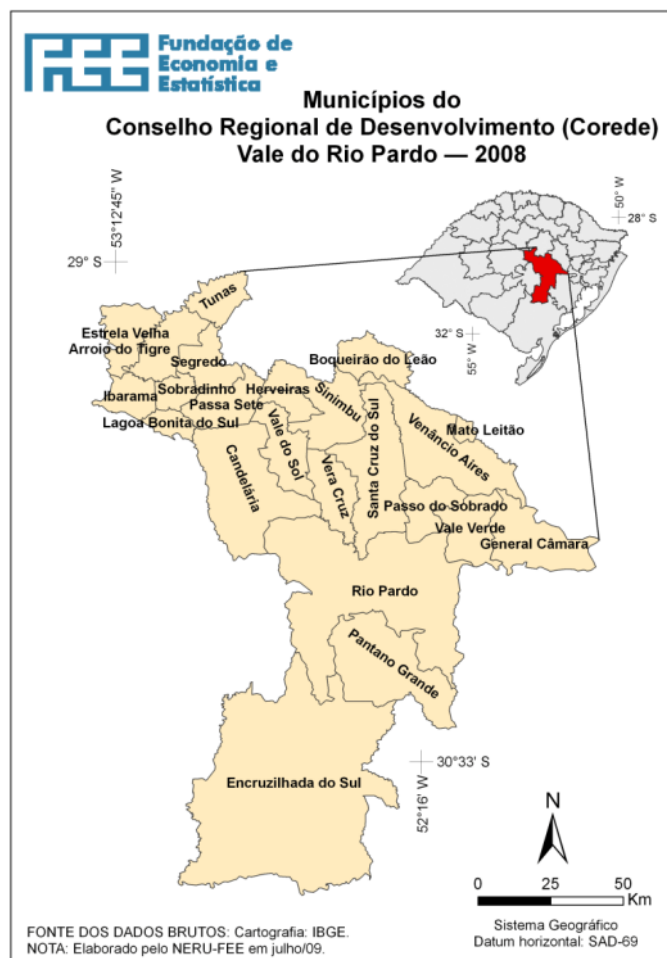
Perez-Guaita, Garrigues e Guardia (2014) complementam que o aprimoramento de poderosos espectrômetros com transformada de Fourier permitem adquirir de forma direta os espectros de amostra de maneira rápida, com facilidades de técnica e por meio de uma instrumentação acessível.

Com a alta predominância das DCNT identificadas na população e o custo necessário para o seu diagnóstico e controle, questiona-se: é possível validar um novo método baseado em espectroscopia no infravermelho através do fluido salivar para a quantificação de glicose?

2 SAÚDE DO TRABALHADOR: diretrizes e novas abordagens para o seu monitoramento

A região do Vale do Rio Pardo localiza-se na área centro-oriental do Estado do Rio Grande do Sul. Atualmente é constituída de 23 municípios e com uma extensão de 14.342 km², representando 5,09% da área total do território gaúcho. Possui características reconhecidas mundialmente por ser uma área que produz e beneficia a fumicultura. Nessa região, destacam-se as cidades de Santa Cruz do Sul, Vera Cruz e Venâncio Aires, localizados na área central, destacando-se pelo setor fumageiro (SILVEIRA; CAMPOS, 2012).

Figura 1 - Municípios do Conselho Regional de Desenvolvimento (COREDE) Vale do Rio Pardo – 2008



Fonte: Disponível em:

<https://www.google.com.br/search?q=Corede+mapa&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjsgerktbnVAhXEVyYKHLaLuBxUQ_AUICigB&biw=1024&bih=536>. Acesso em: 01 jun. 2017.

A região do Vale do Rio Pardo/COREDE - Conselho Regional de Desenvolvimento do Vale do Rio Pardo possui além da cultura do tabaco o desenvolvimento voltado para o setor agropecuário, industrial e do comércio, entre outros serviços que expõem uma diversificação econômica pouco explorada (ALMEIDA; ALVES, FUNK, 2007). A agricultura brasileira ultrapassa os dezesseis milhões de trabalhadores que vivem no campo, e além da ocupação ligada à agricultura, enquadram-se ao ramo pecuário e também à produção, envolvendo a área florestal. O trabalho desenvolvido na agricultura reflete uma atividade de risco em comparação a outros ramos da economia (FREITAS; GARCIA, 2012).

O agricultor tem o seu sustento voltado ao trabalho agrícola, incluindo algumas características, como um ritual intenso de atividades associado a variadas condições climáticas, o cumprimento de uma série de tarefas a ele destinada, como encarregar-se da colheita e do tratamento de suas respectivas culturas, entre tantos outros encargos. Isso pode expor o mesmo a alergias, intoxicações e infecções (ROCHA et al., 2014). O levantamento da OMS aponta que as tarefas agrícolas estão inseridas num contexto de crise relacionadas tanto à saúde quanto à segurança do trabalhador (ALVES; GUIMARÃES, 2012).

Outros fatores de ordem aguda e crônica também acometem os trabalhadores rurais e agricultores em grandes índices, destacando as doenças cardiovasculares, artrite, amputações, além do câncer de pele e perda auditiva, incluindo-se também as doenças respiratórias. Torna-se necessário um conhecimento mais detalhado tangente à prevenção das doenças e aos acidentes que estão interligados ao trabalho no setor agropecuário, além de inserir a promoção da saúde na região de indivíduos pertencentes direta ou indiretamente ao setor agrícola (FREITAS; GARCIA, 2012).

Segundo a Organização Internacional do Trabalho (OIT), o serviço de segurança e saúde ocupacional envolve-se em buscar e manter o bem estar mental, físico e social dos trabalhadores. Para cumprir tal propósito, emerge-se para a necessidade de um aprimoramento do programa de controle médico de saúde ocupacional (PCMSO), destinado à saúde do trabalhador sob âmbito integral. Os exames médicos ocupacionais fundamentam-se em avaliar as condições de saúde do empregado e sua manutenção, propiciando interagir com a saúde do trabalhador e englobando os fatores de risco das DCNT. Essa inserção através de um gerenciamento dos fatores de risco das DCNT junto aos trabalhadores proporciona um aumento em sua produtividade, na qualidade de vida e em sua saúde. Para isso, no entanto alguns princípios devem ser considerados: enfatizar o supervisionamento por parte dos seus líderes em programas de saúde de seus empregados; promover uma assistência através de um método de informação objetivando planejar metas aos trabalhadores; focar na intervenção de acordo com

o delineamento da saúde e, por último, incentivar o trabalhador na cooperação de sua própria saúde, orientando a buscar um estilo de vida adequado (HYEDA et al., 2016).

Dentre as DCNT, a prevenção surge como uma estratégia a fim de atenuar o advento e o avanço de algumas das suas manifestações como o diabetes, obesidade, as doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer. Detectar precocemente a doença incrementando com atividades físicas, bem como a redução do tabagismo e uma dieta saudável caracterizam condutas preventivas para tais enfermidades. Essas ações geram resultados eficazes e com um custo baixo, adicionando uma importância aos trabalhadores dentro de seu âmbito profissional. Segundo a Norma Regulamentadora (NR) 7, essa sugere que os empregados identificados com DCNT prestem avaliações por um período anual em seus exames periódicos. Porém, esse período de tempo pode compreender um período muito extenso, não sendo possível assim um controle devido aos riscos que norteiam as DCNT, relacionando-as com a saúde dos trabalhadores (HYEDA et al., 2016).

2.1 Doenças crônicas não transmissíveis

As DCNT assumem um índice aproximado de 45,9% das doenças mundiais, e alguns fatores de risco as sustentam como a hipertensão arterial, o tabagismo, o consumo abusivo de bebidas alcóolicas, a prática não regular de exercícios físicos sobressaindo-se com a inatividade física, bem como a presença de sobrepeso ou obesidade, além da ingestão de pouca quantidade de frutas e hortaliças na dieta e propensos a índices de hiperglicemia. Os mesmos autores apontam que esses fatores de risco interferem na qualidade de vida da população acometida dessas doenças, e concluem ainda ser fundamental o diagnóstico precoce dos fatores de risco tanto para a prevenção como para o controle das DCNT, pois essas doenças manifestam-se silenciosamente (CAMPOS; NETO, 2009).

A OMS (2005) determina como DCNT diabetes *mellitus*, cardiovasculares, renovasculares, cerebrovasculares, neoplasias e respiratórias. Dentre as doenças cardiovasculares, apontam-se a hipertensão arterial sistêmica (HAS), aterosclerose, acidente vascular cerebral (AVC) e o infarto agudo do miocárdio (IAM) (WEAVER JR; MITSNEFES, 2015; PANDIT; PANDEY, 2015; REED; ROSSI; CANNON, 2016).

As DCNT caracterizam-se por diversas causas associadas a vários fatores de risco e pontuadas de extensos períodos de latências, curso prolongado e de etiologia não infecciosa, tendo como característica estarem vinculadas com deficiências e incapacidades funcionais. Essas atuam com causas múltiplas, sendo possível observar os fatores de risco que

desencadeiam estas doenças, os ditos “não modificáveis”, como o sexo, idade e herança genética, e os “comportamentais”, incluindo o tabagismo, alimentação, inatividade física, o consumo de álcool e outras drogas (BRASIL, 2008).

A HAS enquadra-se em situações em que a pressão arterial sistólica (PAS) mantém-se continuamente elevada em valores de $\geq 140/90$ mmHg, com um grande acometimento da população e geralmente não apresentando sintomatologia; a nível global mais de 40% das pessoas com mais de 25 anos são portadoras de hipertensão. Quanto maior for a HAS do indivíduo maior a probabilidade de desenvolver doenças cardiovasculares, renais, cerebrovasculares e periféricas vasculares (O'SHEA; GRIFFIN; FITZGIBBON, 2016), sendo também considerada um desafio para a saúde pública devido a consequências que pode acarretar ao sistema circulatório, como o desenvolvimento da aterosclerose (WEAVER JR; MITSNEFES, 2015).

A aterosclerose caracteriza-se por uma doença imunoinflamatória decorrente do acúmulo de colesterol em artérias de médio e grande calibre, tendo como resultante a formação de trombos; como consequência destaca-se pela principal causa de morbimortalidade. Além dos fatores genéticos, a aterosclerose relaciona-se também com a dieta, tabagismo, não exercer atividade física, bem como o estresse oxidativo e metabólico (PANDIT; PANDEY, 2015).

Já o AVC estabelece-se quando ocorrem sinais clínicos de distúrbios focal ou total relacionados à função cerebral, apresentando sintomatologia em um período de 24 horas ou mais, ou ainda podendo levar à morte, sendo considerado um problema para a saúde pública. Entre alguns fatores de risco do AVC, destacam-se: idade, tabagismo, DM, consumo de bebidas alcoólicas, consumo de drogas ilícitas, algumas doenças cardíacas, entre outros (HOWARD, 2016).

O AVC de ordem isquêmica resulta da obstrução de um vaso decorrente de uma embolia, trombose ou de uma insuficiência hemodinâmica (HOWARD, 2016). Geelyn et al. (2017) mencionam que o AVC isquêmico pode atingir pequenas ou grandes artérias, tanto a nível intra como extracraniano e originada por uma diminuição ou ruptura severa do fluxo sanguíneo no interior do cérebro; seguindo essas alterações, uma área desprovida totalmente de fluxo sanguíneo pode evoluir ao óbito. Em 2050 os mesmos autores apontam para uma epidemia silenciosa de AVC, tendo como indivíduos acima de 60 anos a sua principal causa de morte, sendo iniciada pela evolução dos fatores de risco coronarianos e com progressão até atingir órgãos cerebrovasculares.

Das doenças citadas, o IAM ocorre em sua maioria quando rompe-se uma placa aterosclerótica vulnerável em alguma artéria coronária, ocorrendo a erosão do endotélio. Após

essa ruptura a placa libera princípios de trombos atingindo plaquetas e desencadeando um processo de coagulação; com isso, acentuam-se a formação de trombos e embolias às custas de detritos escleróticos. Das enfermidades coronarianas, o IAM é o que apresenta maior gravidade (REED; ROSSI; CANNON, 2016).

O DM é outra enfermidade de grande relevância dentre as DCNT; de acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) o DM caracteriza-se por um distúrbio metabólico, apresentando uma hiperglicemia persistente ocasionada pela deficiência na produção de insulina ou na sua ação, gerando complicações em longo prazo em ambos os mecanismos. O DM é classificado por diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1), diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) e o diabetes *mellitus* gestacional (DMG) (SBD, 2017).

O DM1 é mais frequentemente diagnosticado em crianças, adolescentes ou adultos jovens, identificada como uma doença autoimune em decorrência da destruição das células β pancreáticas, ocasionando uma ampla deficiência na produção de insulina. O DM2 engloba de 90 a 95% de todos os casos de DM, de etiologia complexa e multifatorial, relacionada à herança familiar, envolvendo fatores genéticos e ambientais. E relacionando-se ao DMG, a placenta produz hormônios hiperglicemiantes e enzimas placentárias que degradam a insulina, aumentando assim tanto a produção quanto a resistência à insulina (SBD, 2017).

Assim como em países desenvolvidos, as DCNT nos países em desenvolvimento vêm crescendo (BRASIL, 2008). De acordo com OMS, 2005, tais enfermidades associadas à pobreza impactam a população de renda média e baixa, e são responsáveis em gerar um custo elevado, tanto para as famílias como para o sistema de saúde e a sociedade, que são decorrentes de internações, medicamentos necessários para o seu controle e tratamentos ambulatoriais (OMS, 2005). Em sua maioria, as mortes causadas por tais doenças poderiam ser evitadas, prevenindo-se em até 80% as doenças coronárias, derrames e DM2 ao evitar as condições que às predis põem, como o uso do tabaco, a alimentação inadequada, o sedentarismo e a prejudicial ingestão de bebida alcoólica (MACINKO; DOURADO; GUANAIS, 2011).

O acesso limitado aos serviços de saúde com qualidade para permitir a prevenção às doenças e o seu diagnóstico, bem como a dificuldade de acesso aos medicamentos essenciais a evitá-los são considerados fatores que fazem aumentar as DCNT (MACINKO; DOURADO; GUANAIS, 2011). Com o intuito de incluir o Brasil no comprometimento com essas doenças, um plano de ações estratégicas para o seu enfrentamento foi estruturado, resultante de um estudo feito por diversos setores compreendendo o período 2011 a 2022, que traz o eixo para as ações e os investimentos necessários para o seu enfrentamento e controle, quanto aos fatores de risco que predis põem a essas doenças (MALTA et al., 2014).

O plano focado às DCNT sustenta ações de prevenção e controle, necessitando da articulação e de suporte dos setores, tanto do governo, da sociedade civil e do setor privado, com o intuito de controlar a epidemia causada por essas doenças (MALTA et al., 2014). Baseado nisso, o Ministério da Saúde tem procurado incluir questões dispostas a controlar as DCNT em diversas políticas e programas de saúde inseridos nos últimos anos; e também o Plano de Reorganização da Atenção à Hipertensão e/ou DM como linhas de cuidado, com início na atenção básica e supervisionando o paciente nas ações de média e alta complexidade (BRASIL, 2008).

A atenção básica propõe também mudanças de hábitos alimentares, bem como a prática de atividade física, um acompanhamento clínico sistemático e o acesso aos medicamentos prescritos. Além disso, requer manter sob controle os níveis de pressão arterial e glicemia, incluindo também a atenção especializada com capacidade para resoluções efetivas a possíveis complicações, procurando evitar a incapacidade e a morte precoce desses indivíduos (BRASIL, 2008).

De acordo com Macinko, Dourado e Guanais (2011), para reduzir as DCNT da população torna-se necessário uma ampla abordagem associada aos seus fatores de risco. Os autores complementam que nessas intervenções se incluam políticas públicas voltadas à prevenção primária, diminuindo os índices de tabagismo, regulamentando o uso de bebidas alcoólicas, incentivando a população a uma dieta que vise a redução de sal e gorduras trans nos alimentos, bem como intervindo na saúde pública, promovendo uma alimentação saudável, incentivando as atividades físicas, ainda intervindo na atenção primária por meio de triagem e tratamento precoce na população, com terapias multidrogas para controlar os fatores de risco.

As internações hospitalares por Condições Sensíveis à Atenção Primária (CSAP) compreendem as que poderiam ser evitadas por intermédio de uma assistência oportuna e voltadas ao seu controle. O CSAP originou-se em 2008 por meio da lista nacional destas condições, compreendendo 19 grupos de causas, e destas, as DCNT ocupam 7 grupos (SANTOS et al., 2013).

Com o propósito de atuar tanto na prevenção quanto no controle das DCNT, tem-se como conduta a avaliação por meio de testes bioquímicos os índices de: colesterol total (CT) tendo como nível ideal abaixo de 190 mg/dL, o *High Density Lipoproteins* (HDL) superior a 40 mg/dL e o *Low Density Lipoproteins* (LDL) conforme a categoria de risco cardiovascular: baixo <130 mg/dL, intermediário <100 mg/dL, alto <70 mg/dL e muito alto <50 mg/dL. Tais níveis não requerem um jejum alimentar previamente a suas coletas. Já os triglicerídeos podem ser mensurados por um jejum de 12 horas, tendo como valor de referência <150 mg/dL e também

avaliados sem um período de jejum, desejável em <175 mg/dL. O colesterol LDL pode ser estimado pela fórmula de Friedwald $LDL-c = CT - HDL-c - TG/5$; o cálculo é utilizado para valores de TG menores que 400 mg/dL (FALUDI et al., 2017).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (2017) os valores de referência de glicose respeitando um período de jejum alimentar de 8 horas, compreendem: glicemia normal: de 70 mg/dL até 99 mg/dL; e o critério de pré-diabetes ou risco aumentado para o diabetes entre 100 a 125 mg/dL. Para conceituar que o paciente é diabético, o nível de glicemia deve ser maior ou igual a 126 mg/dL e exames complementares, como hemoglobina glicada, devem ser realizados.

Para a avaliação do risco cardiovascular (RCV) pode-se utilizar como referência o Escore de Risco de Framingham, baseados nas seguintes variáveis: idade, gênero, tratamento para HAS, níveis de colesterol total e HDL- colesterol, além de tabagismo, presença de diabetes e o valor da pressão arterial sistólica. Essas variáveis possuem uma pontuação individual, e a quantidade total de pontos resultantes é avaliada em um percentual de risco para situações de uma ocorrência cardiovascular calculado para os próximos 10 anos, classificando-os em três categorias: baixo risco ($<10\%$), risco intermediário (entre 10% e 20%) e alto risco ($> 20\%$) (DELLA JR et al., 2016).

2.2 Saúde bucal e sua relação com DCNT

As superfícies da cavidade oral são colonizadas por uma microflora bacteriana, estando em equilíbrio com os tecidos bucais e estabelecendo assim uma homeostase; quando esta é afetada, o perfil dessa microflora altera-se aumentando a doença periodontal ou outras doenças a nível sistêmico. Além dessa contaminação bacteriana presente no meio bucal, as bactérias do biofilme dental podem também dissipar-se para outras regiões do organismo ocasionadas por uma bacteremia, podendo causar doenças sistêmicas. Para que isto não ocorra, os mesmos autores ressaltam a importância e a necessidade da prevenção e do tratamento de infecções dentárias, obtidas através de higienização pessoal e remoção profissional com regularidade do biofilme dental, condições estas fundamentais para se evitar uma contaminação oral ou sistêmica (LARSEN; FIEHNN, 2017).

Assim, também Ramesh e Neelakantan (2014) relatam que as bactérias bucais sustentadas por uma infecção podem propagar-se mediante a corrente sanguínea e dissipar-se ao organismo. Além disso, as bactérias de biofilme dentário podem atingir outras partes do corpo e propiciar

o surgimento de doenças sistêmicas. Estudos apontam uma associação entre periodontite e DM, aterosclerose e artrite reumatóide associando a esses fatores (LARSEN; FIEHN, 2017).

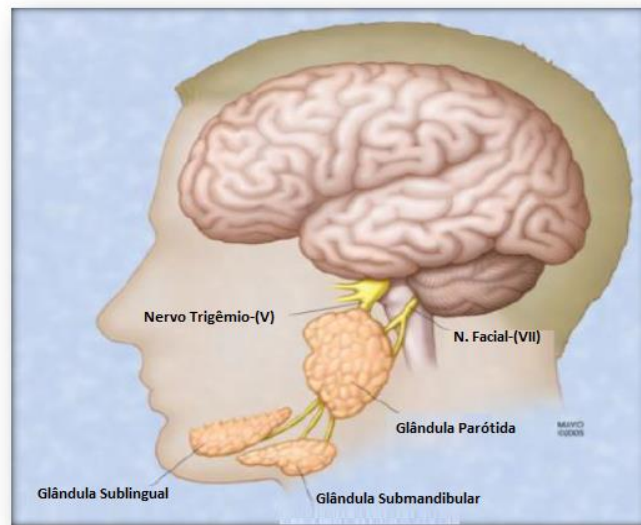
Borgnakke (2015) menciona que indivíduos pré-diabéticos avaliados clinicamente estão mais propensos a uma saúde bucal afetada relacionada ao periodonto. O autor complementa que tal fato pode levar a uma perda óssea comprovada radiograficamente, além de sintomas clínicos de ardência bucal, boca seca e a presença de sangramento gengival comparando-os com indivíduos que não apresentam alterações em seus níveis glicêmicos. Ittichaicharoen et al. (2016) apontam que a obesidade, o DM e a resistência à insulina podem gerar alguma disfunção a nível das glândulas salivares. A xerostomia torna-se um desagradável relato de pacientes com DM. Chistiakov, Orekhov e Bobryshev (2016) e alguns estudos epidemiológicos lembram que a doença periodontal agrega-se ao risco da doença cardiovascular.

2.3 Fluido salivar: composição, propriedades e fisiologia

As glândulas salivares dispostas na cavidade oral secretam a saliva no meio bucal e cavidade faríngea, assumindo como principais funções a manutenção da integridade da mucosa oral, a prevenção de infecções orais, além de estimular o apetite. As células acinares contidas nessas glândulas são as unidades que sintetizam e secretam proteínas. A saliva compõe-se basicamente de 99% de água e 1% de proteínas e sua atividade é regulada pelas inervações simpáticas e parassimpáticas (FARINHA, 2015).

A saliva é formada por um fluido biológico sendo secretada por glândulas maiores, essas compostas por três pares de glândulas: parótidas, submandibulares e as glândulas sublinguais (Figura 2). Em relação às glândulas menores, essas são constituídas por centenas de glândulas acessórias distribuídas na língua, palato e mucosas orais (ZOLOTUKHIN, 2013).

Figura 2 - Localização das glândulas salivares



Fonte: Adaptado de YOSHIZAWA et al., 2013.

A saliva humana possui uma aparência clara com pH parcialmente ácido (pH 6,0 – 7,0), 99% constituída de água e 1% de proteínas e substâncias inorgânicas, sendo que um indivíduo produz diariamente de 1L-1,5L, uma produção de 0,3-0,7mL de saliva por minuto (WONG; GARON; LEE, 2010; YOSHIZAWA et al., 2013). Abrange uma versatilidade de funções: atua na fisiologia do sistema digestivo facilitando a digestão, na deglutição, degustação e lubrificação, permitindo os movimentos labiais e linguais, bem como protege mucosas e tecidos da invasão de certas substâncias e fortalecendo o organismo frente a bactérias patogênicas (MOURA et al., 2007; YOSHIZAWA et al., 2013).

2.4 Saliva como meio diagnóstico para doenças

A saliva pode ser empregada para o desenvolvimento de biomarcadores com promissoras aplicações clínicas, tornando-se altamente desejável para aliviar o desconforto das técnicas convencionais de coleta, disponibilizando assim um método diagnóstico não invasivo (ZHANG et al., 2014). A saliva contém uma variedade de enzimas, hormônios, anticorpos, citocinas e constituintes antimicrobianos; essas substâncias encontradas no sangue se interligam com o fluxo salivar por vias de transporte entre esses dois fluidos, através de difusão passiva, ultrafiltração pelas glândulas salivares e transporte ativo pelo sulco gengival (SPILLMAN; WONG, 2012).

Diagnosticar precocemente a doença no indivíduo assegura o seu tratamento, e muitas vezes a cura ou a sua sobrevivência. Os biomarcadores presentes no fluido salivar refletem tanto o estado normal como o patológico em enfermidades. A saliva é composta por cerca de 2.000 proteínas e 26% aproximadamente dessas encontram-se também no sangue; em função disso a saliva está no campo do desenvolvimento de confiáveis biomarcadores (CAMPUZANO; YÁNEZ-SEDEÑO; PINGARRÓN, 2016). No entanto Chen et al. (2015) acrescenta que alguns biomarcadores salivares requerem uma maior especificidade e sensibilidade na prevenção de algumas doenças.

Biomarcadores conceituam-se como indicadores que detectam num meio biológico o seu estado normal ou patológico, podendo ser úteis na avaliação de seu diagnóstico clínico, na terapia da doença, bem como na estratificação de riscos e para o desenvolvimento de medicamentos (GEELYN et al., 2017). Tais biomarcadores podem ser identificados como células, moléculas, ácido ribonucleico (RNA) e ácido desoxirribonucleico (DNA), além de outras moléculas proteicas (FARINHA, 2015).

Para Yoshizawa et al. (2013) e Zhang et al. (2014), o sangue ainda é a fonte mais tradicional como referência para obtenção de biomarcadores; porém, frequentemente uma coleta sanguínea torna-se economicamente desfavorável, podendo gerar problemas e traumas para os pacientes. Citam que mais estudos são necessários para comprovar e mensurar o diagnóstico salivar por meio de seus potenciais biomarcadores, pois os fluidos presentes no sangue também encontram-se na saliva, porém em menor concentração. Destaca-se que a busca para utilizar a saliva como técnica alternativa ao diagnóstico sanguíneo deve ser explorada, em função de haver uma correlação entre a saliva e os componentes sanguíneos, permitindo assim uma ligação molecular entre esses fluidos.

O diagnóstico de doenças sistêmicas e orais através do fluido salivar traz inúmeras vantagens em sua utilização para testes laboratoriais devido a sua disponibilidade, por se tratar de um método não invasivo e de simples coleta, além de ter um baixo custo e seu armazenamento ser de caráter facilitado. O método de diagnóstico salivar utilizado para supervisionar tanto o estado de saúde como de doença do ser humano é muito bem aceito para a área da promoção da saúde, e a tecnologia vem aprimorando os procedimentos relacionados a sua especificidade. A única desvantagem do seu uso como meio de diagnóstico recai no fato de que a saliva possui níveis mais baixos relacionados a concentrações de seus marcadores biológicos, se comparado ao plasma sanguíneo (LIMA et al., 2010).

A proteína lisozima é um biomarcador derivado de neutrófilos e secretada na saliva, podendo diagnosticar infecções orais e hiperglicemia e com uma relevante associação com a

hipertensão (MALAMUD, 2012; QVARNSTROM et al., 2010). Segundo Foley et al. (2012) e Zheng et al. (2014), os biomarcadores encontrados no sangue e associados à aterosclerose também foram descobertos através do fluido salivar.

A glicose é relatada por alguns autores como uma molécula de pequena dimensão, permitindo assim a sua presença na saliva, especificamente em casos de níveis elevados de glicose no sangue. Alguns estudos elucidam que os níveis de glicose salivar assemelham-se aos níveis de glicose sanguíneo, tornando possível a saliva validar um meio de diagnóstico para o diabetes; sendo assim, mais estudos estão sendo delineados para o seu reconhecimento (BALAN et al., 2014; SATISH et al., 2014).

Um estudo foi realizado por Balan et al. (2014), tendo como objetivo uma análise comparativa da concentração de glicose tanto a nível do fluido salivar quanto sanguíneo em indivíduos portadores de DM2, detectando-se ao final dessa pesquisa a glicose na saliva, tanto em pacientes diabéticos como não diabéticos. Concluiu que os níveis de glicose salivar foram consideravelmente maiores para o grupo dos diabéticos, apresentando também uma significativa correlação existente entre as concentrações de glicose sanguínea e glicose salivar ao grupo de diabéticos.

Centros dos Estados Unidos que previnem e controlam doenças têm utilizado o teste salivar para detectar o resultado do HIV em 20 minutos. A hepatite, doença responsável por um processo inflamatório no fígado e com etiologia viral igualmente pode ser diagnosticada pela saliva. Ao detectar DNA humano na saliva inclui-se também para a área forense, por esta apresentar-se em muitas áreas de crimes violentos, como marcas de mordida, selos e outros objetos. As substâncias líquidas, por intermédio de drogas ilícitas e farmacêuticas associadas com a saliva permitem a sua utilização e o monitoramento dos níveis de drogas legais (LIMA et al., 2010). Relacionando a saliva com as doenças infecciosas virais, Warrener et al. (2011) aponta que a rubéola também pode ser diagnosticada pelo fluido salivar.

2.5 Espectroscopia de absorção molecular no infravermelho com transformada de Fourier para diagnóstico clínico

A radiação infravermelha foi descoberta no ano de 1800 por William Herschel e amplamente estudada nos campos da química e da física, sendo empregada como análise para determinar e quantificar diversos compostos de inúmeros e diferentes tipos de amostras (PEREZ-GUAITA; GARRIGUES; GUARDIA, 2014). Alguns autores em conformidade apontam a aplicabilidade da espectroscopia de infravermelho além da área biomédica, tomando

como exemplo as áreas da indústria de alimentos (GÓMEZ-DE-ANDA et al., 2012), na segurança do consumidor (TREVISAN et al., 2010; AHMADZAI et al., 2012), incluindo a área de toxicologia ambiental (LLABJANI et al., 2012).

O método analítico baseado na espectroscopia do infravermelho é exposto como uma ferramenta de diagnóstico por sua facilidade de uso e agilidade na exposição de resultados, além de apresentar-se como um método confiável, com um tamanho amostral adequado e uma calibração com estabilidade que o torna viável e de boa aceitabilidade prática para quantificar diversas análises bioquímicas (SHAW; MANTSCH, 2011).

A FT-IR designa-se a analisar espécimes biológicas, utilizando diagnósticos citopatológicos, histopatológicos, dentre outros, mediante a geração de imagens espectrais. As amostragens espectroscópicas dispõem-se de três principais formas, quais sejam: por meio de transmissão, de transfusão e por reflexão total atenuada, de acordo com o tipo de amostra a ser analisada. As intensidades assinaladas pelos espectros associam-se com sua amostra e relacionam-se com a sua química e morfologia. Em decorrência disso, a escolha do tipo de substrato para tal leitura espectral deve ser considerado (BAKER et al., 2014).

A espectroscopia de infravermelho (IV) expõe uma técnica bem sucedida destinada a análises de amostras clínicas como pele, pedras urinárias, cabelo, entre outros. As vantagens da espectroscopia IV voltam-se para a obtenção de composição de fluidos e tecidos biológicos. Os espectros IV permitem uma leitura imediata do estado metabólico de uma amostra em estudo e de mudanças que estão intimamente relacionadas a sua composição, e podem emergir “marcadores espectrais” da patologia em estudo por meio de diferenças e padrões dispostos entre os espectros de amostra de controle e das patológicas, tornando os modelos de classificação baseando em espectros IV úteis para o diagnóstico de várias doenças (PEREZ-GUAITA; GARRIGUES; GUARDIA, 2014).

A FT-IR permite a obtenção de informações por intermédio da oscilação de transações vibracionais relacionado com a natureza e atributos pertencentes a moléculas de determinadas espécies. A espectroscopia de infravermelho compõe-se de nanopartículas e caracteriza-se por uma leitura vibratória interpretada de forma rápida e com precisão (LÓPEZ-LORENTE; MIZAIKOFF, 2016).

A espectroscopia de infravermelho aponta a interação da radiação infravermelha IV com a matéria a ser analisada (MIRANDA, 2008). Ao percorrer a amostra, ocorre a absorção de comprimentos de ondas específicos de IV em decorrência da presença de ligações químicas no material, remodelando o seu padrão de vibração comparando-se ao seu estado estático, e podendo vibrar sob a forma de estiramento, contração ou ainda por uma deformação angular.

Essas oscilações no padrão vibracional promovem um pico de absorção espectral e grupos funcionais diferentes contidos em uma molécula predisõem-se a absorver IV em uma mesma faixa de ondas, não dependendo das demais estruturas da molécula; contudo, podem ocorrer acoplamento entre seus movimentos (SHAW; MANTSCH, 2011).

As amostras biológicas compõem-se basicamente de proteínas, lipídios, açúcares e DNA, e estes compostos são ativos na gama IV; qualquer alteração construída na composição ou na estrutura pode ser avaliada pelas medições por IV (PEREZ-GUAITA; GARRIGUES; GUARDIA, 2014). Stuart (2004) relata que ao se fazer uma análise de espectroscopia, como resultado tem-se um gráfico mensurando a intensidade da radiação, seja em medidas de absorbância ou transmitância pelo comprimento de onda gerado, nomeado “espectro no infravermelho”.

A espectroscopia de IV possibilita a mensuração de compostos biológicos nas amostras clínicas direcionando para o diagnóstico de doenças, monitoramento clínico e pesquisa, objetivando informações evolutivas das mais diversas conjunturas dos sistemas biológicos. Essas quantificações são obtidas em centros hospitalares de países desenvolvidos, assumindo uma relevante importância no campo da pesquisa biomédica (PEREZ-GUAITA; GARRIGUES; GUARDIA, 2014). Esse aspecto também é comentado por Baker et al., 2014 que a imagem de FT-IR fornece informações sob uma esfera espacial baseada em espectros de infravermelho quimicamente específicos, propiciando uma imagem ricamente provida de dados da célula ou do tecido a qual está sendo analisada. Isso permite que uma análise de dados com múltiplas variações adicionais tornem visíveis marcadores de diagnóstico em potencial, por intermédio de uma tecnologia rápida de ser utilizada paralelamente a técnicas convencionais, tomando como exemplo a histologia.

Atualmente, a espectroscopia de IV no campo clínico tem-se estudado como uma promissora alternativa para o diagnóstico de doenças como a aterosclerose, artrite e diabetes. Esse método tem como característica ser mais prático, mais rápido e de custo mais acessível, fornecendo subsídios para aplicar em um grupo de indivíduos que dificilmente teriam acesso a este tipo de tecnologia; isso inclui a população no foco da atenção primária pois identificando as doenças crônicas não transmissíveis por meio da FT-IR por intermédio de exames diagnósticos, propõem-se mudanças nos fatores de risco e assim melhorando a qualidade de vida da população (SCOTT et al., 2010).

2.6 Interdisciplinaridade na promoção da saúde

A interdisciplinaridade surge no Brasil em meados dos anos 1960 (TRINDADE, 2008), com o propósito de articular conhecimentos, colaborando tanto para seu avanço como para a resolução de condutas práticas. As experiências interdisciplinares inseridas em projetos de pesquisa relatam dificuldades ao coordenar e organizar tais projetos e apresentam como solução a incorporação de técnicas inovadoras em seu funcionamento (CÂNDIDO, 2011).

Kern et al. (2011) descrevem a interdisciplinaridade com três principais barreiras: as estruturais, tidas como menos complexas, incluindo as culturais, sendo essas as mais difíceis de atingir e as cognitivas. A interdisciplinaridade oportuniza o gerenciamento de um determinado problema, engajando-o sob vários olhares e acrescentando as mais distintas perspectivas disciplinares.

De acordo com (BRASIL, 2010), a interdisciplinaridade compreende a afinidade de duas ou mais áreas do conhecimento inseridas em classes distintas e favorecendo o progresso da tecnologia e da ciência, gerando uma simbiose de métodos entre ambas. Sendo assim, oportuniza o surgimento de novos conhecimentos ou disciplinas, fazendo emergir um novo profissional com um perfil diferenciado dos demais e agregando a esse uma formação bem solidificada em suas bases (KERN et al., 2011). Com esse propósito, Jorge Almeida Guimarães (Presidente da Capes) sustenta que, para isso, torna-se necessário o apoio institucional objetivando o desenvolvimento de projetos de pesquisa inserido na produção do conhecimento (GUIMARÃES, 2011).

A interdisciplinaridade se constrói pela articulação dos distintos trabalhos de profissionais nela inseridas. É necessário respeitar o conhecimento de todas as classes envolvidas sem que existam hierarquias entre os grupos, assumindo para isso, uma postura de equipe integrada e engajados em um contexto multiprofissional (RAYNAUT, 2011). O trabalho em conjunto associado à prática interdisciplinar deve estar focado na organização das atividades dos esforços, requerendo uma equipe multiprofissional, participativa, estabelecendo assim boas relações interpessoais (RAYNAUT; ZANONI, 2011).

O presente trabalho abrange um estudo de ordem interdisciplinar, compreendendo uma equipe multidisciplinar constituída de médico, dentista, técnico de enfermagem e bolsistas de pesquisa envolvidos no projeto; esses profissionais tendem a atuar em conjunto desenvolvendo as atividades previstas em todas as etapas do estudo. As atividades interdisciplinares previstas incluem: palestra instrutiva e motivacional sobre o tema abordado, a coleta de material

biológico com os sujeitos, bem como análises de processamento dos dados das coletas que abrangem esse estudo.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver e aplicar métodos de quantificação de glicose salivar por FT-IR, tendo como referência o método de espectroscopia de absorção molecular no UV/Visível.

3.2 Objetivos específicos

- a) Desenvolver a padronização da coleta e do processamento de saliva para análises por FT-IR para estudos populacionais;
- b) Avaliar o perfil glico-lipídico sanguíneo e salivar da amostra de indivíduos que participarão do estudo;
- c) Avaliar o perfil de impressões digitais metabólicas espectroscópicas por FT-IR dos sujeitos da amostra em estudo;
- d) Avaliar a associação entre os espectros FT-IR salivares e os respectivos valores de glicose sanguíneo e salivar;
- e) Desenvolver e validar métodos de quantificação de glicose salivar por FT-IR;
- f) Aplicar os métodos desenvolvidos para caracterizar fatores de risco dos trabalhadores rurais do projeto deste estudo.

CAPÍTULO II
ARTIGOS

ARTIGO I

**GLICOSE SALIVAR: ASSOCIAÇÃO COM PARÂMETROS GLICO-LIPÊMICOS E
QUANTIFICAÇÃO POR FT-IR EM TRABALHADORES RURAIS**

* Elaborado conforme as normas da revista *Clinica Chimica Acta*
Qualis Capes: A2
Fator de Impacto: 2.926

**GLICOSE SALIVAR: ASSOCIAÇÃO COM PARÂMETROSGLICO-LIPÊMICOS E
QUANTIFICAÇÃO POR FT-IR EM TRABALHADORES RURAIS**

Rosileidi Pappen Umpierres¹

rosileiu@unisc.br

Hildegard Hedwig Pohl²

hpohl@unisc.br

Valeriano Antonio Corbellini³

valer@unisc.br

*^{1,2,3} Programa de Pós-graduação em Promoção da Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul
(UNISC), Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.*

***Autor correspondente:** Valeriano Antonio Corbellini. Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde, sala 4207, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, Av. Independência, 2293, Santa Cruz do Sul-RS, 96815-900, Brasil. Telefone: + 55 (51) 37177603, Fax: + 55 (51) 37171855. Endereço de e-mail: valer@unisc.br

HIGH LIGHTS

- Níveis de colesterol total e colesterol HDL são maiores no sexo feminino em trabalhadores rurais;
- Glicose salivar não apresenta correlação com perfil glico-lipêmico em trabalhadores rurais;
- Níveis de glicose salivar podem ser quantificados usando espectroscopia no infravermelho associada à quimiometria.

RESUMO

Um novo método baseado em Espectroscopia de Absorção Molecular no Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) e quimiometria foi desenvolvido para a quantificação de glicose salivar usando amostras de saliva e sangue de 104 trabalhadores rurais de cinco municípios do Vale do Rio Pardo, RS, Brasil. O achado mais relevante do perfil glico-lipêmico foi a maior prevalência de níveis elevados de colesterol total e HDL em mulheres ($p < 0,05$). Hipertrigliceridemia também foi mais prevalente em mulheres considerando apenas os valores acima do limite máximo desejável ($1,0509 \text{ mmol.L}^{-1}$). Glicose salivar oscilou entre 0 e $0,7221 \text{ mmol.L}^{-1}$ e não apresentou correlação significativa com os parâmetros glico-lipêmicos avaliados. A análise de regressão via mínimos quadrados parciais entre os espectros salivares de 1ª derivada adquiridos pela técnica de reflectância especular (SRIFTS) e os respectivos valores de glicose salivar avaliados por método enzimático originaram um modelo quimiométrico com boa qualidade preditiva (RMSECV=0,0007; RMSEP = 0,0009, $R^2=0,999990$, $p < 0,0001$). Portanto, conclui-se que a utilização de glicose salivar não se mostra como um biomarcador adequado para avaliar perfil glico-lipêmico em trabalhadores rurais. Por outro lado, pode ser estimada com facilidade por FT-IR usando método quimiométrico.

Palavras-chave: FT-IR, saliva, perfil glico-lipêmico, glicose salivar, quimiometria.

ABSTRACT

A new method based on Fourier Transform Infrared Molecular Absorption Spectroscopy (FT-IR) and chemometrics was developed for the quantification of salivary glucose using saliva and blood samples from 104 rural workers from five municipalities of Rio Pardo Valley, RS, Brazil. The most relevant finding of the glyco-lipemic profile was the higher prevalence of elevated levels of total cholesterol and HDL in women ($p < 0.05$). Hypertriglyceridemia was also more prevalent in women considering only values above the desirable maximum limit ($1.0509 \text{ mmol.L}^{-1}$). Salivary glucose ranged from 0 to $0.7221 \text{ mmol.L}^{-1}$ and showed no significant correlation with the glyco-lipemic parameters evaluated. Partial least squares regression analysis between the first derivative salivary spectra acquired by the (SRIFTS) Specular Reflect technique and the respective salivary glucose values assessed by the enzymatic method gave rise to a chemometric model with good predictive quality (RMSECV=0,0007; RMSEP = 0,0009, $R^2=0,999990$, $p < 0.0001$). Therefore, it is concluded that the use of salivary glucose does not appear as a suitable biomarker to evaluate glyco-lipemic profile in rural workers. On the other hand, it can be easily estimated by FT-IR using a chemometric method.

Keywords: FT-IR, saliva, glyco-lipemic profile, salivary glucose, chemometrics.

Tabela 1 - Médias e desvio padrão dos parâmetros glico-lipêmicos e glicose salivar de 104 trabalhadores rurais.

Variáveis	Masculino (N = 52) \bar{x} (DP)	Feminino (N = 52) \bar{x} (DP)	Total (N = 104) \bar{x} (DP)	ρ (p)
Idade	50,6 (12,9)	50,4 (11,4)	50,5 (12,1)	
GLI-S (mmol.L ⁻¹)	0,0993(0,0945)	0,0723(0,1056)	0,0723 (0,1008)	
GLI-B (mmol.L ⁻¹)	5,3598(0,6283)	5,7546(2,5816)	5,5600(1,8682)	0,0815(0,411)
Normal (< 5,56)	69,2%	78,8%	74,0%	
Tolerância diminuída (5,56-7,01)	26,9%	15,4%	21,2%	
Diabetes mellitus (>7,01)	3,9%	5,8%	4,8%	
TAG (mmol.L ⁻¹)	1,3583(0,4904)	1,5910(0,8656)	1,4747(0,7096)	-
Desejável (<1,695)	76,9%	75,0%	76,0%	0,0469(0,636)
Limítrofe (1,695-2,26)	19,2%	13,5%	16,3%	
Alto (2,26-5,64)	3,9%	11,5%	7,7%	
CT (mmol.L ⁻¹)	5,8344(1,1492)*	6,253(1,0868)*	6,045(1,1336)	-
Desejável (< 5,2)	28,8%	21,2%	25,0%	0,0069(0,945)
Limítrofe (5,20-6,21)	38,5%	25,0%	31,7%	
Alto (≥6,21)	32,7%	53,8%	43,3%	
HDL (mmol.L ⁻¹)	1,456(0,2704)*	1,6094(0,2652)*	1,5314(0,2782)	0,0582(0,557)
Baixo (<1,04)	1,9%	-	1,0%	
Intermediário (1,04-1,56)	69,2%	46,2%	57,7%	
Desejável (> 1,56)	28,9%	53,8%	41,3%	
LDL (mmol.L ⁻¹)	3,7336(1,014)	3,9135(1,0244)	3,822(1,0166)	-
Ótimo (<2,60)	9,6%	9,6%	9,6%	0,0286(0,773)
Desejável (2,60-3,35)	28,8%	21,2%	25,0%	
Limítrofe (3,35-4,13)	30,8%	30,8%	30,8%	
Alto (4,13-4,91)	19,2%	19,2%	19,2%	
Muito Alto (> 4,91)	11,6%	19,2%	15,4%	

\bar{x} = média; DP = Desvio Padrão; GLI-S = glicose salivar; GLI-B = glicemia; TAG = triacilgliceróis; CT: colesterol total; HDL = colesterol HDL; LDL = colesterol LDL. * = p < 0,05 (Mann-Whitney); ρ = coeficiente de correlação de postos de Spearman. 1 mol.L⁻¹ de glicose = 17,99 mg.dL⁻¹; 1 mol.L⁻¹ de colesterol = 38,46 mg.dl; 1 mol.L⁻¹ de triacilglicerol = 88,5 mg.dL⁻¹.

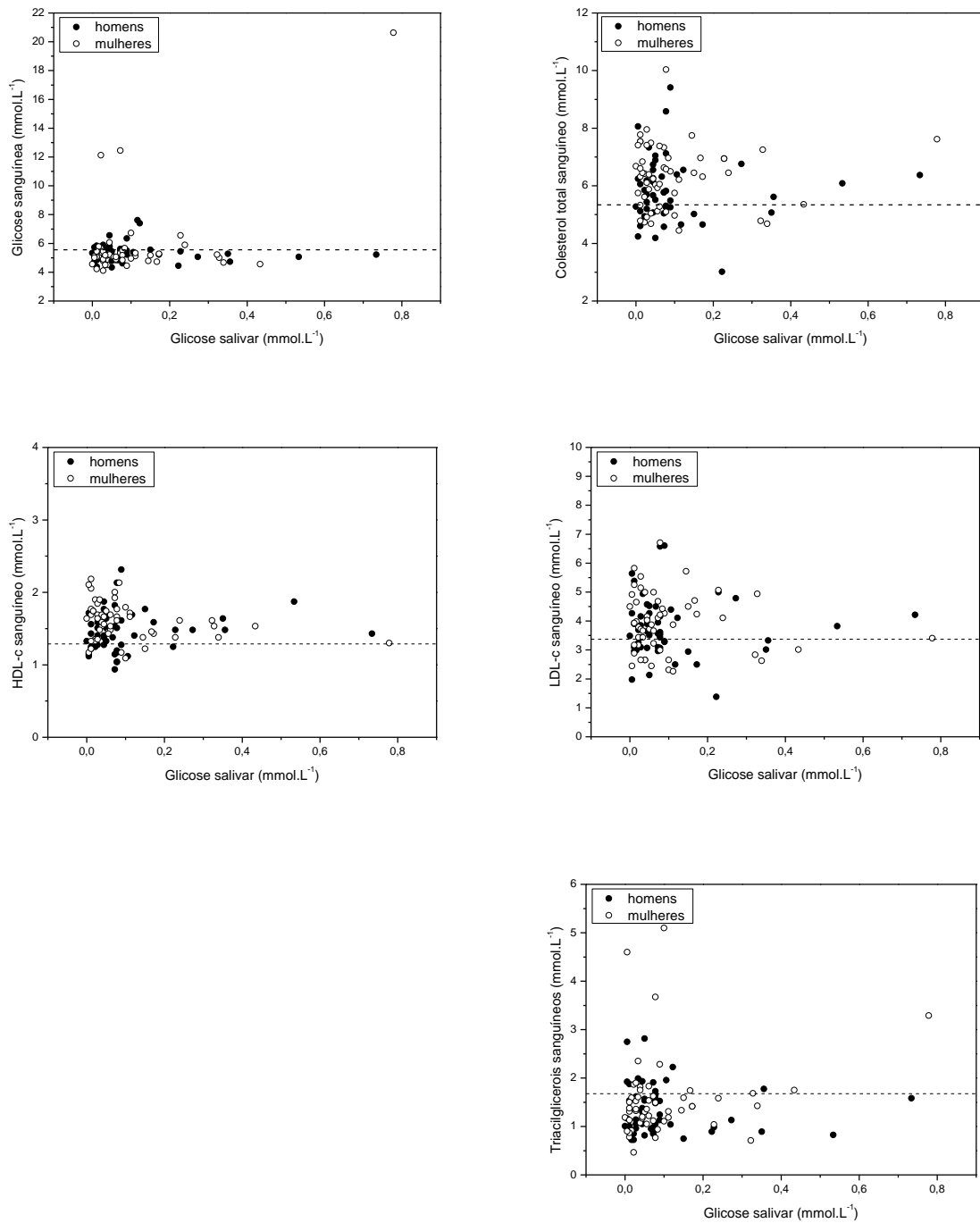


Figura 1 - Distribuição de parâmetros glico-lipêmicos de trabalhadores masculinos e femininos em função da glicose salivar. Linha pontilhada indica limite superior desejável para cada parâmetro.

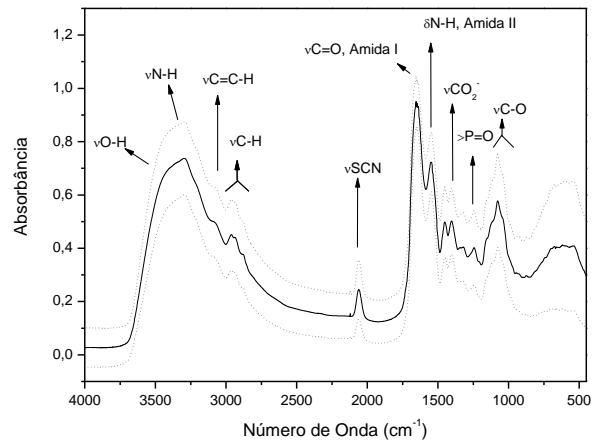


Figura 2 - Espectro médio FT-IR salivar de 104 trabalhadores rurais. Setas indicam as atribuições das principais bandas de absorção. Linhas pontilhadas representam limite inferior e superior de média \pm desvio padrão.

Tabela 2 - Figuras de mérito do modelo PLS de predição de glicose salivar por SRIFTS.

Conjunto	VL	Variância (%)	RMSECV		R^2	R_r	RSD (%)	Faixa de validação (mmol.L ⁻¹)
			RMSEP (mmol.L ⁻¹)					
CC	3	87,36	0,0008		0,999990	-0,5931	0,78	0-0,7784
CP		87,99	0,0009		0,999991	-0,6769	0,90	

CC = conjunto de calibração; CP = conjunto de predição; VL = número de variáveis latentes; RMSECV = erro quadrático médio de validação cruzada; RMSEP = erro quadrático médio de predição. R^2 = coeficiente de determinação de validação cruzada com mútua exclusão de 1 por vez. R_r = coeficiente de correlação de resíduos; RSD = Desvio padrão relativo.

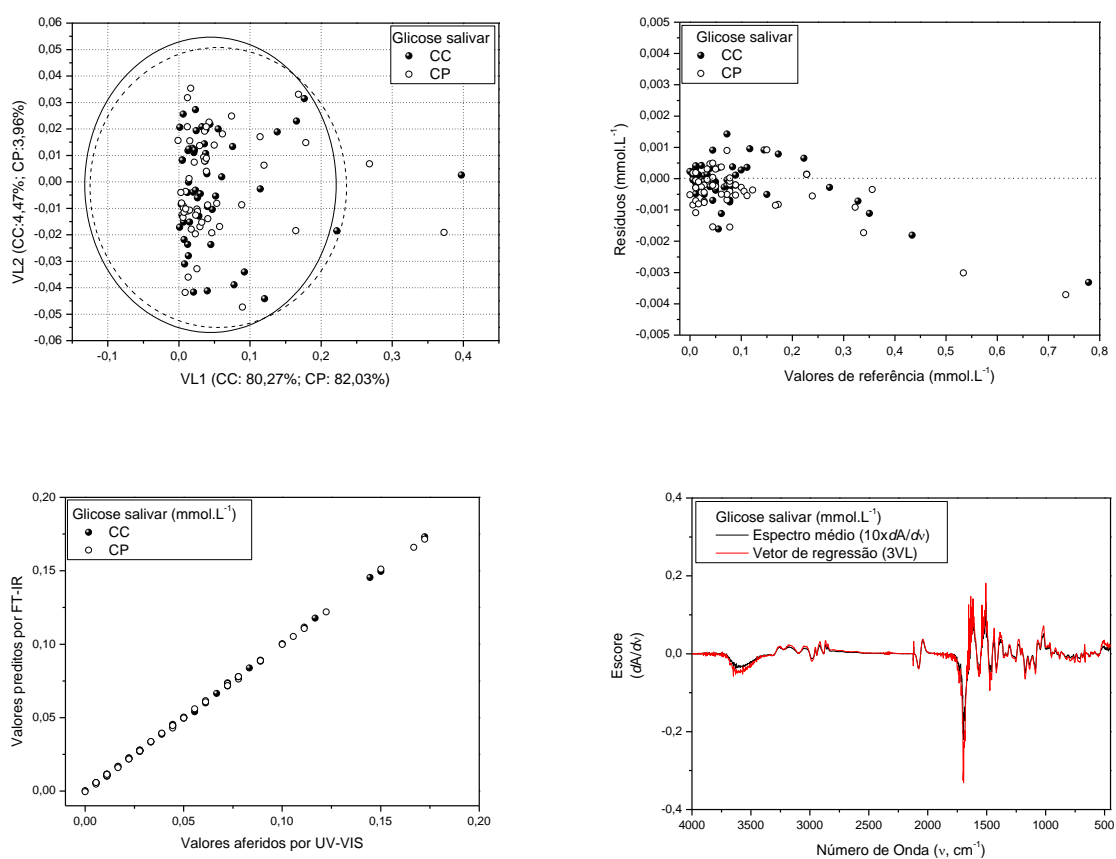


Figura 3 - Distribuição VL1xVL2 de elementos, correlação de resíduos, curva de predição e vetor de regressão para o modelo PLS Glicose salivar/SRIFTS e respectivos gráficos de predição da amostra investigada.

8. REFERÊNCIAS

- [1] D.A. Silva, M.S. Felisbino-Mendes, A.M. Pimenta, A. Gazzinelli, G. Kac, G. Velásquez-Meléndez, Distúrbios metabólicos e adiposidade em uma população rural, *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 52 (2008) 489-498.
- [2] J.P.L. Moreira, B.L.C.A. Oliveira, C.D. Muzi, C.L.F. Cunha, A.S. Brito, R.R. Luiz, A saúde dos trabalhadores da atividade rural no Brasil, *Cad. Saúde Públ.* 31 (2015) 1698-1708.
- [3] Z.Y. Lu, N.S. Zhong, *Internal Medicine*, People's Medical Publishing House, Beijing, 2008.
- [4] B.N.V.S. Satish, P. Srikala, B. Maharudrappa, S.M Awanti, P. Kumar, D.H. Saliva, A tool in assessing glucose levels in Diabetes Mellitus, *Journal of International Oral Health.* 6 (2014) 114-117.
- [5] Sociedade Brasileira de Diabetes, *Conduta Terapêutica no Diabetes Tipo 2 – Algoritmo SBD 2017, Posicionamento Oficial SBD nº 02/2017.*
- [6] M. Srinivasan, C. Blackburn, M. Mohamed, A.V. Sivagami, J. Blum, Literature-based discovery of salivary biomarkers for type 2 Diabetes Mellitus, *Biomarker Insights.* 10 (2015) 39-45.
- [7] E. Papacosta, G.P. Nassis, Saliva as a tool for monitoring steroid, peptide and immune markers in sport and exercise science, *Journal of Science and Medicine in Sport.* 14 (2011) 424-434.
- [8] T. Pfaffe, J. Cooper-White, P. Beyerlein, K. Kostner, C. Punyadeera, Diagnostic potential of saliva: current state and future applications, *Clinical Chemistry.* 57 (2011) 675-687.
- [9] P. Denny, F.K. Hagen, M. Hardt, L. Liao, W. Yan, M. Arellanno, The proteomes of human parotid and submandibular/sublingual gland saliva collected as the ductal secretions, *J. Proteome Res.* 7 (2008) 1994-2006.
- [10] S. Marti-Alamo, A. Mancheno-Franch, C. Marzal-Gamarra, L. Carlos-Fauel, Saliva as a diagnostic fluid, Literature review, *J. Clin. Exp. Dent.* 4 (2012) 237-43.
- [11] S. Singh, V. Ramesh, N. Oza, P.D. Balamurali, K.V. Prashad, P. Balakrishnan, Evaluation of serum and salivary lipid profile: a correlative study, *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology.* 18 (2014) 4-8.
- [12] N.H. Al-Rawi, Oxidative stress, antioxidant status and lipid profile in the saliva of type 2 diabetics, *Diab. Vasc. Dis. Res.* 8 (2011) 22-8.
- [13] L.A. Nunes, S. Mussavira, O.S. Bindhu, Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review, *Biochem. Med.* 25 (2015) 177-92.
<http://dx.doi.org/10.11613/BM.2015.018>.
- [14] E. Ganowicz, Salivary diagnostics - Diseases of the oral cavity, *Dent. Med. Prob.* 48 (2011) 421-30.

- [15] S. Khaustova, M. Shkurnikov, E. Tonevitsky, V. Artyushenko, A. Tonevitsky, Noninvasive biochemical monitoring of physiological stress by Fourier transform infrared saliva spectroscopy, *Analyst*. 135 (2010) 3183-92.
- [16] A.R. Khaskheli, S.T. Sherazi, S.A. Mahesar, A.A. Kandhro, N.H. Kalwar, M.A. Mallah, Estimation of ibuprofen in urine and tablet formulations by transmission Fourier Transform infrared spectroscopy by partial least square. *Spectrochimica Acta. Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 7 (2013) 403-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2012.10.021>.
- [17] C.S. Carvalho, L.E.C. Andrade, S.P. Keusseyan, J.L. Rangel, J. Ferreira-Strixino, A.A. Martin, L.J. Raniero, Study of advanced rheumatoid arthritis, *Brazilian Journal of Biomedical Engineering*. 30 (2014) 54-63.
- [18] D.A. Scott, D.E. Renaud, S. Krishnasamy, P. Meric, N. Buduneli, S. Cetinkalp, K.Z. Liu. Diabetes-related molecular signatures in infrared spectra of human saliva, *Diabetol. Metab. Syndr.* 2 (2010) 48.
- [19] K.M. Hans, S. Müller, M.W. Sigrist, Infrared attenuated total reflection (IR-ATR) spectroscopy for detecting drugs in human saliva, *Drug Test. Anal.* 4 (2012) 420-429.
- [20] J.J.W. Mikkonen¹, J. Raittila, L. Rieppo, R. Lappalainen, A.M. Kullaa, S. Myllymaa, Fourier transform infrared spectroscopy and photoacoustic spectroscopy for saliva analysis, *Applied Spectroscopy*. 70 (2016) 1502-1510.
- [21] A.A. Faludi, M.C.O. Izar, J.F.K. Saraiva, A.P.M. Chacra, H.T. Bianco, A. Afiune Neto, Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose – 2017, *Arq. Bras. Cardiol.* 109 (2017) 1-76.
- [22] ASTM. Annual Book of ASTM Standards, Standards Practices for Infrared, Multivariate, Quantitative Analysis, ASTM International E1655-05, West Conshohocken, Pennsylvania, USA, 2005.
- [23] P.C. Caetano Júnior, J.F. Strixino, L. Raniero, Analysis of saliva by Fourier transform infrared spectroscopy for diagnosis of physiological stress in athletes, *Res. Biomed.* 31(2015) 116-124.
- [24] B.P.M. Iser, S.R. Stopa, P.S. Chueiri, C.L. Szwarcwald, D.C. Malta, H.O.C. Monteiro, B.B. Duncan, M.I. Schmidt, Prevalência de diabetes autorreferido no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional de Saúde 2013, *Epidemiol. Serv. Saúde*, 24 (2015) 305-314.
- [25] S. Kinra, L.J Bowen, T. Lyngdoh, D. Prabhakaran, K.S. Reddy, L. Ramakrishnan, R. Gupta, A.V. Bharathi, M. Vaz, A.V. Kurpad, G.D. Smith, Y. Ben-Shlomo, S. Ebrahim, Sociodemographic patterning of non-communicable disease risk factors in rural India: a cross sectional study, *BMJ*. 1 (2010) 1-9.
- [26] R.P. Agrawal, N. Sharma, M.S. Rathore, V.B. Gupta, S. Jain, V. Agarwal, S. Goyal, Noninvasive method for glucose level estimation by saliva, *J. Diabetes Metab.* 4 (2013) 1-5.

- [27] V. Kadashetti, R. Baad, N. Malik, K.M. Shivakumar, N. Vibhute, U. Belgaumi, S. Gugawad, R.C. Pramod, Glucose level estimation in Diabetes Mellitus by saliva: a bloodless revolution, *MED.* 53 (2015) 248-252.
- [28] M.S.M Soares, F.M.M.V Batista, M.J. Pimentel, I.A. Passos, Chimenos Küstner E. Determination of salivar glucose in healthy adults, *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 14 (2009) 510-13.
- [29] M.V.V. Lima-Aragão, J.J. Oliveira-Junior, M.C.G. Maciel, L.A.Silva, F.R.F. Nascimento, R.N.M. Guerra, Salivary profile in diabetic patients: biochemical and immunological evaluation, *BMC Res. Notes.* 9 (2016) 103.
- [30] R.C. Mabel, L.M. Abhinaya, Non invasive estimation of salivary glucose, salivary amylase, salivary protein and salivary PH in diabetic and non-diabetic patients - a case control study. 5 (2018) 587-592.
- [31] D. Perez-Guaita, J. Ventura-Gayete, C. Pérez-Rambla, M. Sancho-Andreu, S. Garrigues, M. de la Guardia, Protein determination in serum and whole blood by attenuated total reflectance infrared spectroscopy, *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* 404 (2012) 649-56. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-012-6030-7>.

ARTIGO II

**PADRONIZAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE PERFIL GLICO-LIPÊMICO
POR FT-IR SALIVAR**

*Elaborado conforme as normas da revista *Clinical Chemistry*
Qualis Capes: A1
Fator de Impacto: 8,6

**PADRONIZAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE PERFIL GLICO-LIPÊMICO
POR FT-IR SALIVAR**

Rosileidi P. Umpierres¹

rosileiu@unisc.br

Hildegard H. Pohl²

hpohl@unisc.br

Valeriano A. Corbellini³

valer@unisc.br

*^{1,2,3}Programa de Pós-graduação em Promoção da Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul
(UNISC), Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.*

***Autor correspondente:** Valeriano Antonio Corbellini. Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde, sala 4207, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, Av. Independência, 2293, Santa Cruz do Sul-RS, 96815-900, Brasil. Telefone: + 55 (51) 37177603, Fax: + 55 (51) 37171855, endereço de e-mail: valer@unisc.br

RESUMO

Fundamento: O perfil glico-lipêmico compreende os índices de glicose (Gli), colesterol total (CT), colesterol HDL (HDL-c), colesterol LDL (LDL-c) e triglicerídeos (TG) e sua importância se deve ao controle das doenças crônicas não transmissíveis como obesidade, diabetes e doença cardiovasculares. Estes parâmetros são comumente analisados por método enzimático automatizado a partir de coleta e processamento sanguíneo. Vários métodos baseados em espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) do sangue já foram propostos para substituir a quantificação enzimática do perfil glico-lipêmico, mas ainda necessitam da coleta sanguínea. Nosso objetivo foi inovar nesta área a partir da aplicação da FT-IR associada à quimiometria para a estimativa não invasiva do perfil glico-lipêmico através do uso do fluido salivar. **Métodos:** O estudo foi composto por uma amostra de 104 indivíduos de cinco municípios do Vale do Rio Pardo, RS-Brasil. O método proposto constituiu-se da análise de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) de fluido salivar de jejum, analisado por espectroscopia de reflectância especular no infravermelho com transformada de Fourier (SRIFTS) supervisionado pelo método enzimático (reação de Trinder). **Resultados:** Modelos PLS SRIFTS com elevada qualidade preditiva foram obtidos para todos os cinco parâmetros, usando normalização pela amplitude, 1ª derivada (5 pontos) e 2 componentes de correção de sinal ortogonal como pré-processamento. Valores de erro quadrático médio de predição (RMSEP) e desvio padrão relativo (RSD) variaram entre 0,01-0,05 mmol.L⁻¹ e 0,41-0,90% respectivamente. Os coeficientes de determinação (R²) foram maiores que 0,99. O modelo de TG apresentou o melhor desempenho, e os modelos de Gli e CT apresentaram as maiores faixas de validação: 4,11-20,63 e 3,02-10,04 mmol.L⁻¹. **Conclusão:** Os achados dessa pesquisa apontam que FT-IR salivar pode substituir a determinação enzimática do perfil glico-lipêmico. O novo método quantifica Gli, CT, HDL-c, LDL-c e TG de forma rápida, eficaz e não invasiva e facilita o diagnóstico de tais parâmetros em rotinas de atendimento clínico. **Palavras-chave:** FT-IR, perfil glico-lipêmico, quimiometria, saliva.

ABSTRACT

Background: Glyco-lipemic profile comprises glucose (Gli), total cholesterol (TC), HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triglycerides (TG) and its importance is due to the control of chronic non transmissible diseases such as obesity, diabetes and cardiovascular disease. These parameters are commonly analyzed by automated enzymatic method from blood collection and processing. Several methods based on Fourier transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) of the blood have already been proposed to replace the enzymatic quantification of the glyco-lipemic profile, but still require blood collection. Our objective was to innovate in this area from the application of FT-IR associated with chemometrics for the non-invasive estimation of the glyco-lipemic profile through the use of salivary fluid. **Methods:** The study was composed of a sample of 104 individuals from five municipalities of the Rio Pardo Valley, RS-Brazil. The proposed method consisted of the analysis of partial least squares regression (PLS) of fasting salivary fluid, analyzed by Fourier transform infrared specular spectroscopy (SRIFTS) supervised by the enzymatic method (Trinder reaction). **Results:** PLS SRIFTS models with high predictive quality were obtained for all five parameters, using amplitude normalization, 1st derivative (5 points) and 2 components of orthogonal signal corrections as preprocessing. Mean prediction error (RMSEP) and relative standard deviation (RSD) values ranged from 0.01-0.05 mmol.L⁻¹ and 0.41-0.90%, respectively. The determination coefficients (R²) were greater than 0.99. The TG model presented the best performance, and the Gli and CT models presented the highest validation ranges: 4.11-20.63 and 3.02-10.04 mmol.L⁻¹. **Conclusion:** The findings of this research indicate that salivary FT-IR may replace the enzymatic determination of the glyco-lipemic profile. The new method quantifies Gli, CT, HDL-c, HDL-c and TG in a

fast, efficient and non-invasive way and facilitates the diagnosis of such parameters in clinical care routines.

Keywords: FT-IR, glyco-lipemic profile, chemometrics, saliva.

LISTA DE ABREVIATURAS

Gli – Glicose

CT – Colesterol total

HDL-c – *High-density lipoprotein cholesterol*

LDL-c – *Low-density lipoprotein cholesterol*

TG – Triglicerídeos, triacilgliceróis

FT-IR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*

RS – Rio Grande do Sul

PLS – *Partial Least Squares*

SRIFTS – *Specular Reflectance of Infrared Fourier Transform Spectroscopy*

RMSEP – *Root Mean Square Error of Prediction*

RSD – *Relative Standard Deviation*

mmol.L – Milimol por Litro

R² – Coeficiente de determinação

DM – *Diabetes Mellitus*

mg/ dL – Miligrama por decilitro

DCV – Doença cardiovascular

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

CAAE – Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

COREDE – Conselho Regional de Desenvolvimento

CNS – Conselho Nacional de Saúde

LAFISA – Laboratório de atividade Física e Saúde

UNISC – Universidade de Santa Cruz do Sul

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

mL – Mililitro

°C – Grau Celsius

RPM – Rotação por Minuto

FT-NIR – *Fourier Transform Near Infrared*

Cm – Centímetro

LOOCV – *Leave-one out cross validation*

CC – Conjunto de calibração

CP – Conjunto de predição

ASTM – *American Society for Testing and Materials*

RMSECV – *Root Mean Square Error of Cross Validation*

R_r – Coeficiente de correlação de resíduos

VL – Variável Latente

ATR – *Attenuated Total Reflectance*

MIR – Infravermelho médio

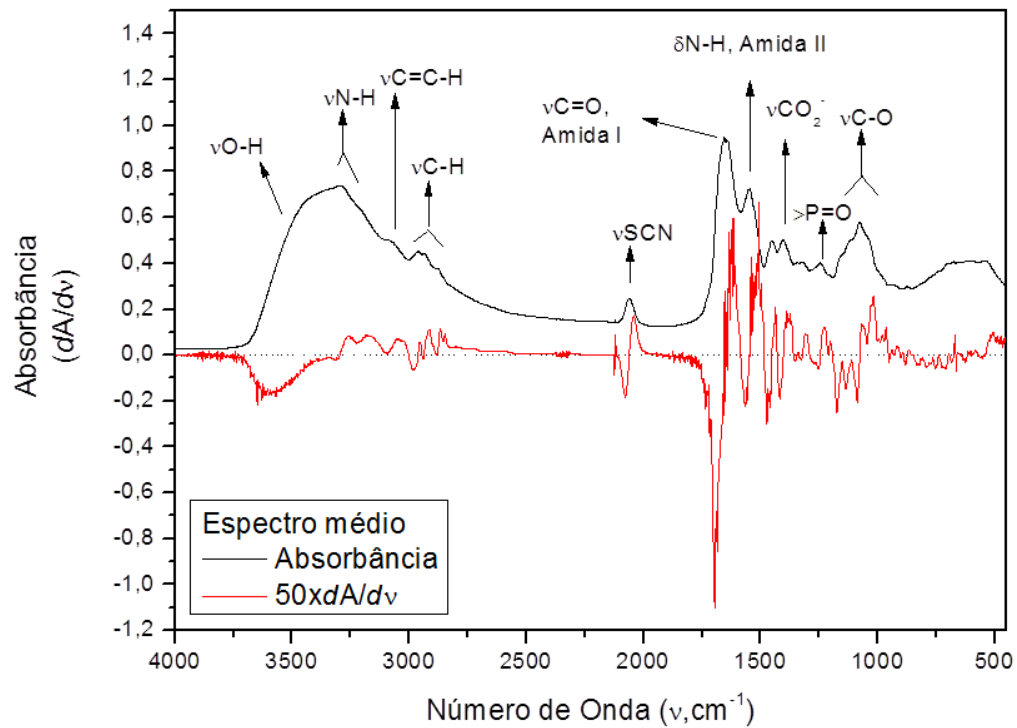


Figura 1 - Espectro médio FT-IR salivar referente à triplicata de 104 indivíduos obtidas por espectroscopia de reflectância especular. Setas indicam as atribuições das principais bandas de absorção. Em vermelho encontra-se espectro médio de 1ª derivada (amplificado 50 x) das referidas amostras.

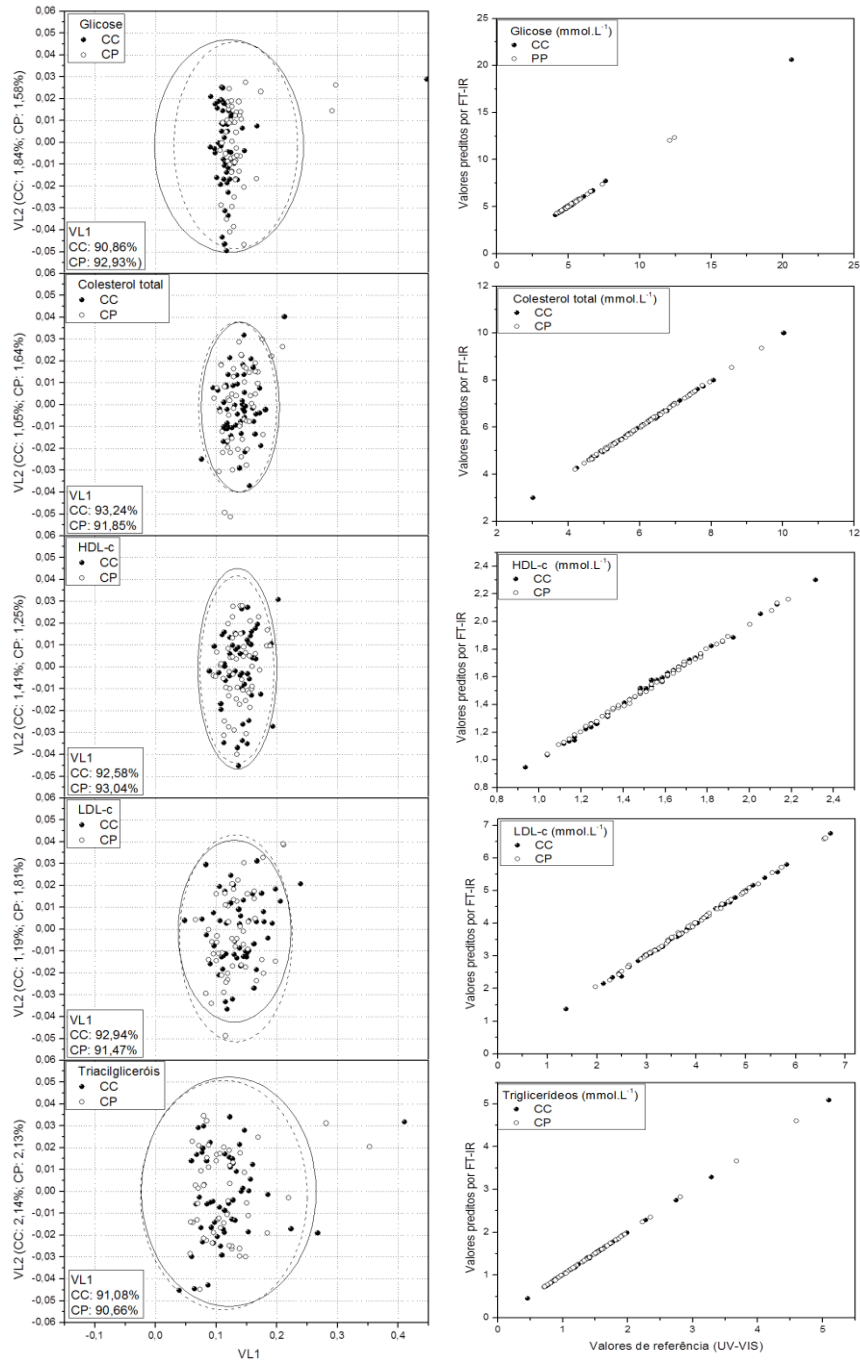


Figura 2 - Distribuição VL1xVL2 de elementos de conjuntos de calibração (CC, n = 52) e predição (CP, n = 52) e respectivos gráficos de predição de modelos PLS/FT-IR salivar de parâmetros glico-lipêmicos.

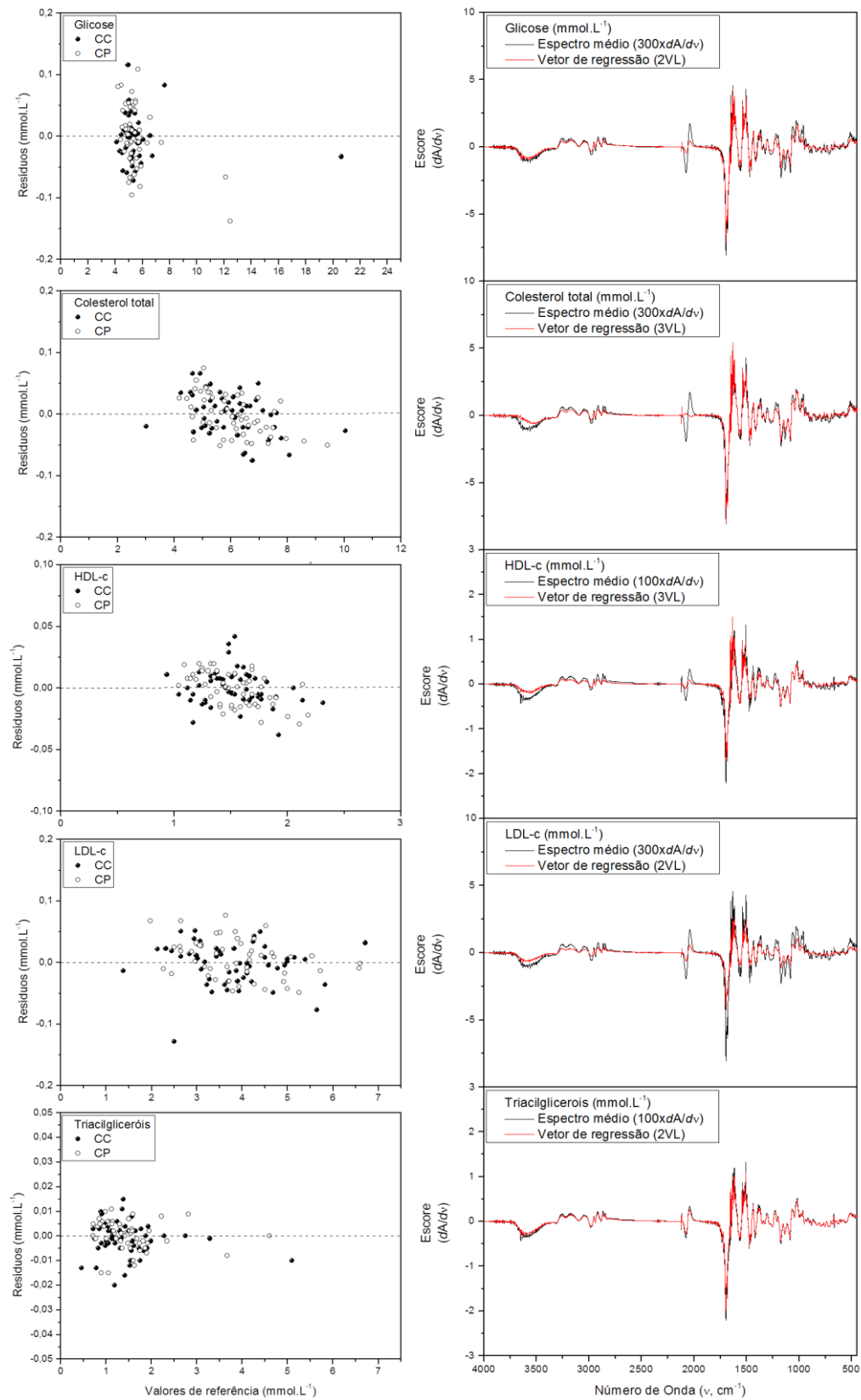


Figura 3 - Correlação de resíduos com valores de referência e vetores de regressão de modelos PLS/FT-IR salivar de parâmetros glico-lipêmicos.

Tabela 1 - Figuras de mérito dos modelos PLS de parâmetros glico-lipêmicos por FT-IR salivar.

Parâmetro	VL	Variância Acumulada (%)	RMSECV RMSEP (mmol.L ⁻¹)	R ²	R	RSD (%)	Amplitude \bar{y} (SD) (mmol.L ⁻¹)
Glicose							
CC	2	92,70	0,0360	0,999866	-0,0889	0,65	4,11-20,63
CP		94,51	0,0498	0,999514	-0,4379	0,90	5,54(1,87)
Colesterol total							
CC	3	93,17	0,0332	0,999639	-0,3629	0,55	3,02-10,04
CP		94,69	0,0314	0,999696	-0,5244	0,52	6,08(1,14)
HDL-c							
CC	3	95,11	0,0143	0,998683	-0,1808	0,94	0,94-2,31
CP		94,93	0,0135	0,999060	-0,5460	0,88	1,53(0,27)
LDL-c							
CC	2	94,13	0,0337	0,999442	-0,0766	0,89	1,38-6,71
CP		93,28	0,0321	0,999572	-0,3462	0,83	3,84(1,01)
Triacilgliceróis							
CC	2	93,22	0,0070	0,999955	-0,1375	0,48	0,46-5,10
CP		92,79	0,0060	0,999963	-0,1853	0,41	1,47(0,71)

VL = variável latente. RMSECV = erro quadrático médio de validação cruzada; RMSEP= erro quadrático médio de predição; R² = coeficiente de determinação de validação cruzada com mútua exclusão de 1 por vez. R = coeficiente de correlação entre resíduos e respectivos valores de referência; RSD = desvio padrão relativo. \bar{y} = média. SD = desvio padrão. CC= conjunto de calibração. CP = conjunto de predição. Todos os modelos foram obtidos com 2 componentes de correção de sinal ortogonal.

5. CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores informam que não há conflitos de interesse.

6. REFERÊNCIAS

1. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes; standards of medical care in diabetes – 2018. *Diab Care* 2018;41(Supl);S13-S27.
2. Zendjabil M. Biological diagnosis of diabetes mellitus. *Curr Res Transl Med* 2016;64:49-52.
3. Moriya J. Critical roles of inflammation in atherosclerosis. *J. Cardiol* 2019;73:22-27.
4. Nunes LA, Mussavira S, Bindhu OS. Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. *Biochem Med* 2015;25:177-92.
5. Yan M, Xu G. Current and future perspectives of functional metabolomics in disease studies– A review. *Anal Chim Acta*. 2018;1037:41-54.
6. Jingyi L, Yixiang D. Saliva: a potential media for disease diagnostics and monitoring. *Oral Oncol* 2012;48:569-77.
7. Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. *Clin Chem* 2011;57:675-87
8. Lima DP, Diniz DG, Moimaz SA, Sumida DH, Okamoto AC. Saliva: reflection of the body. *Int J Infect Dis* 2010;14:184-88.
9. Singh S. Evaluation of serum and salivary lipid profile: a correlative study. *J Oral Maxillofac Pathol* 2014;18:4-8.
10. Srinivasan M, Blackburn C, Mohamed M, Sivagami AV, Blum J. Literature-based discovery of salivary biomarkers for type 2 Diabetes Mellitus. *Biomarker Insights* 2015;10:39-45.
11. Shaw RA, Mantsch HH. Infrared spectroscopy in clinical and diagnostic analysis. In: Meyers RA, editor. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Chichester: Wiley, 2011:1-19.
12. Khaustova SA, Shkurnikov MU, Grebenyuk ES, Artyushenko VG, Tonevitsky AG. Assessment of biochemical characteristics of the saliva using fourier transform mid-infrared spectroscopy. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2009;148:841-42.
13. Wang LO, Mizaikoff B. Application of multivariate data-analysis techniques to biomedical diagnostics based on mid-infrared spectroscopy. *Anal Bioanal Chem* 2008;391:1641-54.
14. Bonnier F, Petitjean F, Baker MJ, Byrne HJ. Improved protocols for vibrational spectroscopic analysis of body fluids. *J Biophoton* 2014;7:167-179.

15. Bunaciu AA, Aboul-Enein HY, Fleschin S. Vibrational spectroscopy in clinical analysis. *Appl Spectrosc Rev* 2015;50:176-191.
16. Heise HM, Bittner A. Multivariate calibration for near-infrared spectroscopic assays of blood substrates in human plasma based on variable selection using PLS-regression vector choices. *Fresenius J Anal Chem* 1998;362:141-147.
17. Yao L, Lyu N, Chen J, Pan T, Yu J. Joint analyses model for total cholesterol and triglyceride in human serum with near-infrared spectroscopy. *Spectrochim Acta Pt A-Mol Bio* 2016;159:53-59.
18. Caetano Júnior PC, Strixino JF, Raniero L. Analysis of saliva by Fourier transform infrared spectroscopy for diagnosis of physiological stress in athletes. *Res Biomed* 2015;31:116-124.
19. Rodrigues LM, Magrini TD, Lima CF, Scholz J, Martinho HS, Almeida JD. Effect of smoking cessation in saliva compounds by FTIR spectroscopy. *Spectrochim. Acta Pt A-Mol Bio* 2017;174:124-29.
20. Scott DA, Renaud DE, Krishnasamy S, Meriço P, Buduneli N, Liu SC. Diabetes-related molecular signatures in infrared spectra of human saliva. *Diabetol Metab Syndr* 2010;2:48.
21. Xiang XM, Liu KZ, Man A, Ghiabi E, Cholakis A, Scott DA. Periodontitis-specific molecular signatures in gingival crevicular fluid. *J Periodont Res* 2010;45:345-52.
22. Panchbhai AS. Correlation of salivary glucose level with blood glucose level in Diabetes Mellitus. *J Oral Maxillofac Res* 2012;3:1-7.
23. Klichowska-Palonka M, Bachanek T. Salivary lipids – description and significance. *J Stoma* 2015;68:768-77.
24. Khanji, MY, van Waardhuizen, CN, Bicalho VVS, Ferket BS, Hunink MGM, Petersen SE. Lifestyle advice and interventions for cardiovascular risk reduction: A systematic review of guidelines. *Int J Cardiol* 2018;263:142-151.
25. Faludi AA, Izar MC, Saraiva JF, Chacra AP, Bianco HT, Afiune Neto A. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. *Arq Bras Cardiol* 2017;109:1-76.
26. Nordestgaard BG, Langsted A, Mora S, Kolovou G, Baum H, Bruckert E, et al. Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points-a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Eur Heart J* 2016;37:1944-58.
27. Baker MJ, Trevisan J, Bassan P, Bhargava R, Butler HJ, Dorling KM, et al. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nat Protoc* 2014;9:1771.
28. ASTM. Annual Book of ASTM Standards, Standards Practices for Infrared, Multivariate, Quantitative Analysis, ASTM International E1655-05. Pennsylvania, USA: West Conshohocken, 2005.

29. Zhigang LI, Hong LV, Tianhe LI, Guangyuan SI, QiaoyunW, Jiangtao LV, et al. Reagent-free simultaneous determination of glucose and cholesterol in whole blood by FTIR-ATR. *Spectrochim Acta Pt A-Mol Bio* 2017;178:192-97.
30. Heise HM, Marbach R, Janatsch G, Kruse-Jarres JD Multivariate determination of glucose in whole blood by attenuated total reflection infrared spectroscopy. *Anal Chem* 1989;61:2009-2015.
31. Janatsch G, Kruse-Jarres JD, Marbach R, Heise HM. Multivariate calibration for assays in clinical chemistry using attenuated total reflection infrared spectra of human blood plasma. *Anal Chem* 1989;61:2016-2023.
32. SHCOLNIK, W. Erros relacionados ao laboratório. In: SOUSA, P., and MENDES, W., orgs. *Segurança do paciente: conhecendo os riscos nas organizações de saúde* [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2014. Vol. 1, pp. 227-252. ISBN: 978-85-7541-595-5. Available from doi: 10.7476/9788575415955.013. Also available in ePUB from: <http://books.scielo.org/id/8h47w/epub/sousa-9788575415955.epub>.
33. Costa1 G, Vivaldo, Moreli L, Marcos. Principais parâmetros biológicos avaliados em erros na fase pré-analítica de laboratórios clínicos: revisão sistemática. *J Bras Patol Med Lab* 2012; v. 48; n. 3: 163-168
34. Jessen TE, Höskuldsson AT, Bjerrum PJ, Verder H, Sørensen L, Bratholm PS, et al. Simultaneous determination of glucose, triglycerides, urea, cholesterol, albumin and total protein in human plasma by Fourier transform infrared spectroscopy: direct clinical biochemistry without reagents. *Clin Biochem* 2014;47:13-14.
35. Liu K-Z, Shaw RA, Man A, Dembinski TC, Mantsch HH. Reagent-free, simultaneous determination of serum cholesterol in HDL and LDL by infrared spectroscopy. *Clin Chem* 2002;48:499-506.
36. Chen H-Z, Tang G-O, Ai W, Xu L, Cai K. Use of random forest in FTIR analysis of LDL cholesterol and tri-glycerides for hyperlipidemia. *Biotechnol Prog* 2015;31:1693-2.
37. Costa Filho PA, Poppi RJ. Determination of triglycerides in human plasma using near-infrared spectroscopy and multivariate calibration methods. *Anal Chim Acta* 2001;446:39-47.
38. Yao L, Lyu N, Chen J, Pan T, Yu J. Joint analyses model for total cholesterol and triglyceride in human serum with near-infrared spectroscopy. *Spectrochim Acta Pt A-Mol Bio* 2016;159:53-59.
39. Wang S, Zhang J, Wang C, Yu X, Cai W, Shao X. Determination of triglycerides in human serum by near-infrared diffuse reflectance spectroscopy using silver mirror as a substrate. *Chin Chem Lett* 2018;30:111-14.
40. Hoşafçi G, Klein O, Oremek G, Mäntele W. Clinical chemistry without reagents? An infrared spectroscopic technique for determination of clinically relevant constituents of body fluids. *Anal Bioanal Chem* 2007;387:1815–1822.

CAPÍTULO III
CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

- Não encontramos uma correlação entre a glicose salivar e os parâmetros glico-lipêmicos, no entanto houve uma excelente associação entre os espectros da saliva e o valor da glicose salivar;
- O diagnóstico da glicose salivar relacionando os valores de referência aos valores preditos por FT-IR indicou um valor preditivo positivo;
- O método e o modelo escolhidos para a avaliação dos parâmetros glico-lipêmicos fornecem poder preditivo superior, quantificando o espectro salivar;
- A análise espectroscópica de infravermelho de fluidos biológicos devem ser realizados com sucesso futuramente, beneficiando abordagens minimamente invasivas e de monitoramento contínuo.

CAPÍTULO IV
NOTA À IMPRENSA

**PESQUISA DO MESTRADO EM PROMOÇÃO DA SAÚDE –UNISC INDICA QUE
JÁ É POSSÍVEL QUANTIFICAR AS TAXAS SANGUÍNEAS DE GLICOSE,
COLESTEROL E TRIGLICERÍDEOS PELA SALIVA**

O Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul (PPGPS-UNISC) vem a público divulgar os resultados de uma pesquisa desenvolvida para o diagnóstico, prevenção e controle do diabetes, bem como de índices elevados de colesterol e doenças cardiovasculares, utilizando a saliva associada a um novo dispositivo para análises clínicas, através da Espectroscopia no Infravermelho (FT-IR). A pesquisa foi realizada pela mestra Rosileidi Pappen Umpierrez, orientada pelo pesquisador Dr. Valeriano A. Corbellini e coorientada pela Dra. Hildegard H. Pohl, que disponibilizou através de seu projeto: “Triagem de fatores de risco relacionados ao excesso de peso em trabalhadores da agroindústria usando novas tecnologias analíticas e de informação em saúde – Fase III”, para as análises deste estudo.

O equipamento e a infraestrutura utilizados para a pesquisa foram fornecidos pelo Curso de Química da Unisc. O método consiste em uma coleta de saliva com o indivíduo em jejum. Em seguida, a saliva é depositada sobre um dispositivo óptico sem a necessidade do uso de reagentes. O aparelho analisa a amostra e fornece o resultado do exame empregando um programa de computador. Por enquanto o novo método se encontra disponível apenas para pesquisas acadêmicas na área da saúde. Surge assim, uma proposta inédita procurando identificar e quantificar o fluido salivar com baixo custo e rapidez no diagnóstico, podendo auxiliar a saúde pública e contribuindo de forma não invasiva para as análises de glicose e do perfil lipídico.

Torna-se importante prevenir tais doenças que acometem a saúde do ponto de vista geral, reduzindo os efeitos que podem promover deficiências a exemplo do diabetes, afetando um número considerável de indivíduos, não apresentando sintomatologia e podendo gerar problemas renais, cardíacos, de visão, entre outros. E em relação ao colesterol total e aos triglicerídeos, estes níveis acima dos limites aceitáveis podem acarretar além de outras enfermidades, pressão arterial elevada, desenvolver a obesidade e problemas cardiovasculares. Assim, o fluido salivar avaliado por FT-IR pode propiciar uma melhor qualidade de vida para a população.

Matéria publicada no Jornal GAZETA DO SUL - 13 e 14 de Abril de 2019:

<http://www.gaz.com.br/conteudos/regional/2019/04/13/143762->

[pesquisadores-da-unisc-descobrem-novo-metodo-para-medir-a-glicose.html.php](http://www.gaz.com.br/conteudos/regional/2019/04/13/143762-pesquisadores-da-unisc-descobrem-novo-metodo-para-medir-a-glicose.html.php)

GERAL • 19

SÁBADO E DOMINGO, 13 E 14 DE ABRIL DE 2019 | GAZETA DO SUL

SAÚDE

Um novo método para medir a glicose

Pesquisadores da Unisc descobriram como chegar aos resultados pela análise da saliva em equipamento com luz infravermelha

Rodrigo Nascimento
rodrigo@gazetadosul.com.br

O trabalho de mestrado de Rosileidi Pappen Umpierrez poderá ser um divisor de águas no diagnóstico de problemas como excesso de glicose, colesterol e triglicérides. Problemas de saúde que são detectados hoje por meio da análise do sangue poderão ser apontados pela saliva – sem dor, sem risco de contaminação e de forma muito mais rápida. A metodologia adaptada por Rosileidi, com a supervisão dos professores Valeriano Antonio Corbellini e Hildegard Hedwig Pohl, no futuro poderá ser uma alternativa ágil na prevenção de doenças causadas por altas taxas de açú-

car e gordura no sangue.

“Todas as partes do corpo refletem a realidade dele. A saliva, assim como o sangue, apresentam relação com os mesmos parâmetros. O que nós conseguimos foi quantificar os marcadores que indicam a presença de glicose e colesterol”, revela Corbellini, orientador de Rosileidi no Mestrado em Promoção da Saúde da Unisc. O nome da técnica é Espectroscopia de Absorção Molecular no Infravermelho com Transformada de Fourier.

A proposta consiste em analisar a saliva com luz infravermelha, no espectrômetro FT-IR, equipamento capaz de avaliar qualquer tipo de material. Um programa de computador lê estas informações e dá o diagnóstico, minutos após a coleta. O professor Corbellini pesquisa a possibilidade de analisar sangue ou fluidos no equipamento desde 2007. No entanto, alerta que o método aperfeiçoado por eles não substitui as análises de sangue tradicionais, mas tem o benefício da agilidade.



Corbellini e Rosileidi: interpretação da análise da saliva é realizada no computador

APERFEIÇOAR SERVIÇOS

Rosileidi almeja deixar a sua contribuição para a qualificação da saúde. “O que nós intuímos com este trabalho é que podemos aperfeiçoar os serviços dentro da saúde pública. A finalidade é essa, a promoção da saúde, a saúde coletiva.” Rosileidi é formada em Odontologia, curso em que atua como professora na própria Unisc, agora como mestre em Promoção da Saúde. O orientador de Rosileidi conta que a iniciativa é inédita e abre portas para outras análises usando o infravermelho da FT-IR. “O software poderá realizar outros tipos de exames, como o diagnóstico de câncer de próstata, que outro professor do curso de Medicina irá testar em breve”, antecipa Corbellini.

Uso depende de aprovação da Anvisa

Mesmo chancelado pelo curso de Medicina da Universidade de Santa Cruz do Sul (Unisc), para que a análise de colesterol, triglicérides e glicose se torne uma alternativa no Sistema Único de Saúde (SUS), por exemplo, o método tem que ser validado pelo governo federal. O estudo de Rosileidi precisa ser submetido à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Para confirmar o procedimento, o governo deve promover testes em maior escala, em diferentes partes do Brasil. “A Anvisa precisa definir se o estudo pode ser usado e em qual posição ficará na escala de procedimentos e exames de diagnóstico”, explica Corbellini.

Além disso, o custo da FT-IR é alto. O equipamento usado na Unisc, no Laboratório de Infravermelho do curso de Química, custa em torno de R\$ 200 mil. “Na Europa há experimentos para baratear o processo. No futuro o equipamento poderá ser mais acessível também no Brasil”, complementa o professor.

Matéria publicada no Jornal CORREIO DO POVO - 18 de Abril de 2019:

<https://www.correiodopovo.com.br/not%C3%ADcias/cidades/pesquisadores-de-santa-cruz-do-sul-criam-m%C3%A9todo-para-diagn%C3%B3sticos-1.333722>

CORREIO DO POVO

QUINTA-FEIRA, 18 de abril de 2019 | 11

Editora assistente: Ana Lécia de Oliveira

CIDADES | REGIÃO METROPOLITANA

cidades@correiodopovo.com.br

SANTA CRUZ DO SUL

Novo método possibilita diagnósticos pela saliva

Estudo feito na Unisc aponta análises mais rápidas de problemas como excesso de glicose e colesterol

Um trabalho de mestrado na Universidade de Santa Cruz do Sul (Unisc) aponta novo método para o diagnóstico de problemas de saúde, como excesso de glicose, colesterol e triglicéridos. Anormalidades detectadas atualmente por meio da análise do sangue poderão ser encontradas na saliva, sem dor e risco de contaminação. A metodologia adaptada por Rosileidi Pappen Umpierrez, com a supervisão dos professores doutores Valeriano Antonio Corbellini e Hildegard Hedwig Pohl, poderá se tornar alternativa ágil na prevenção de doenças causadas por altas taxas de açúcar e gordura no sangue.

O método consiste na análise da saliva com luz infravermelha no espectrômetro FT-IR. Um programa de computador lê as informações e dá o diagnóstico, minutos após a coleta. O professor Corbellini pesquisa a possibilidade de analisar sangue ou fluidos no equipamento desde 2007. No entanto, ele alerta que o método aperfeiçoado na Unisc não substitui as análises de sangue tradicionais, mas tem a agilidade para



Rosileidi Umpierrez, autora do trabalho, com o supervisor Valeriano Corbellini

obter o resultado como benefício de seu uso. Um reagente químico leva até 30 minutos para identificar a avaliação no sangue. Já o método por FT-IR faz de 30 a 40 análises ao mesmo tempo.

O paciente precisa depositar apenas um pouco de saliva em um recipiente que é transportado para o equipamento. O nome da técnica é Espectroscopia de Absorção Molecular no Infravermelho com Transformada de Fourier. "O que nós conseguimos foi quantificar os marcadores que indicam a presença de glicose e colesterol", afirma Corbellini.

Apesar da validação pelo curso de Medicina da Unisc, para que a análise se torne uma alternativa no SUS, por exemplo, o método precisa ser validado pelo governo federal. A pesquisa de

Rosileidi será submetida à Agência Nacional de Vigilância Sanitária. "A Anvisa precisa definir se o estudo pode ser usado e em qual posição ficará na escala de procedimentos e exames de diagnósticos", explica o professor.

Rosileidi informa que pretende deixar a sua contribuição para a qualificação da saúde por meio do estudo de mestrado. "O que nós intuimos com este trabalho é que podemos aperfeiçoar os serviços na saúde pública", explica. Ela é formada em Odontologia, professora na Unisc e agora mestre em Promoção da Saúde. "O software poderá realizar outros tipos de exames, como o diagnóstico de câncer de próstata, que outro professor do curso de Medicina irá testar em breve", adianta Corbellini.

Matéria publicada no Jornal da UNISC - Maio de 2019:

<https://www.unisc.br/pt/noticias/pesquisa-do-pgps-propoe-novo-metodo-para-diagnosticar-glicose-colesterol-e-trigliceridios>

Maio 2019

Geral

JORNAL DA UNISC | 15

PESQUISA DO PPGPS PROPÕE NOVO MÉTODO PARA DIAGNOSTICAR GLICOSE, COLESTEROL E TRIGLICERÍDEOS

Divulgação



Rosileidi Pappen Umpierres e Valeriano Antonio Corbellini

Um estudo desenvolvido junto ao Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde da Unisc - Mestrado e Doutorado (PPGPS) propõe um novo método para o diagnóstico de problemas de saúde, como excesso de glicose, colesterol e triglicerídeos. A pesquisa é resultante da dissertação de mestrado de Rosileidi Pappen Umpierres, com a orientação do professor Valeriano Antonio Corbellini e com a coorientação da professora Hildegard Hedwig Pohl.

Na prática, o método consiste na análise da saliva com luz infravermelha no espectrômetro FT-IR, podendo se tornar uma alternativa mais rápida na prevenção de doenças causadas por altas taxas de açúcar e gordura no sangue. Um programa de computador lê as informações e dá o diagnóstico logo depois da coleta. De sua parte, o paciente precisa apenas depositar um pouco de saliva em um recipiente que é transportado para o equipamento. O professor Valeriano Corbellini, que pesquisa a possibilidade de analisar sangue ou fluidos no equipamento desde 2007, explica que o nome da técnica é *Espectroscopia de Absorção Molecular no Infravermelho com Transformada de Fourier*. No entanto, ressalta que o método aperfeiçoado na Unisc não substitui as análises de sangue tradicionais, mas traz agilidade para obter o resultado como benefício de seu uso.

Graduada em Odontologia, professora na Unisc e agora mestre em Promoção da Saúde, Rosileidi Pappen Umpierres ressalta que um reagente químico leva até 30 minutos para identificar a avaliação no sangue, enquanto o método por FT-IR faz esse processo de 30 a 40 análises ao mesmo tempo. “A ideia dessa proposta é

poder contribuir para o aperfeiçoamento dos serviços que são oferecidos na saúde pública”, salientou.

Apesar da validação pelo curso de Medicina da Unisc, para que a análise se torne uma alternativa no SUS, por exemplo, o método precisa ser validado pelo Governo Federal. Para tanto, a pesquisa será submetida à Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Entrevista concedida à Rádio de Caxias do Sul - Tua Rádio São Francisco (560 AM) ao programa “Conectado”, em 22 de Maio de 2019:

<http://www.tuaradio.com.br/Tua-Radio-Sao-Francisco/noticias/saude/01-06-2019/pesquisadores-desenvolvem-metodo-para-medir-glicose-pela-saliva>

Matéria publicada no Jornal ZERO HORA - 25 e 26 de Maio de 2019:

<https://gauchazh.clicrbs.com.br/saude/noticia/2019/05/pesquisadora-gaucha-mede-glicose-pela-saliva-cjvwckuc105y901pee9lf11tb.html>

ZERO HORA | CADERNO VIDA 3
SÁBADO E DOMINGO,
25 E 26 DE MAIO DE 2019

► INOVAÇÃO

PESQUISA GAÚCHA MEDE GLICOSE PELA SALIVA

COM APARELHO DE INFRAVERMELHO, MESTRANDOS DA UNISC CONSEGUIRAM ANALISAR CINCO PARÂMETROS COM A PRECISÃO DE UM EXAME DE SANGUE

Camila Kosachenco
camila.kosachenco@zerohora.com.br

Uma pesquisa de mestrado realizada na Universidade de Santa Cruz do Sul (Unisc) desenvolveu um método inédito para medir cinco de parâmetros de saúde sem a necessidade de retirada de sangue. Utilizando amostras de saliva e um aparelho de infravermelho, os pesquisadores conseguiram avaliar glicose, colesterol total, LDL (colesterol ruim), HDL (colesterol bom) e triglicérides.

A autora do trabalho, Rosileidi Pappen Umpierrez, professora de Odontologia da Unisc, explica que o equipamento, chamado de FT-IR, pode analisar qualquer fluido como sangue, urina, saliva e até fios de cabelo e unhas. No Brasil, lamenta a professora, o aparelho só é reconhecido para uso dentro de instituições acadêmicas.

Na prática, o trabalho de Rosileidi validou um método para analisar esses cinco

parâmetros com a mesma qualidade de um exame de sangue.

– Foram 109 indivíduos que tiveram saliva e sangue coletados. Nesses cinco parâmetros, a coincidência foi exata – comemora.

Fora a qualidade e a precisão, o método ainda conseguiu diminuir consideravelmente o tempo dos resultados. Segundo a professora, em um laboratório convencional, é preciso cerca de 30 minutos para análise de cada perfil. Pelo infravermelho, foram necessários apenas dois minutos para obter os cinco resultados.

– É um avanço da tecnologia relacionado à qualidade de vida e saúde pública, garantindo acessibilidade e agilidade – diz a pesquisadora.

► COLETA MAIS FÁCIL E MENOS INVASIVA

A ideia da pesquisa, diz Rosileidi, foi sugestão do professor doutor Valeriano Antonio Corbellini, que já trabalha com o



ROSILEIDI PAPPEN UMPIERRES É A AUTORA DO TRABALHO

FT-IR. Docente do Departamento de Química e Física da Unisc, Corbellini teve a ideia para facilitar os exames feitos na universidade.

– Estamos acostumados a fazer pesquisa com coleta de sangue. Selecionamos trabalhadores e escolares e notamos que idosos e crianças têm dificuldade de retirar o fluido. Como já trabalho com o aparelho, resolvi sugerir o teste da saliva

correlacionando com o interesse do exame de sangue – conta o professor, orientador do trabalho ao lado de Hildegard Hedwig Pohl.

Além da agilidade, o método ainda traz mais vantagens em relação ao tradicional exame de sangue: a coleta é mais fácil, menos invasiva e o impacto ambiental é menor, pois não é preciso usar nenhum reagente para obter os resultados.

CAPÍTULO V
RELATÓRIO DE CAMPO

RELATÓRIO DE CAMPO

Este projeto integra um recorte do Projeto Mestre: “Triagem de fatores de risco relacionados ao excesso de peso em trabalhadores da agroindústria, usando novas tecnologias analíticas e de informação em saúde – Fase II e/ou III”, já aprovado pelo parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Santa Cruz do Sul, sob o protocolo nº 2509/10. Este projeto será acrescido das análises de saliva relacionadas aos valores de glicose e colesterol total por FT-IR, que não consta no Projeto Mestre.

Após a explicação do projeto, leitura do TCLE e preenchido o questionário elaborado para o trabalho, as coletas sanguíneas e salivares foram realizadas nos municípios de Encruzilhada do Sul, Rio Pardo, Candelária, Passo do Sobrado, Vale Verde e também no prédio 42 da UNISC, no período da manhã nos meses de abril, maio, junho, julho e agosto do ano de 2018. E a partir do mês de setembro iniciou-se o trabalho necessário para as amostras de saliva.

A pesquisa totalizou um número de 109 indivíduos, e destes, cinco foram excluídos por não preencherem todos os requisitos prévios da coleta, resultando em 104 amostras, sendo os sujeitos avaliados através da análise bioquímica tradicional classificando os perfis glico-lipêmicos, além da análise salivar de glicose e colesterol total, bem como dos espectros salivares obtidos pela espectroscopia de infravermelho.

Ao idealizarmos nosso estudo, tínhamos como um dos objetivos avaliar os respectivos valores de glicose e colesterol total sanguíneo e salivar e associá-los entre os espectros FT-IR salivar. No entanto, ao verificarmos nossos dados identificamos que o colesterol total salivar não apresentou valores positivos significativos ao exame enzimático. Sendo assim, utilizou-se a glicose salivar como parâmetro para avaliar a sua correlação ao perfil glico-lipêmico, bem como associá-la aos espectros de FT-IR.

Iniciamos o trabalho organizando e classificando os dados do questionário do estilo de vida e de história médica pregressa, assim como os resultados dos parâmetros enzimáticos sanguíneos e salivares em planilhas no Excel. Usualmente a literatura sugere que a etapa da centrifugação seja realizada tão logo tenham ocorrido as coletas do fluido salivar. No entanto, em nosso estudo tivemos a especificidade de como as coletas não terem sido realizadas em um laboratório específico para prontamente seguir com o procedimento de centrifugação, providenciamos uma modificação: coletamos as amostras de saliva, acondicionamos em caixas específicas contendo gelo gel, para em seguida serem congeladas no Laboratório de Química da UNISC. Nas datas agendadas ao proceder com as análises, as

amostras foram descongeladas para logo após serem centrifugadas, e a seguir proceder com as etapas das análises.

A seguir, foram organizadas as triplicatas dos espectros nas mesmas planilhas. Procedeu-se em seguida com a caracterização das amostras, analisando a glicose salivar pelo método enzimático associada aos parâmetros bioquímicos, e ainda com os espectros salivares, calculando suas médias e desvios padrão, para a montagem do primeiro artigo.

Para a montagem do segundo artigo, utilizamos os mesmos dados espectrais, com o emprego da técnica de PLS. Até o momento realizamos a validação cruzada interna. O próximo passo será a validação externa do método.

Após os resultados dos dados das coletas terem sido processados e analisados, os voluntários receberam os resultados dos exames bioquímicos realizados.

REFERÊNCIAS

- AHMADZAI, A. A. et al. The Syrian hamster embryo (SHE) assay (pH 6.7): mechanisms of cell transformation and application of vibrational spectroscopy to objectively score endpoint alterations. *Mutagenesis*, v. 27, n. 3, p. 257-266, 2012.
- ALMEIDA, C. S.; ALVES, L. R.; FUNK, F. Análise das inter-relações setoriais do Corede Vale do Rio Pardo/RS-Brasil. In: V JORNADAS INTERDISCIPLINARIAS DE ESTUDIOS AGRARIOS Y AGROINDUSTRIALES, Buenos Aires, 2007. *Anais. Buenos Aires: Jornadas Interdisciplinarias de Estudios Agrarios y Agroindustriales*, p. 1-21, 2007.
- ALVES, R. A.; GUIMARÃES, M. C. De Que Sofrem os Trabalhadores Rurais? – Análise dos Principais Motivos de Acidentes e Adoecimentos nas Atividades Rurais. *Informe Gepec*, Toledo, v. 16, n. 2, p. 39-56, jul./dez. 2012.
- ASTM. Annual Book of ASTM Standards, *Standards Practices for Infrared, Multivariate, Quantitative Analysis*, ASTM International E1655-05, West Conshohocken: Pennsylvania, USA, 2005.
- BAKER, M. et al. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nature Protocols*, v. 9, n. 8, p. 1771-1791, 2014.
- BALAN, P. et al. Can saliva offer an advantage in monitoring of diabetes mellitus? – A case control study, *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, v. 6, n. 4, p. 6-9, 2014.
- BORGNAKKE, W. S. Does Treatment of Periodontal Disease Influence Systemic Disease? *Dental Clinics of North America*, v. 59, n. 4, p. 885-917, 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância à Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. *Diretrizes e recomendações para o cuidado integral de doenças crônicas não transmissíveis: promoção da saúde, vigilância, prevenção e assistência*. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.
- _____. Ministério da Educação. Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. *Documento de Área 2009: área de avaliação: interdisciplinar*. 2010.
- CAMPOS, M. O.; NETO, J. F. R. Doenças crônicas não transmissíveis: fatores de risco e repercussão na qualidade de vida. *Revista Baiana de Saúde Pública*, v. 33, n. 4, p. 561-581 out./dez. 2009.
- CAMPUZANO, S.; YÁNEZ-SEDEÑO, P.; PINGARRÓN, J. M. Electrochemical bioaffinity sensors for salivary biomarkers detection. *Trends in Analytical Chemistry*, p.1-41, 2016.
- CÂNDIDO, Gesinaldo Ataíde. Gênese e evolução do Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Recursos naturais da UFCG. In: PHILIPPI JR, A.; SILVA NETO, A. (Org.). *Interdisciplinaridade em ciência, tecnologia & inovação*. São Paulo: Manole, 2011. p. 488-509.
- CHEN, W. et al. Biomarkers for Primary Sjogren's Syndrome. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, v. 13, p. 219-223, 2015.

CHIAPPIN, S. et al. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinica Chimica Acta*, v. 383, n. 1-2, p. 30-40, 2007.

CHISTIYAKOV, D. A.; OREKHOV, A. N.; BOBRYSHCHEV, Y. V. Links between atherosclerotic and periodontal disease. *Experimental and Molecular Pathology*, v. 100, n. 1, p. 220-235, 2016.

COREDE. *Mapa dos Municípios do Conselho Regional de Desenvolvimento (Corede) Vale do Rio Pardo – 2008*. Disponível em: <https://www.google.com.br/search?q=Corede+mapa&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjsgerkbnVAhXEVyYKHaLuBxUQ_AUICigB&biw=1024&bih=536>. Acesso em: 01 jun. 2017.

DELLA JR, A. P. et al. Avaliação do Risco Cardiovascular segundo os Critérios de Framingham em Adultos. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, v. 20, n. 3, p. 183-188, 2016.

FALUDI A. A. et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 19, n1 1, p. 1-76, 2017.

FARINHA, Flávia. *A saliva como meio de diagnóstico*. 2015. 85 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina dentária) - Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Muniz, Portugal, 2015.

FETAG-RS. *Federação dos Trabalhadores na Agricultura no Rio Grande do Sul*. Disponível em: <<http://www.fetags.org.br/site/index.php?idp=MTU1>>. Acesso em: 03 jun. 2017.

FOLEY, J. et al. Oral fluids that detect cardiovascular disease biomarkers. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, v. 114, n. 2, p. 207-214, 2012.

FREITAS, C. M. F.; GARCIA, E. G. Trabalho, saúde e meio ambiente na agricultura. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, São Paulo, v. 37, n. 125, p. 12-16, 2012.

GAYA, Adroaldo (Coord.). *Ciências do movimento humano: introdução à metodologia da pesquisa*. Porto Alegre: Artmed, 2008.

GEELYN, J. L. et al. Stroke biomarkers in clinical practice: A critical appraisal. *Neurochemistry International* p.1-40, 2017.

GÓMEZ-DE-ANDA, F. et al. Determination of *Trichinella spiralis* in pig muscles using mid-Fourier transform infrared spectroscopy (MID-FTIR) with attenuated total reflectance (ATR) and soft independent modeling of class analogy (SIMCA). *Meat Science*, v. 91, n. 3, p. 240-246, 2012.

GUIMARÃES, Jorge Almeida. Posfácio. In: PHILIPPI JR, A.; SILVA NETO, A. (Org.). *Interdisciplinaridade em ciência, tecnologia & inovação*. São Paulo: Manole, 2011. p. 961-970.

HOWARD, Robin. The management of ischaemic stroke, *Anaesthesia and intensive care medicine*, p. 1-5, 2016.

HULLEY, Stephen B. et al. *Delineando a pesquisa clínica*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

HYEDA, A. et al. A aplicação da arquitetura de informação na gestão dos riscos das doenças crônicas em trabalhadores: uma análise preliminar. *Revista Brasileira de Medicina do Trabalho*, v. 14, n. 1, p. 29-36, 2016.

ITTICHAICHAROEN, J. et al. Is salivary gland function altered in noninsulin-dependent diabetes mellitus and obesity–insulin resistance? *Archives of Oral Biology*, v. 64, p. 61-71, 2016.

KERN, V. M. et al. Construção da interdisciplinariedade para a inovação. In: PHILIPPI JR, A.; SILVA NETO, A. (Org.). *Interdisciplinaridade em ciência, tecnologia & inovação*. São Paulo: Manole, 2011. p. 743-767.

LARSEN, T.; FIEHNN, N. E. Dental biofilm infections – an update. *Acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, v. 125, n. 4, p. 376-384, 2017.

LIMA, D. P. et al. Saliva: reflection of the body. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 14, n. 3, p. 184-188, 2010.

LLABJANI, V. et al. Alterations in the infrared spectral signature of avian feathers reflect potential chemical exposure: A pilot study comparing two sites in Pakistan. *Environment International*, v. 48, n. 1, p. 39-46, 2012.

LÓPEZ-LORENTE, A.; MIZAIKOFF, B. Mid-infrared spectroscopy for protein analysis: potential and challenges. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 408, n. 11, p. 2875-2879, 2016.

MACINKO, J.; DOURADO, I.; GUANAIS, F. C. Doenças Crônicas, Atenção Primária e Desempenho dos Sistemas de Saúde Diagnósticos, instrumentos e intervenções. *Banco Interamericano de Desenvolvimento*. 2011. Disponível em: <https://publications.iadb.org/bitstream/handle/11319/5759/Concept%20Note_Seminario%20Doencas%20Cronicas_SSA_PORT.pdf?sequence=2>. Acesso em: 02 jun. 2017.

MALAMUD, Daniel. Saliva as a Diagnostic Fluid. *Dental Clinics of North America*, n 55, p. 159-178, 2011.

MALTA, D. C. et al. Doenças Crônicas Não Transmissíveis e o suporte das ações intersectoriais no seu enfrentamento. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 19, n. 11, p. 4341-4350, 2014.

MELLO, J. M. et al. Interações por doenças crônicas não transmissíveis do sistema circulatório, sensíveis à atenção primária à saúde. *Revista Texto Contexto Enfermagem*, Santa Catarina, v. 26, n.1, p. 1-11, 2017.

MIRANDA, Mônica Cancela de Abreu Gonçalves Vaz Almeida. *Aplicação de espectroscopia de FT-IR para a serotipagem e avaliação da susceptibilidade à penicilina em Streptococcus pneumoniae*. 2008. 194f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Clínica) Universidade de Lisboa, 2008.

MOURA, S. A. B. et al. Valor Diagnóstico da Saliva em Doenças Orais e Sistêmicas: Uma Revisão de Literatura. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, v. 7, n. 2, p. 187-194, 2007. Disponível em: <<http://www.uel.br/pessoal/buzato/pages/arquivos/seminarios/A2.pdf.pdf>>. Acesso em: 02 jun. 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). *Preventing Chronic Diseases a vital investments*. Geneva, 1ª ed. v.01, 2005.

O'SHEA, P.M.; GRIFFIN, T.P.; FITZGIBBON, M. Hypertension: The role of biochemistry in the diagnosis and Management *Clinica Chimica Acta*, p. 1-37, 2016.

PANDIT, A.; PANDEV, A. K. Atherosclerosis: Current perspectives. *Apollo Medicine*, p. 1-7, 2015.

PEREZ-GUAITA, D.; GARRIGUES, S.; GUARDIA, M. L. Infrared-based quantification of clinical parameters. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 62, p. 93-105, 2014.

QVARNSTROM, M. et al. Salivary Lysozyme and Prevalent Hypertension. *Journal of Dental Research*, v. 87, n. 5, p. 480-484, 2010.

RAMESH, S.; NEELAKANTAN, P. Systemic diseases and oral health. *Indian Journal of Medical Specialities*, v. 5, n.2, p. 107-111, 2014.

RAYNAUT, Claude. Interdisciplinariedade: mundo contemporâneo, complexidade e desafios à produção e à aplicação de conhecimentos. In: PHILIPPI JR, A.; SILVA NETO, A. (Org.). *Interdisciplinaridade em ciência, tecnologia & inovação*. São Paulo: Manole, 2011. p. 69-105.

RAYNAUT, C.; ZANONI, M. Reflexões sobre princípios de uma prática interdisciplinar In: PHILIPPI JR, A.; SILVA NETO, A. (Org.). *Interdisciplinaridade em ciência, tecnologia & inovação*. São Paulo: Manole, 2011. p. 143-208.

REED, G. W.; ROSSI, J. E; CANNON C. P. Acute myocardial infarction. *The Lancet*, p. 1-14, 2016.

ROCHA, L. P. et al. Associação entre a carga de trabalho agrícola e as dores relacionadas. *Acta Paulista de Enfermagem*, v. 27, n. 4, p. 333-339, 2014.

SANTOS, V. C. F. et al. Perfil das internações por doenças crônicas não-tranmissíveis sensíveis à atenção primária em idosos da Metade Sul do RS. *Revista Gaúcha de Enfermagem*, v. 34, n. 3, p. 124-131, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-14472013000300016>. Acesso em: 02 jun. 2017.

SATISH, B. N. V. S. et al. Saliva: A tool in assessing glucose levels in Diabetes Mellitus, *Journal of International Oral Health*, v. 6, n. 2, p. 114–117, 2014.

SCOTT, D. A. et al. Diabetes-related molecular signatures in infrared spectra of human saliva. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, v. 2, p. 48-57, 2010.

SHAW; R. A; MANTSCH, H. H. Infrared Spectroscopy in Clinical and Diagnostic Analysis. In: MEYERS, R.A (ed). *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Chichester: Wiley, 2011, p.1-19.

SILVEIRA, R. L. L.; CAMPOS, H. A. Processos participativos em experiências recentes de planejamento regional: o caso do Vale do Rio Pardo (RS). *Redes*, Santa Cruz do Sul, v. 17, n. 1, p. 203-216, jan/abr. 2012. Disponível em: <<http://online.unisc.br/seer/index.php/redes/article/view/2687>>. Acesso em: 02 jun. 2017.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES – SDB. *Conduta Terapêutica no Diabetes Tipo 2 – Algoritmo SBD 2017*. Posicionamento Oficial SBD nº 02/2017.

_____. *Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018*. São Paulo: Editora Clannad, 2017.

SPIELMANN, N.; WONG, D. T. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. *Oral Diseases*, v. 17, n. 4, p. 345-354, 2012.

STUART, Bárbara. *Infrared spectroscopy: Fundamentals and applications*. Chichester, West Sussex, England; Hoboken, NJ: J. Wiley, 2004.

TARTAGLIA, G. M. et al. Antioxidant capacity of human saliva and periodontal screening assessment in healthy adults. *Archives of Oral Biology*, n. 78, p. 34-38, 2017.

TREVISAN, J. et al. Syrian hamster embryo (SHE) assay (pH 6.7) coupled with infrared spectroscopy and chemometrics towards toxicological assessment. *Analyst*, v. 135, n. 12, p. 3266-3272, 2010.

TRINDADE, Diamantino Fernandes. Interdisciplinaridade: Um novo olhar sobre as ciências. In: FAZENDA, Ivani (Org.). *O que é Interdisciplinaridade?* São Paulo: Cortez, 2008. p. 65-84.

WARRENER, L. et al. A point-of-care test for measles diagnosis: detection of measles-specific IgM antibodies and viral nuclei acid. *Bulletin of the World Organization*, v. 89, n. 9, p. 675-682, 2011.

WEAVER JR, D. J.; MITSNEFES, M. M. Effects of systemic hypertension on the cardiovascular system. *Progress in Pediatric Cardiology*, p. 1-7, 2015.

WONG, D. T.; GARON, E.; LEE, J. M. Salivary diagnostics. *Orthodontics e Craniofacial Research*, v. 12, n. 3, p. 206-211, 2010.

YOSHIZAWA, J. M. et al. Salivary Biomarkers: Toward Future Clinical and Diagnostic Utilities. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 26, n. 4, p. 781-791, 2013. Qualis A1.

ZHANG, Y. et al. The Emerging Landscape of Salivary Diagnostics. *Oral Health and Dental Management*, v. 13, n. 2, p. 1-11, 2014.

ZHENG, H., et al. Salivary biomarkers indicate obstructive sleep apnea patients with cardiovascular diseases. *Scientific Reports*, 4, 7046, 2014.

ZOLOTUKHIN, S. Metabolic hormones in saliva: origins and functions. *Oral Diseases*, v. 19, n. 3, p. 219-229, 2013.

ANEXOS

ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido

TÍTULO DO PROJETO: “QUANTIFICAÇÃO DE GLICOSE SALIVAR POR FT-IR E SUA ASSOCIAÇÃO COM MARCADORES GLICO-LIPÊMICOS EM TRABALHADORES RURAIS E DA AGROINDÚSTRIA”

Você está sendo convidado(a) a fazer parte da pesquisa: “QUANTIFICAÇÃO DE GLICOSE SALIVAR POR FT-IR E SUA ASSOCIAÇÃO COM MARCADORES GLICO-LIPÊMICOS EM TRABALHADORES RURAIS E DA AGROINDÚSTRIA”.

Considerando a importância da manutenção da saúde geral para o indivíduo, esse projeto busca avaliar por meio das taxas de sangue e saliva os índices de prevalência das doenças crônicas não transmissíveis, como diabetes e a obesidade, entre outras, e alertando para os seus fatores de riscos.

Os procedimentos de coleta do material serão da seguinte forma: inicialmente será entregue um questionário pré-elaborado para obter informações relacionadas com a idade, estilo de vida e uso de medicações. Posteriormente, será feita a coleta de sangue e saliva nos municípios de Candelária, Passo do Sobrado e Vale Verde na Sede da EMATER e/ou Sindicato dos Trabalhadores Rurais.

Será feito o agendamento das datas de coletas com os coordenadores e presidentes dos Sindicatos Rurais. O horário a ser agendado para as coletas será no período da manhã, no primeiro horário matinal a partir das 07:00 horas, e serão realizadas por profissionais capacitados, sendo estes: técnico de enfermagem, médico, cirurgião-dentista e auxiliares para execução das coletas.

Os riscos e desconfortos estão relacionados à coleta de sangue, porém são mínimos, podendo ter algum desconforto local ou discreto hematoma, desaparecendo se existente por um período de 2 a 3 dias. O uso contínuo de alguns remédios pode interferir nos resultados, gerando uma redução nas amostras. No caso de fumantes, determinados componentes químicos podem alterar os exames, bem como a ingestão de bebidas alcólicas e jejum prolongado.

Os benefícios a que se destina a pesquisa é que ao invés dos indivíduos precisarem fazer uma coleta de sangue para medir a taxa de açúcar (glicose) e de gordura (colesterol) é que estes exames sejam feitos apenas por uma coleta de saliva, tendo como instrumento principal para o estudo deste trabalho o aparelho de FT-IR (Espectroscopia de Absorção Molecular no Infravermelho com Transformada de Fourier); sendo assim, o propósito desta pesquisa não é trazer nenhum dado novo com relação aos exames de glicose e colesterol, mas sim agilizar o resultado deste por ser indolor, mais rápido e também ser mais barato tanto para o indivíduo como para o laboratório que está fazendo a coleta.

Somente participará da pesquisa:

- Os indivíduos que participaram do Projeto Mestre;
- Respeitar um período mínimo de jejum de oito horas;

- Não fumar previamente à coleta;
- Fazer a escovação previamente à coleta sem o uso de creme dental;
- Devolver este documento assinado.

Pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, declaro que autorizo a minha participação neste projeto de pesquisa, pois fui informado, de forma clara e detalhada, livre de qualquer forma de constrangimento e coerção, dos objetivos, da justificativa, dos procedimentos que serei submetido, dos riscos, desconfortos e benefícios, assim como das alternativas às quais poderia ser submetido, todos acima listados.

Ademais, declaro que, quando for o caso, autorizo a utilização de minha imagem e voz de forma gratuita pelo pesquisador, em quaisquer meios de comunicação, para fins de publicação e divulgação da pesquisa, desde que eu não possa ser identificado através desses instrumentos (imagem e voz).

Fui, igualmente, informado:

- da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa;
- da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuação de meu cuidado e tratamento;
- da garantia de que não serei identificado quando da divulgação dos resultados e que as informações obtidas serão utilizadas apenas para fins científicos vinculados ao presente projeto de pesquisa;
- do compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a minha vontade em continuar participando;
- da disponibilidade de tratamento médico e indenização, conforme estabelece a legislação, caso existam danos a minha saúde, diretamente causados por esta pesquisa;
- de que se existirem gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

O pesquisador responsável por este Projeto de Pesquisa é a mestranda Rosileidi Pappen Umpierres (Fone:051-37133819), orientada pelo Professor Dr. Valeriano Antonio Corbellini.

O presente documento foi assinado em duas vias de igual teor, ficando uma com o voluntário da pesquisa ou seu representante legal e outra com o pesquisador responsável.

O Comitê de Ética em Pesquisa responsável pela apreciação do projeto pode ser consultado, para fins de esclarecimento, através do telefone: (051) 3717 7680.

Data: ____ / ____ / ____

Nome e assinatura do participante

Nome e assinatura do pesquisador

ANEXO B – Questionário de história médica progressa

Projeto: “QUANTIFICAÇÃO DE GLICOSE SALIVAR POR FT-IR E SUA ASSOCIAÇÃO COM MARCADORES GLICO-LIPÊMICOS EM TRABALHADORES RURAIS E DA AGROINDÚSTRIA”

Dados de Identificação

Data: ___/___/___

1) Nome:

.....

2) Sexo: () Masculino () Feminino

3) Data de nascimento:/...../.....

4) Idade:

5) Estado civil: () solteiro(a)

() casado(a) () outro

6) Endereço:

.....

.....

7) Cidade:

.....

8) Telefone:

9) Escolaridade: Não alfabetizada ()

Ensino fundamental () Ensino médio ()

Ensino superior ()

10) Profissão:

.....

11) Faz atividade física regularmente:

1 vez (); 2 vezes (); 3 vezes ();
diariamente ().

12) Queixa principal:

.....

.....

13) Apresenta alguma das seguintes doenças:

() Obesidade;

() Diabetes;

() Dislipidemia - (colesterol/
triglicerídeos altos);

() Hipertensão arterial;

() Doenças Cardíacas - Qual (is):

.....

14) Faz uso de alguma medicação:

() Sim () Não – Qual(is):

.....

15) Tabagismo: () Sim () Não

() 1 a 10 cigarros/dia;

() 11 a 20 cigarros/dia;

() 20 ou mais cigarros/dia.

16) Etilismo: () Sim () Não

() 1 copo/semana;

() 2 copos/semana;

() diariamente;

() somente nos finais de semana.

17) Quando foi a última vez que você realizou os seguintes exames:

De colesterol:

() há menos de 6 meses;

() há 6 meses;

() há 1 ano;

() nunca realizou.

De glicose:

() há menos de 6 meses;

() há 6 meses;

() há 1 ano;

() nunca realizou.

ANEXO C – Carta de Aceite**ANEXO C – Carta de Aceite**

Santa Cruz do Sul, 15 de janeiro de 2019.

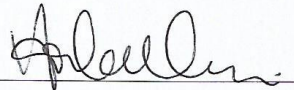
Ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Santa Cruz do Sul, CEP-UNISC

Prezados Senhores,

Declaramos para os devidos fins conhecer o projeto de pesquisa intitulado: “QUANTIFICAÇÃO DE GLICOSE SALIVAR POR FT-IR E SUA ASSOCIAÇÃO COM MARCADORES GLICO-LIPÊMICOS EM TRABALHADORES RURAIS E DA AGROINDÚSTRIA”, desenvolvido pelo(a) acadêmico(a) Rosileidi Pappen Umpierres do Curso de Mestrado em Promoção da Saúde, da Universidade de Santa Cruz do Sul-UNISC, sob a orientação do(a) professor(a) Valeriano Antonio Corbellini, bem como os objetivos e a metodologia da pesquisa e autorizamos o desenvolvimento no(a) Laboratório 1121 (instituição UNISC).

Informamos concordar com o parecer ético que será emitido pelo CEP-UNISC, conhecer e cumprir as Resoluções do CNS 466/12 e 510/2016 e demais Resoluções Éticas Brasileiras. Esta instituição está ciente das suas corresponsabilidades como instituição coparticipante do presente projeto de pesquisa e no seu compromisso do resguardo da segurança e bem estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutados, dispondo de infraestrutura necessária para tanto.

Atenciosamente, Dr. Valeriano Antonio Corbellini



Responsável pelo Laboratório 1121

ANEXO D – Carta de Aceite**ANEXO D – Carta de Aceite**

Santa Cruz do Sul, 15 de janeiro de 2019.

Ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Santa Cruz do Sul, CEP-UNISC

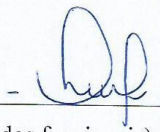
Prezados Senhores,

Declaramos para os devidos fins conhecer o projeto de pesquisa intitulado: “QUANTIFICAÇÃO DE GLICOSE SALIVAR POR FT-IR E SUA ASSOCIAÇÃO COM MARCADORES GLICO-LIPÊMICOS EM TRABALHADORES RURAIS E DA AGROINDÚSTRIA”, desenvolvido pelo(a) acadêmico(a) Rosileidi Pappen Umpierres do Curso de Mestrado em Promoção da Saúde, da Universidade de Santa Cruz do Sul-UNISC, sob a orientação do(a) professor(a) Valeriano Antonio Corbellini, bem como os objetivos e a metodologia da pesquisa e autorizamos o desenvolvimento no(a) Laboratório 2024 (instituição UNISC).

Informamos concordar com o parecer ético que será emitido pelo CEP-UNISC, conhecer e cumprir as Resoluções do CNS 466/12 e 510/2016 e demais Resoluções Éticas Brasileiras. Esta instituição está ciente das suas corresponsabilidades como instituição coparticipante do presente projeto de pesquisa e no seu compromisso do resguardo da segurança e bem estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutados, dispondo de infraestrutura necessária para tanto.

Atenciosamente, Prof^a. Lucia Beatriz Fernandes da Silva Furtado.

Subcoordenadora do Departamento de Biologia e Farmácia



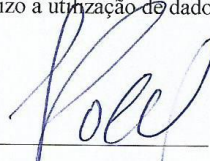
Assinatura e carimbo (ou dados funcionais) do responsável institucional (legíveis)

ANEXO E – Carta de Aceite**ANEXO E – Carta de Aceite**

Santa Cruz do Sul, 15 de janeiro de 2019.

Ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNISC

Prezados Senhores: Eu, Hildegard Hedwig Pohl, responsável pelo projeto “Triagem de fatores de risco relacionados ao excesso de peso em trabalhadores da agroindústria, usando novas tecnologias analíticas e de informação em saúde” declaro que conheço o protocolo de pesquisa “QUANTIFICAÇÃO DE GLICOSE SALIVAR POR FT-IR E SUA ASSOCIAÇÃO COM MARCADORES GLICO-LIPÊMICOS EM TRABALHADORES RURAIS E DA AGROINDÚSTRIA” desenvolvido pela mestrandia Rosileidi Pappen Umpierres, orientada pelo professor Valeriano Antonio Corbellini, bem como os objetivos e a metodologia da pesquisa em questão e autorizo a utilização de dados do projeto acima citado.



Hildegard Hedwig Pohl

ANEXO F – Ofício Comitê de Ética e Pesquisa UNISC

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Of. N° 68/10

Santa Cruz do Sul, 28 de Abril de 2010.

Senhor(a) Professor(a):

De acordo com a análise dos projetos de pesquisa no que tange aos aspectos éticos implicados na pesquisa, estamos encaminhando para seu conhecimento o parecer do Comitê de Ética em Pesquisa referente ao projeto sob sua coordenação: - **Processo n° 2509/10 - “Aplicação de Espectroscopia no Infravermelho para Avaliação de Aptidão Metabólica e Funcional de Paciente com Obesidade e Patologias relacionadas.” APROVADO.**

A análise constituiu-se na observância quanto ao cumprimento, por parte dos pesquisadores, dos documentos exigidos para submissão, bem como dos aspectos éticos conforme direcionamento da Comissão Nacional de Ética na Pesquisa – CONEP, em acordo com a resolução nacional n° 196/96 que define as diretrizes para a condução de pesquisas com seres humanos.

Quaisquer esclarecimentos poderão ser obtidos junto CEP, sala 603.

Atenciosamente,



Tânia Cristina Malezan Fleig
Coordenadora do CEP-UNISC

Ilmo(a). Sr(a).
Hildegard Hedwig Pohl
Departamento de Química e Física e Departamento de Educação Física e Saúde

ANEXO G – Ofício Comitê de Ética e Pesquisa UNISC

Santa Cruz do Sul, 04 de abril de 2011.

Prezada Coordenadora

Ao cumprimentá-la cordialmente, vimos solicitar a alteração de nome e objetivo do projeto protocolado sob o número 2509/10 “Aplicação de Espectroscopia no Infravermelho para Avaliação de Aptidão Metabólica e Funcional de Pacientes com Obesidade e Patologias relacionadas” para “Triagem de Fatores de Risco relacionados ao Excesso de Peso em Trabalhadores da Agroindústria usando novas Tecnologias Analíticas e de Informação em Saúde”, enquanto o objetivo geral passará a ser Caracterizar o perfil de saúde dos trabalhadores da agroindústria dos municípios de Vale Verde, Passo do Sobrado, Gramado Xavier, Candelária, Pântano Grande, Rio Pardo e General Câmara, identificando os fatores de risco relacionados ao excesso de peso, com base em marcadores bioquímicos, antropométricos e fisiológicos; e, desenvolver metodologia a base da espectroscopia do infravermelho para agilizar estes acompanhamentos. Justificamos essa alteração para atender requisitos específicos de edital. Informamos ainda que a metodologia do projeto original será mantida.

Certos da costumeira atenção, agradecemos

Atenciosamente

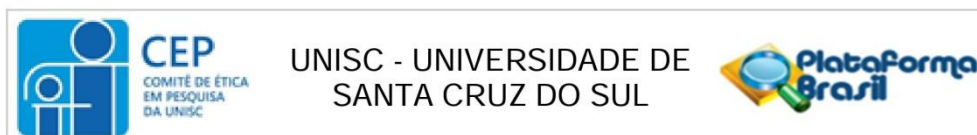
A handwritten signature in black ink, appearing to read "H. Pohl", written over a faint circular stamp.

Prof. Hildegard Hedwig Pohl

Coordenadora do Projeto de Triagem de Fatores de Risco relacionados ao Excesso de Peso em Trabalhadores da Agroindústria usando novas Tecnologias Analíticas e de Informação em Saúde

Ilma Sra.
Prof. Tânia Cristina Malezan Fleig
Coordenadora do CEP-UNISC
UNISC

ANEXO H – Parecer Consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: TRIAGEM DE FATORES DE RISCO RELACIONADOS AO EXCESSO DE PESO EM TRABALHADORES DA AGROINDÚSTRIA USANDO NOVAS TECNOLOGIAS ANALÍTICAS E DE INFORMAÇÃO EM SAÚDE - FASE III

Pesquisador: Hildegard Hedwig Pohl

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 78889317.1.0000.5343

Instituição Proponente: Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC

Patrocinador Principal: Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.349.234

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de pesquisa denominado TRIAGEM DE FATORES DE RISCO RELACIONADOS AO EXCESSO DE PESO EM TRABALHADORES DA AGROINDÚSTRIA USANDO NOVAS TECNOLOGIAS ANALÍTICAS E DE INFORMAÇÃO EM SAÚDE – FASE III. Esse projeto está lotado nos Departamentos de Química e Física e de Educação Física e Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul, UNISC e será desenvolvido pelos professores Miriam Beatris Reckziegel, Departamento de Educação Física e Saúde, responsável pelo laboratório de Atividade Física e Saúde (LAFISA)-UNISC-RS, 40h; 4h semanais de dedicação ao projeto; Hildegard Hedwig Pohl, Departamento de Educação Física e Saúde, responsável pelo laboratório de Biomecânica-UNISC-RS, 30h; 4 h semanais de dedicação ao projeto; e Valeriano Antonio Corbellini, Departamento de Química e Física, responsável pelo Laboratório de Infravermelho e Cromatografia-UNISC-RS, 40h; 2h semanais de dedicação ao projeto.

Objetivo da Pesquisa:

Presentes, claros e exequíveis.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Presentes e apresentados conforme exigido pelo CEP-UNISC.

Endereço: Av. Independência, nº 2293 -Bloco 6, sala 603
Bairro: Universitário **CEP:** 96.815-900
UF: RS **Município:** SANTA CRUZ DO SUL
Telefone: (51)3717-7680 **E-mail:** cep@unisc.br



Continuação do Parecer: 2.349.234

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Presente e amplamente descrita.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Presentes e de acordo com o exigido pelo CEP-UNISC.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto aprovado e em condições de ser executado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1001729.pdf	10/10/2017 20:44:32		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO.pdf	10/10/2017 20:43:43	Hildegard Hedwig Pohl	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_DE_PESQUISA.pdf	10/10/2017 20:43:15	Hildegard Hedwig Pohl	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CARTA_DE_ACEITE.pdf	10/10/2017 20:42:40	Hildegard Hedwig Pohl	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.pdf	10/10/2017 20:41:36	Hildegard Hedwig Pohl	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	10/10/2017 20:41:01	Hildegard Hedwig Pohl	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	10/10/2017 20:40:49	Hildegard Hedwig Pohl	Aceito

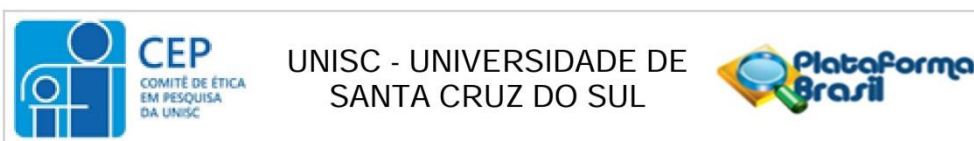
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Independência, nº 2293 -Bloco 6, sala 603
Bairro: Universitário **CEP:** 96.815-900
UF: RS **Município:** SANTA CRUZ DO SUL
Telefone: (51)3717-7680 **E-mail:** cep@unisc.br



Continuação do Parecer: 2.349.234

SANTA CRUZ DO SUL, 25 de Outubro de 2017

Assinado por:
Renato Nunes
(Coordenador)

Endereço: Av. Independência, nº 2293 -Bloco 6, sala 603
Bairro: Universitário **CEP:** 96.815-900
UF: RS **Município:** SANTA CRUZ DO SUL
Telefone: (51)3717-7680 **E-mail:** cep@unisc.br

ANEXO I – Normas da Revista do Artigo I



AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

• Description	p.1
• Audience	p.1
• Impact Factor	p.1
• Abstracting and Indexing	p.2
• Editorial Board	p.2
• Guide for Authors	p.4



ISSN: 0009-8961

DESCRIPTION

Clinica Chimica Acta is a high quality journal which publishes original Research Communications in the field of **clinical chemistry** and **laboratory medicine**, defined as the diagnostic application of chemistry, biochemistry, immunochemistry, biochemical aspects of hematology, toxicology, and molecular biology to the study of human disease in body fluids and cells.

The objective of the journal is to publish novel information leading to a better understanding of **biological mechanisms of human diseases**, their prevention, diagnosis, and patient management. Reports of an applied clinical character are also welcome. Papers concerned with normal metabolic processes or with constituents of normal cells or body fluids, such as reports of experimental or clinical studies in animals, are only considered when they are clearly and directly relevant to human disease. Evaluation of commercial products have a low priority for publication, unless they are novel or represent a technological breakthrough. Studies dealing with effects of drugs and natural products and studies dealing with the redox status in various diseases are not within the journal's scope. Development and evaluation of novel analytical methodologies where applicable to diagnostic clinical chemistry and laboratory medicine, including point-of-care testing, and topics on laboratory management and informatics will also be considered.

AUDIENCE

Medical biochemists, clinical chemists, analytical chemists.

IMPACT FACTOR

2017: 2.926 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2018

ABSTRACTING AND INDEXING

EMBIology
 Elsevier BIOBASE
 BIOSIS
 Chemical Abstracts
 Current Contents/Life Sciences
 EMBASE
 Index Chemica
 MEDLINE®
 Clinical Chemistry Lookout
 Current Clinical Chemistry
 Informedicus
 Pascal et Francis (INST-CNRS)
 Reference Update
 Scopus

EDITORIAL BOARD

Editors-in-Chief:

Joris Delanghe, Universitair Ziekenhuis Gent, Gent, Belgium
Alan H. Wu, San Francisco General Hospital, San Francisco, California, USA

Reviews Editor:

Greg Makowski, Hartford Hospital, Hartford, Connecticut, USA

Editors:

Marc De Buyzere, Universitair Ziekenhuis Gent, Gent, Belgium
Ming Guan, Fudan University, Shanghai, China
Ching-Wan Lam, The University of Hong Kong, Hong Kong, China

Statistics Editor:

Hans Pottel, KU Leuven, Kortrijk, Belgium

Editorial Board:

Samir Awadallah, University of Sharjah, Sharjah, United Arab Emirates
Hassan Azzazy, American University in Cairo, Cairo, Egypt
R. Bais, Sydney, New South Wales, Australia
Sergio Bernardini, Università di Roma "Tor Vergata", Rome, Italy
R. Blankenstein, VU University Medical Center Amsterdam, Amsterdam, Netherlands
C. Bohuon, Paris, France
David Bullock, UK NEQAS, Edgbaston, Birmingham, UK
Joiza Camargo, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil
E. Cavalier, CHU de Liège, Liège, Belgium
Jaw-Wen Chen, Taipei Veterans General Hospital, Taipei, Taiwan
Chun-Wen Cheng, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan
Theodore Christopoulos, University of Patras, Rio-Patras, Greece
William Coleman, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina, USA
John Contois, Liposcience Inc., Raleigh, North Carolina, USA
Gyorgy Csako, National Institutes of Health (NIH), Bethesda, Maryland, USA
Edson da Silva, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brazil
Amitava Dasgupta, University of Texas at Houston, Houston, Texas, USA
Sridevi Devaraj, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA
James Donnelly, Quotient, Eysins, Switzerland
Tze Kiong Er, Kaohsiung Medical University Hospital, Kaohsiung, Taiwan
Rajiv T. Erasmus, University of Stellenbosch, Stellenbosch, South Africa
Philippe Gillery, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France
Ernesto González Reyes, Immunoassay Center, Havana City, Cuba
Peter Hickman, Australian National University, Canberra, Australian Capital Territory, Australia
Mario Hirata, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brazil
Yih-Shou Hsieh, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan
Akihiro Inazu, Kanazawa University, Ishikawa, Japan
Inho Jo, Korean National Institute of Health, Seoul, The Republic of Korea
Saeed Jortani, University of Louisville, Louisville, Kentucky, USA

Jau-Tsuen Kao, National Taiwan University, Taipei, Taiwan
Ishmael Kasvosve, University of Zimbabwe, Harare, Zimbabwe
Jin Kim, Seoul National University (SNU), Jonglo-Gu, Seoul, The Republic of Korea
G.J. Kost, Davis, California, USA
Gert Kostner, Technische Universität Graz, Graz, Austria
Maode Lai, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, China
Michel Langlois, Algemeen Ziekenhuis Sint-Jan, Brugge, Belgium
Jian-Jun Li, Fu Wai Hospital, Beijing, China
Stephen Li, Children's Hospital at Westmead, Westmead, New South Wales, Australia
Liu, Chinese Academy of Sciences (CAS), Shanghai, China
Masato Maekawa, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan
Q. Meng, University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA
Takashi Miida, Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan
Mathias Müller, Austrian Society of Quality Assurance and Standardisation, Wien, Austria
Katsuyuki Nakajima, Tokai University School of Medicine, Maebashi, Gunma, Japan
Hobuo Okumura, Shinshu University, Matsumoto, Japan
Jorge Ordonez-Llanos, Hospital de Sant Pau, Barcelona, Spain
Mauro Panteghini, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy
Oscar Perez-Mendez, National Institut of Cardiology, Mexico City, Mexico
C.P. Price, Dagingworth, Cranoeater, UK
Kari Pulkki, University of Eastern Finland, Kuopio, Finland
Pete Rainey, University of Washington, Seattle, Washington, USA
Luis Salazar, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile
Francesco Salvatore, University of Naples Federico II, Naples, Italy
Mika-Erik Sarja, University of Helsinki, Helsinki, Finland
Simon Scharpé, Universiteit Antwerpen, Wilrijk, Belgium
Lawrence Silverman, Virginia Commonwealth University, Charlottesville, Virginia, USA
Patrick Sluss, Massachusetts General Hospital, Boston, Massachusetts, USA
Lori Sokoll, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, , Maryland, USA
Jillian Tate, Princess Alexandra Hospital, Brisbane, Queensland, Australia
John Toffaletti, Duke University, Durham, North Carolina, USA
Minoru Toyuka, Tokyo Medical and Dental University (TMDU), Tokyo, Japan
Li-Yu Tsai, Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan
Peter Vervaart, Royal Hobart Hospital, Hobart, Tasmania, Australia
Bin Wang, Nanjing Medical University, Nanjing, China
Xiaoping Wang, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an, China
Philip Wenham, Victoria Hospital, Kirkcaldy, UK
William Winter, University of Florida, Gainesville, Florida, USA
Steven Wong, Wake Forest University School of Medicine, Winston-Salem, North Carolina, USA
Stuart Woodhead, Invitron Limited, Monmouth, UK
Jiaxi Wu, Chinese Academy of Sciences (CAS), Shanghai, China
Ian Young, Queen's University Belfast, Belfast, Northern Ireland, UK

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Clinica Chimica Acta is a high quality journal which publishes original Research Communications in the field of clinical chemistry and laboratory medicine, defined as the diagnostic application of chemistry, biochemistry, immunochemistry, biochemical aspects of hematology, toxicology, and molecular biology to the study of human disease in body fluids and cells. The objective of the journal is to publish novel information leading to a better understanding of biological mechanisms of human diseases, their prevention, diagnosis, and patient management. Reports of an applied clinical character are also welcome. Papers concerned with normal metabolic processes or with constituents of normal cells or body fluids, such as reports of experimental or clinical studies in animals, are only considered when they are clearly and directly relevant to human disease. Evaluation of commercial products have a low priority for publication, unless they are novel or represent a technological breakthrough. Studies dealing with effects of drugs and natural products and studies dealing with the redox status in various diseases are not within the journal's scope. Development and evaluation of novel analytical methodologies where applicable to diagnostic clinical chemistry and laboratory medicine, including point-of-care testing, and topics on laboratory management and informatics will also be considered.

Types of paper

Full-length research articles, Review articles, Brief Reports and Case Reports.

Reports of new or improved methods should be as brief as is consistent with clarity (up to about 1,000 words). They should unequivocally identify the element of novelty claimed and the advantages over existing technology. Performance characteristics, including effects of interfering substances, comparisons with results of accepted methods and reference values based on appropriate population samples should be documented by adequate data. Citing of earlier publications is preferred to repetition of details for reagents, procedures, etc., which are always in print. Nevertheless, the information provided must suffice to allow readers to duplicate the work or to compare the technique with current practice.

Reviews are normally invited, however the Reviews Editor welcomes suggestions of potential topics and potential authors.

Contact details for submission

Papers should be submitted using the *Clinica Chimica Acta* online submission system <http://ees.elsevier.com/cca>. For questions on the submission and reviewing process, please contact the relevant Editorial Office.

For the Americas, Japan and Asia:

Alan H. Wu, San Francisco General Hospital us-cca@comcast.net

For Europe, Australia and all other territories:

Joris Delanghe, University Hospital Gent joris.delanghe@ugent.be

Reviews from all areas:

Greg S. Makowski Gmakowski@clpct.com

Please note that reviews are normally invited, however the Reviews Editor welcomes suggestions of potential topics and potential authors.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Policy and ethics

The work described in your article must have been carried out in accordance with *The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans* <http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>;

Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals <http://www.icmje.org> published by the International Committee of Medical Journal Editors.

This must be stated at an appropriate point in the article.

Please note: *Clinica Chimica Acta* does not accept submission of papers based on animal studies.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [Crossref Similarity Check](#).

Preprints

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Articles should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader, should contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess').

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. [More information.](#)

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information.](#)

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the gold open access publication fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our [universal access programs](#).
- No open access publication fee payable by authors.
- The Author is entitled to post the [accepted manuscript](#) in their institution's repository and make this public after an embargo period (known as green Open Access). The [published journal article](#) cannot be shared publicly, for example on ResearchGate or Academia.edu, to ensure the sustainability of peer-reviewed research in journal publications. The embargo period for this journal can be found below.

Gold open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- A gold open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For gold open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following [Creative Commons user licenses](#):

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The gold open access publication fee for this journal is **USD 3400**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <https://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our [green open access page](#) for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. [Find out more](#).

This journal has an embargo period of 12 months.

Elsevier Researcher Academy

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's WebShop.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Referees

A minimum of three suitable potential reviewers must be supplied (please provide their name, email addresses, and institutional affiliation). When compiling this list of potential reviewers please consider the following important criteria: they must be knowledgeable about the manuscript subject area; must not be from your own institution; at least two of the suggested reviewers should be from another country than the authors'; and they should not have recent (less than four years) joint publications with any of the authors. However, the final choice of reviewers is at the editors' discretion.

PREPARATION

Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. [More information on types of peer review.](#)

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced, with details of supplier and catalogue number when appropriate. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Patients

If human subjects were used in the experiment please make a statement to the effect that this study has been cleared by your Institution Ethics Review Board for human studies and that patients have signed an informed consent. These are required by standards.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

• **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

• **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

• **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

• **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required and should have no more than **200** words. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a

separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site.

Authors can make use of Elsevier's [Illustration Services](#) to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view [example Highlights](#) on our information site.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'or'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature and units

These should be in conformity with international practice relating to the use of SI units: thus concentrations of solutes of known molecular mass should normally be stated in mol/l or recognized submultiples thereof (nmol/l, etc.). Other solutes should be expressed in g/l, mg/l, etc. Reagent composition may be specified either in molar terms or in mass or volume of each solute per liter of final solution (% or w% should not be used). Enzyme activities should be reported in katal or U/l whenever possible and should be accompanied by a reference to, or a description of, the procedure used for the measurements.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support *Citation Style Language styles*, such as *Mendeley* and *Zotero*, as well as *EndNote*. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes.](#)

Users of *Mendeley Desktop* can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/clinica-chimica-acta>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the *Mendeley* plug-ins for *Microsoft Word* or *LibreOffice*.

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result'

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163 (2010) 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

[2] Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2018. The art of writing a scientific article. *Heliyon.* 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

[3] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[4] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304.

Reference to a website:

[5] Cancer Research UK, Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>, 2003 (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] [6] M. Oguro, S. Imahiro, S. Saito, T. Nakashizuka, Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1, 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. . In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Supplementary material captions

Each supplementary material file should have a short caption which will be placed at the bottom of the article, where it can assist the reader and also be used by search engines.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to Mendeley Data. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into one or multiple data articles, a new kind of article that houses and describes your data. Data articles ensure that your data is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. You are encouraged to submit your article for *Data in Brief* as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed and published in the open access data journal, *Data in Brief*. Please note an open access fee of 500 USD is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the [Data in Brief website](#). Please use [this template](#) to write your Data in Brief.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail (the PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use). For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication.

Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via [Elsevier's WebShop](#). Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or [find out when your accepted article will be published](#).

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>

ANEXO J – Normas da Revista do Artigo II

Information for Authors

Revised February 2019

Click to view an instructional video: [Tips for Online Manuscript Submission](#). This video covers a range of topics to help authors navigate the electronic submission system, including registration procedures, how to upload files, and what to include in the author disclosure forms.

- [Overview](#)
- [Standards for Reporting Scientific Data](#)
- [Tools for Diagnostic Accuracy](#)
- [Journal Policies](#)
- [Types of Submissions](#)
- [Manuscript Preparation](#)
- [Online Submission and Tracking](#)
- [Post-Acceptance](#)
- [Clinical Chemistry Editorial Office](#)

OVERVIEW

Clinical Chemistry, issued monthly, is published in print and electronically by the American Association for Clinical Chemistry. The journal welcomes contributions, either experimental or theoretical, in the field of laboratory medicine. It is the leading forum for peer-reviewed, original research on innovative practices in today's clinical laboratory. In addition to being the most cited journal in the field, *Clinical Chemistry* has the highest Impact Factor among journals of clinical chemistry, clinical (or anatomic) pathology, analytical chemistry, and the subspecialties, such as transfusion medicine and clinical microbiology.

Submissions of the following nature are welcomed:

- Basic materials or principles
 - Analytical techniques
 - Molecular diagnostics
 - Test utilization or testing-related health or financial outcomes
 - Instrumentation
 - Data processing
 - Statistical analyses of data
 - Clinical investigations in which laboratory testing has played a major role
 - Laboratory animal studies of chemically oriented problems of human disease
- Contributions should consist of subject matter that is original and significantly advances the state of knowledge of clinical chemistry, and conclusions that are justified from the design of the experiments and the data presented. The information must be sufficiently detailed to permit replication of the work by a competent worker in the field. Lastly, the writing must be clear, concise, and grammatically correct.

Equal consideration is given to original manuscripts in English from any country, regardless of membership in the Association. It is, however, advised that all non-English speaking authors

enlist the aid of a native-English speaking colleague to correct English language usage before submission. Submissions must adhere to the current International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals.

All *Clinical Chemistry* submissions, correspondence, and reviews must be in English. Manuscript content and writing responsibility remains with the author; however, several professional writing/editing services are available to assist authors. *Clinical Chemistry* does not endorse any editing service nor is *Clinical Chemistry* responsible for any services performed. These include but are not limited to:

www.bioedit.co.uk

www.bioscienceeditingsolutions.com

www.biosciencewriters.com

www.bluepencilscience.com

www.bostonbioedit.com

www.charlesworthauthorservices.com

www.editage.com

www.enago.com

www.journalexperts.com

www.prof-editing.com

www.sciencedocs.com

www.stallardediting.com

Contributions may be submitted via the manuscript tracking system at <http://submit.clinchem.org>.

The "Information for Authors" will offer assistance with journal style and requirements. Please contact the Editorial Office via e-mail should you have any questions or need assistance: clinchemed@aacc.org.

[Back to Top](#)

STANDARDS FOR REPORTING SCIENTIFIC DATA

- [Description of Analytical Methods and Results](#)
- [Statistics](#)
- [Studies with Human Subjects](#)
- [Animal Studies](#)
- [NIH Funding/Open Access Requirements](#)
- [Checklist for the Description of Sequence Variants at the Human Genome Variation Society](#)

DESCRIPTION OF ANALYTICAL METHODS AND RESULTS

Manuscripts describing the development and evaluation of the performance of methods and instruments should discuss linearity, imprecision, analytical specificity, recovery, lower limit of detection, comparability with other analytical methods, lower limit of quantification and reference interval(s). Some clinical data are usually needed.

Document the analytical advantages of the new or modified method over existing methods.

Analytical method validations should conform to the protocols and requirements in the Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Guidance for Industry: Bioanalytical Method Evaluation, 2001 (1).

Calibration curves and linearity: Data for these studies should be analyzed by linear regression analysis (if a linear response is obtained) and should include the slope, intercept, r^2 , standard deviation of residuals, and the standard deviations of the slope and intercept.

Standard deviations of repeated points may be included.

In preparing nonlinear calibration curves, authors may use any objective, statistically valid method but must specify the method used (see, e.g., (2)).

Imprecision: Studies must include estimates of "within-run" and "total" standard deviations (2).

Each should be determined at low, normal, and above-normal concentrations with use of specimens that are in an appropriate biological matrix.

One method for estimating both within-run and total standard deviations is the analysis of variance experiment described in NCCLS EP5-T (3), which calls for two replicates per specimen per run and two runs per day for 20 days. This permits separate estimation of between-day and between-run, within-day standard deviations, as well as within-run and total standard deviations. For acceptable alternatives that include only one run per day, see the cited document.

Indicators of Accuracy ("Trueness"): Accuracy (or "trueness" in the recent nomenclature) of a new method can be estimated by (a) analyses of certified Reference Materials by the new method or (b) comparisons of results of a new method with results of a Reference Method. These are the only accepted approaches to trueness. When neither is available, other evidence relevant to the ability of the method to measure the analyte (measurand) is needed. Recovery studies involve analyses after known amounts of analyte are added to the biological fluid on which the determination will be performed. Recovery of added analyte should be calculated [(final concentration – initial concentration)/added concentration], not the observed final concentration as a proportion of expected final concentration.

Interference studies should be performed to assess the effects of common interferents, including lipid particles, hemoglobin, bilirubin, and components of uremic plasma. Exogenous materials, such as ingredients of blood collection containers (tubes) and commonly used or commonly coadministered drugs that might interfere with the determination, should also be tested for

interferences. Selection of materials to test should be guided by an understanding of the chemistry and physics of the measuring system. Thus chemicals that are structurally similar to the analyte should be tested to assess the selectivity of the method. (The term “selectivity” is preferred over specificity; selectivity can be quantified.) In characterizing non-spectrophotometric methods, chemicals that may interfere in the detection system should be studied more intensively than chemicals that are historically important for interference in spectrophotometric methods.

Comparison-of-methods studies should compare results by the new or proposed method with those by a reference-quality method or other generally accepted analytical method for which assay performance is documented ([4](#), [5](#)).

It is desirable to test 100 to 200 different samples from patients who have been selected to include a wide variety of pathologic conditions and to present a range of values for the analyte that includes those likely to be encountered in routine application.

For a table of the required number of samples, see Linnet ([6](#)).

If regression analysis is used for statistical evaluation of the data, supply slopes and intercepts (and their standard deviations) and standard deviations of residuals ($Sy|x$, often called standard errors of estimates). Unbiased (e.g., Deming) regression is typically required ([7](#)). A program to perform Deming regression is available online as a supplement from this journal ([8](#)).

The correlation coefficient has limited utility. Residuals plots [e.g., Bland-Altman ([9](#), [10](#))] are often useful. On the horizontal axis, plot the mean of results by the two studied methods, not the result of one method.

Analytical sensitivity and detection limit: These terms are commonly confused. The International Union of Pure and Applied Chemistry defines analytical sensitivity as the ability of an analytical procedure to produce a change in signal for a defined change of the quantity. This is often visualized as the slope of the calibration curve.

The limit of detection (LOD) is defined as the lowest concentration or amount of an analyte that can be reliably identified as being qualitatively present in the sample. The limit of quantification (LOQ) is defined as the lowest concentration or amount of analyte that can be reproducibly quantified in a sample. The most acceptable criteria for ascertaining the LOQ is the concentration of analyte that can be measured with an imprecision of less than 20% and a deviation from target of greater or less than 20% ([1](#)). The operational definition of the LOD and LOQ must be supplied by the author. Additional considerations related to this topic are presented by Linnet ([11](#)).

Analytical quality: Results obtained for the performance characteristics should be compared objectively with well-documented quality specifications, e.g., published data on the state-of-the-art performance required by regulatory bodies such as CLIA 88, or recommendations documented by expert professional groups ([12](#)).

Reference interval (normal range): Depending on the conclusions of the accuracy studies, modification of an accepted reference interval may be indicated. Description of the reference

interval study should include details about sampling; selection of subjects, including their number, age, and sex distribution; the statistical method for summarizing the results ([13](#)); and other factors that would influence the values obtained.

Mass spectrometric assays must be evaluated for matrix effects (ion suppression or enhancement) ([14](#), [15](#)).

Chromatograms: Chromatograms from gas-liquid and liquid chromatography should usually be presented so that readers can see the efficiency of the separation and observe the resolution from interferences in the matrix. Similar images are often needed for electrophoretic separations.

Enzyme activities: Enzyme activities may be expressed in international units (U) or katal.

Temperature and other key assay features must be described in the text or by reference to a published method.

When first mentioned in the text, enzymes (whether measured by activity or mass assays) must be numbered (EC no.) in accordance with the recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the Nomenclature and Classification of Enzymes ([16](#)).

References:

- Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Guidance for Industry: Bioanalytical Method Evaluation, 2001.
- Linnet K, Boyd JC. Selection and analytical evaluation of methods – with statistical techniques. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th ed. St. Louis: Saunders, 2006: 353-407.
- NCCLS Tentative Guideline EP5-T. User evaluation of precision performance of clinical chemistry devices. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, June 1984.
- Carey RN, Garber CC. Evaluation of methods. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical chemistry. Theory, practice and correlation, 2nd ed. St. Louis: CV Mosby, 1989:290–310.
- Koch DO, Peters T Jr. Selection and evaluation of methods. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz textbook of clinical chemistry, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994:508–25.
- Linnet K. Necessary sample size for method comparison studies based on regression analysis. Clin Chem 1999;45:882–94. [[Abstract/Full Text](#)]
- Linnet K. Evaluation of regression procedures for methods comparison studies. Clin Chem 1993;39:424–32. [[Full Text](#)]
- Martin RF. General Deming regression for estimating systematic bias and its confidence interval in method-comparison studies. Data supplement. GDR: Executable program for general Deming regression calculations and graphics. [[Abstract/Full Text/Data Supplement](#)]
- Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet 1986;1:307–10. [[Abstract](#)]
- Altman DG, Bland JM. Commentary on quantifying agreement between two methods of measurement. Clin Chem 2002;48:801-2. [[Extract/Full Text](#)]
- Linnet K, Kondratovich M. Partly nonparametric approach for determining the limit of detection. Clin Chem 2004;50:732-40. [[Extract/Full Text](#)]
- Fraser CG, Petersen PH. Analytical performance characteristics should be judged against objective quality specifications. Clin Chem 1999;45:321–3. [[Extract/Full Text](#)]
- Solberg HE. Establishment and use of reference values. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz textbook of clinical chemistry, 4th ed. St. Louis: Saunders, 2006:425–48.
- Annesley TM. Ion Suppression in Mass Spectrometry. Clin Chem 2003;49:1041-44. [[Full Text](#)]

15. Matuszewski BK, Constanzer ML, Chavez-Eng CM. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. *Anal Chem* 2003;75:3019-30. [Abstract]
 16. International Union of Biochemistry and Molecular Biology, Nomenclature Committee. *Enzyme nomenclature* 1992. San Diego: Academic Press, 1992:862pp.
-

STATISTICS

Describe statistical methods with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results.

When possible, quantify findings and present them with appropriate indicators of measurement error or uncertainty.

Avoid sole reliance on statistical hypothesis testing, such as the use of P values, which fails to convey important quantitative information.

When appropriate, confidence intervals should be presented; see, e.g., Harris (1), Henderson (2), and references therein.

References:

1. Harris EK. On P values and confidence intervals (why can't we P with more confidence?) [Editorial]. *Clin Chem* 1993;39:927-8. [Full Text]
 2. Henderson AR. Chemistry with confidence: should Clinical Chemistry require confidence intervals for analytical and other data? [Opinion]. *Clin Chem* 1993;39:929-35. [Abstract/Full Text]
-

STUDIES WITH HUMAN SUBJECTS

Clinical Chemistry's policy regarding studies with human subjects adheres to the recommendations from the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). All investigators should ensure that the planning, conduct, and reporting of human research are in accordance with the Helsinki Declaration as revised in 2013 (<https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects>). All authors should seek approval to conduct research from an independent local, regional, or national review body (e.g., ethics committee, institutional review board). If doubt exists whether the research was conducted in accordance with the Helsinki Declaration, the authors must explain the rationale for their approach and demonstrate that the local, regional, or national review body explicitly approved the doubtful aspects of the study. Approval by a responsible review body does not preclude editors from forming their own judgment whether the conduct of the research was appropriate.

Patients have a right to privacy that should not be violated without informed consent. Identifying information, including names, initials, or hospital numbers, will not be published in written

descriptions, photographs, or pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and the patient (or parent or guardian) gives written informed consent for publication. Informed consent for this purpose requires that an identifiable patient be shown the manuscript to be published. Authors should disclose to these patients whether any potential identifiable material might be available via the Internet as well as in print after publication. Authors should obtain and archive written patient consent forms in accordance with local regulations or laws and will be required to attest in writing upon submission that they have received and archived written patient consent.

Nonessential identifying details should be omitted. Informed consent should be obtained if there is any doubt that anonymity can be maintained. For example, masking the eye region in photographs of patients is inadequate protection of anonymity. If identifying characteristics are de-identified, authors should provide assurance, and editors should so note, that such changes do not distort scientific meaning. When informed consent has been obtained, this will be indicated in the published article. Please note if informed consent has been received in the Materials and Methods section of the submitted manuscript.

ANIMAL STUDIES

Clinical Chemistry's policy regarding studies reporting experiments on animals adheres to the recommendations from the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). When reporting experiments on animals, authors should indicate whether institutional and national standards for the care and use of laboratory animals were followed. Further guidance on animal research ethics is available from the International Association of Veterinary Editors' Consensus Author Guidelines on Animal Ethics and Welfare (<http://www.veteditors.org/consensus-author-guidelines-on-animal-ethics-and-welfare-for-editors>).

NIH FUNDING/OPEN ACCESS REQUIREMENTS

The National Institutes of Health (NIH) has implemented its "Policy on Enhancing Public Access to Archived Publications Resulting from NIH Funded Research." This policy requests that authors reporting research that is funded (in whole or part) by a current NIH grant submit to NIH PubMed Central (PMC) manuscripts after they have been peer reviewed and accepted for publication in scientific journals. The "accepted manuscript" is the version of the manuscript after the author's final revision but before post-acceptance editing and copyediting. The Policy is available online at <https://publicaccess.nih.gov>. The policy applies to manuscripts accepted for publication in *Clinical Chemistry* on or after May 2, 2005.

The policy requests that the release date to the public be within 12 months after the official date of final publication. *Clinical Chemistry's* existing policy that has been in effect since the Journal first appeared online in 1998 is to make all content publicly available 12 months after publication date. Authors have the option to request that their papers be made freely available immediately at the time of online publication, for a fee of \$3500. For more information or to request open access publication, contact the Editorial Office at clinchemed@aacc.org.

If an author chooses to submit an accepted manuscript to PMC, he or she will be asked to indicate when that manuscript should be made available to the public. Consistent with our existing policy, the American Association for Clinical Chemistry (AACC) grants the author permission to allow public release of the accepted manuscript through PMC 12 months after publication in *Clinical Chemistry*.

Accepted manuscripts and published articles in *Clinical Chemistry* are protected by AACC's copyright at the time of publication and thereafter. All copyright restrictions apply.

The author's manuscript available on the PMC site is not the *Clinical Chemistry* article. This version of the manuscript may contain factual errors that were detected during the post-acceptance editing phase. Data, text, conclusions, tables, and figures may all differ from the published version available at www.clinchem.org. The final published version is the *Clinical Chemistry* article. *Clinical Chemistry* assumes no responsibility for earlier versions.

The AACC requires that authors add the following disclaimer to the manuscript before sending it to PMC:

"This is an un-copied authored manuscript copyrighted by the American Association for Clinical Chemistry (AACC). This may not be duplicated or reproduced, other than for personal use or within the rule of 'Fair Use of Copyrighted Materials' (section 107, Title 17, U.S. Code) without permission of the copyright owner, AACC. The AACC disclaims any responsibility or liability for errors or omissions in this version of the manuscript or in any version derived from it by the National Institutes of Health or other parties. The final publisher-authenticated version of the article is available at <http://www.clinchem.org>."

Authors may contact *Clinical Chemistry* via e-mail at clinchemed@aacc.org with any questions related to submitting their accepted manuscripts to PMC. More information from NIH can be found at <http://publicaccess.nih.gov/FAQ.htm>.

CHECKLIST FOR THE DESCRIPTION OF SEQUENCE VARIANTS AT THE HUMAN GENOME VARIATION SOCIETY

Requirements for the description of sequence variants can be found at <http://varnomen.hgvs.org/recommendations/checklist/>.

[Back to Top](#)

TOOLS FOR DIAGNOSTIC ACCURACY

- [Studies of Diagnostic Accuracy \(STARD\)](#)
 - [Outcomes Studies \(CONSORT\)](#)
 - [Minimum Information about a Microarray Experiment \(MIAME\)](#)
 - [Minimum Information about Quantitative Real-Time PCR Experiments \(MIQE\)](#)
-

STUDIES OF DIAGNOSTIC ACCURACY (STARD)

[STARD Checklist \[PDF\]](#)

[STARD Flowchart \[PDF\]](#)

STARD 2015 Statement: <http://clinchem.aaccjnls.org/content/clinchem/61/12/1446>

The Standards for Reporting Diagnostic Accuracy Studies (STARD) statement first appeared in 2003 ([1](#), [2](#)) and was updated in 2015 ([3](#)).

For studies of diagnostic accuracy of tests, complete the STARD Checklist for Evaluations of Diagnostic Accuracy ([3](#)) electronically upon submission. Do not send the checklist via e-mail or upload it as supplemental material.

The STARD statement ([3](#)) provides guidance helping authors to modify their manuscript as needed to provide the requested information. Guidelines include:

-Provide literature reference(s) describing the evaluated test(s) and criterion "gold standard" test(s) or include detailed descriptions of them.

-Follow accepted methodologic standards including the following:

1. Specify spectrum of evaluated patients (age and sex distributions, eligibility criteria, and summary of symptoms or disease stage).
2. Analyze pertinent subgroups of subjects (e.g., symptomatic and asymptomatic patients).
3. Avoid verification bias (usually by application of a "gold-standard" test to all subjects rather than to a clinically selected subset).
4. Categorize test results and patients independently to avoid reviewer bias (usually by performance of tests with blinding to patient information and vice versa).
5. Provide confidence intervals (or SE) for indices of diagnostic accuracy such as sensitivity/specificity, likelihood ratios, and areas under receiver-operating characteristic (ROC) curves ([4](#)).
6. Indicate the number of indeterminate test results and their use (if any) in further data analysis.
7. Provide laboratory data on analytical imprecision of the test (usually day-to-day CV at two or more concentrations) or reproducibility of observer interpretation (e.g., for a visually read, dichotomous [positive/negative] test).
-A flow diagram is strongly recommended ([3](#)).

-When evaluating diagnostic accuracy in clinical studies, simple testing of the significance of differences between mean values of patient groups (e.g., by Student's t-test) provides insufficient information to assess diagnostic accuracy.

-Scatter plots of data, calculations of diagnostic sensitivities and specificities and their confidence intervals (4), and use of approaches such as ROC curves (5), cumulative distribution analyses (6), likelihood ratios (7), and discriminant analysis (8) provide information that is appropriate to specific situations.

-Confidence intervals should be provided (3).

-Discussions of predictive values in illustrative settings may be useful additions to assess the potential clinical utility of tests.

-Analysis of serial measurements requires special attention (9).

References:

1. STARD Group. Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD statement. *Clin Chem* 2003;49:1-6. [[Abstract/Full Text](#)]
2. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, et al. The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration. *Clin Chem* 2003;49:7-18. [[Abstract/Full Text](#)]
3. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, et al. STARD 2015: An updated list of essential items for reporting diagnostic accuracy studies. *Clin Chem* 2015;61:1446–52. [[Full Text](#)]
4. Harper R, Reeves B. Reporting of precision of estimates for diagnostic accuracy: a review. *BMJ* 1999;318:1322-3. [[Full Text](#)]
5. Zweig MH, Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine [Review]. Note that in Figs. 4-12 in this paper, the labels for the x-axis at the top and bottom are reversed. The (correct) dual labeling of the x-axis solves the problem of whether to plot specificity or 1 - specificity on the x-axis. *Clin Chem* 1993;39:561-77. [[Abstract/Full Text](#)]
6. Krouwer JS. Cumulative distribution analysis graphs-an alternative to ROC curves [Technical Brief]. *Clin Chem* 1987;33:2305-6.
7. Albert A. On the use and computation of likelihood ratios in Clinical Chemistry. *Clin Chem* 1982;28:1113-9. [[Abstract/Full Text](#)]
8. Solberg HE. Discriminant analysis. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1978;9:209-42.
9. Matthews JNS, Altman DG, Campbell MJ, Royston P. Analysis of serial measurements in medical research. *Br Med J* 1990;300:230-5.

OUTCOMES STUDIES (CONSORT)

Outcomes studies (CONSORT)

CONSORT Checklist [PDF]

CONSORT Flowchart [PDF]

The CONSORT statement (1), although designed for randomized controlled trials and used for therapeutic rather than diagnostic interventions, is recommended as an often-useful guide.

For questions, contact *Clinical Chemistry* via e-mail at clinchemed@aacc.org.

References:

1. Moher D, Schulz KF, Altman DG for the CONSORT Group. The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel group randomized trials. www.consort-statement.org.

MINIMUM INFORMATION ABOUT A MICROARRAY EXPERIMENT (MIAME)

The MIAME Checklist can be found at <http://fged.org/projects/miame/>.

MIAME describes the minimum information about a microarray experiment that is needed to enable interpretation of the results of the experiment unambiguously and potentially to reproduce the experiment.

The MIAME checklist is a description of MIAME principles designed to help authors, reviewers, and editors of scientific journals meet MIAME requirements and to make microarray data available to the community in a useful way.

MIAME is neither a dogma nor a legal document - it assumes a cooperative data provider and a fair reviewer.

MINIMUM INFORMATION ABOUT QUANTITATIVE REAL-TIME PCR EXPERIMENTS (MIQE)
MIQE Checklist [PDF]

For studies that include quantitative real-time PCR experiments, complete the MIQE checklist for evaluation of qPCR experiments during electronic submission. Do not send the checklist via e-mail or upload it as supplemental material. The full text of the MIQE guidelines is available online: <http://www.clinchem.org/cgi/content/short/55/4/611>. A PDF version for all essential components of the checklist can be obtained by the link above.

Recommended nomenclature should be used, including:

- **qPCR** for quantitative real-time PCR
- **RT-qPCR** for reverse transcription quantitative real-time PCR
- **reference genes** instead of housekeeping genes
- **hydrolysis probes** instead of TaqMan® probes
- **dual hybridization probes** for HybProbes® (LightCycler®) probes
- **quantification** instead of quantitation
- **C_q** instead of Ct, Cp, or TOP
- **quantification cycle** instead of threshold cycle or crossing point

Authors are also encouraged, but not required, to include the additional desirable items of the MIQE guidelines (1). The MIQE guidelines are intended to help authors plan, perform and present qPCR experiments. They are also a guide for reviewers and editors to judge the quality of qPCR data. Incomplete information may be grounds for manuscript rejection. Use of Supplemental Data is encouraged as necessary. The most common errors in performing and reporting qPCR data include:

1. Not enough information for others to replicate the experiment, including how the nucleic acid was prepared, reverse transcribed, and amplified. Primer sequences are required. Probe sequences are strongly encouraged especially in methods manuscripts, but their omission may be acceptable in clinical manuscripts if they are commercially available as products.

2. Inadequate storage and/or nucleic acid preparation, leading to poor nucleic acid quality and variable results.
3. Suboptimal primers for reverse transcription and/or PCR resulting in low yield, specificity and/or PCR efficiency.
4. Inappropriate analysis of data.
5. Use of a single reference gene in RT-qPCR without justification (2).
The guidelines require not only delineation of what was done, but presentation of evidence that validates the method used. For example, these include evidence of RNA integrity and purity, PCR specificity, calibration curves and calculations of PCR efficiency and limits of detection. At the option of the editor, MIQE requirements may be relaxed in reports using qPCR arrays, although all manuscripts will be judged on their relative merit, and the relative merit of a manuscript using qPCR increases as compliance with the MIQE guidelines increases.

References:

1. Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellems J, Huggett J, Kubista M, Mueller R, Nolan T, Pfaffl MW, Shipley GL, Vandesompele J, Wittwer CT. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin Chem*. 2009 Apr;55(4):611-22.
2. Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, Speleman F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol*. 2002 Jun 18;3(7):RESEARCH0034.

[Back to Top](#)

JOURNAL POLICIES

- [Originality](#)
- [Preprints](#)

ORIGINALITY

Clinical Chemistry adheres to the recommendations from the [International Committee of Medical Journal Editors \(ICMJE\)](#) and the [Committee on Publication Ethics \(COPE\)](#) for guidance on policies and procedures regarding overlapping publications. Misconduct including, but not limited to, the following is strictly prohibited and will result in immediate removal of a paper from consideration by the journal.

Duplicate Submissions

Submissions that are under review or that have been previously published with another journal.

Duplicate Publications and Plagiarism

Manuscripts that have substantial overlap with a manuscript that has already been published, without proper citation.

[Back to Top](#)

PREPRINTS

Clinical Chemistry will consider submitted papers that have had a previous version posted on a noncommercial preprint server on a case-by-case basis. In examining submissions with an existing preprint, the editors will consider such factors as whether the submitted manuscript will add meaningful new information to the literature. Authors must declare at first submission that their paper is available as a preprint and must provide the name of the preprint server, the DOI, and a link to the preprint. This information should be included in the cover letter to the editor as well as in the designated field in the submission system. If the authors fail to declare the existence of a preprint at initial submission, this may be cause for rejection.

A manuscript may not be posted to a preprint server once it has already been submitted and is under consideration by the journal. Editors will not look favorably on work generated by a particular methodology that has only been listed or referenced in the preprint and has not gone through the peer-review process.

Authors must retain their copyright to the preprint and will be required to transfer copyright to the journal if the manuscript is accepted. The preprint itself cannot be indexed in PubMed or MEDLINE.

Upon publication in *Clinical Chemistry*, authors must contact the preprint server and have the preprint updated with a link to the published article, including the new *Clinical Chemistry* DOI. Preprints may be cited in the references section; however, the editors will determine their suitability on a case-by-case basis. References to non-peer-reviewed, methods-based papers are not permitted. References to preprints should follow this format:

Mao Q, Chin R, Xie W, Deng Y, Xu H, Zhang RY, et al. Advanced whole genome sequencing and analysis of fetal genomes from amniotic fluid. Preprint at <https://www.biorxiv.org/content/early/2017/08/08/173807> (2017).

An [editorial](#) by the editors of *Clinical Chemistry* provides more details about the journal's philosophy on preprints.

[Back to Top](#)

TYPES OF SUBMISSIONS

[Article](#)

[Citation Classic](#)

[Clinical Case Study / Commentary](#)

[Clinical Chemist](#)

[Clinical Toxicology Series](#)

[Correction](#)

[Opinion](#)

[Perspective](#)

[Point/Counterpoint](#)

[Q&A](#)

[Reflection](#)

[Review](#)

Editorial

Genetic Metabolic Series

Inspiring Minds

Letter to the Editor / Reply

Mini-Review

Obituary

News & Views

Special Report

Unveiling the Right Side

What Is Your Guess?

ARTICLE

Research or scientific articles are submitted directly from authors. There are no restrictions on topics that are considered for publication, as long as the subject matter is original and relates experimentally or theoretically to the field of laboratory medicine. The information must be sufficiently detailed not only to enable readers to understand and appreciate the material presented, but also to permit replication of the work by other scientists in the field.

Articles should contain a structured abstract limited to 250 words and formatted to include separate headings of: Background, Methods, Results, and Conclusions. The main text should not exceed 3,500 words. The manuscript should have no more than 40 references and a total of 6 tables and/or figures. Supplemental data are permitted for Articles.

Articles should list no more than 20 authors, with any additional contributors listed in the Acknowledgments. Although exceptions are rare, you may email clinchemed@aacc.org detailing each author's contribution to your submission, which will be forwarded to the editor.

Authors may submit short videos to complement their Articles. Videos can be used to illustrate a laboratory technique, hardware prototype, or clinical presentation that would benefit from such an addition, or to visually communicate to the reader novel features, special steps in a procedure, pitfalls, or other information that may not be easily conveyed through text or a figure. Videos should be of high quality, no more than 5 minutes in length, and submitted as .mp4 files. Please do not send proprietary file types such as .wmv (Windows Media) and .rm (Real Media) files.

Authors of Articles will be prompted at submission to provide a brief summary of their work, not to exceed 100 words. In the event of acceptance, this will be recorded and included as an audio file in all online versions of the table of contents. The Audio Summary should address the following questions:

1. What was the paper about/what was the rationale for the study?

2. How did you approach the problem?
 3. What were your findings?
 4. What are the implications of the findings and how do they add to the field?
- A simple phonetic spelling of the first author's full name should also be provided.
-

CITATION CLASSIC

Citation Classics are typically invited submissions that highlight a landmark article in the field of clinical chemistry. In this feature, one of the authors of the original article provides some historical insights and anecdotal stories surrounding its publication.

Citation Classics should not include an abstract and are limited to 600 words, no more than 6 references, and no more than 5 authors. Generally, tables and figures are not permitted; however, if the text does not exceed 500 words, one table or figure will be allowed. Also, supplemental data are not permitted for Citation Classics.

CLINICAL CASE STUDY / COMMENTARY

Clinical Case Studies are submitted directly from authors. These articles are intended to be educational, with the goal of helping to develop or improve problem-solving skills. Clinical Case Studies may report unusual (although not necessarily rare) biochemical manifestations of disease, atypical presentation of disease, situations where the laboratory helped in making or clarifying a diagnosis, or information that would be helpful in understanding the pathophysiology of a disease.

Two accompanying commentaries will introduce additional concepts that may be useful to readers, discuss confounding factors that might affect a diagnosis or analytical result, and/or provide comments about the case itself. Commentaries are invited and authored by clinical chemists, physicians, or scientists with expertise in the area.

A Clinical Case Study should not include an abstract. It should, however, include a case description followed by the case discussion, limited to 1,500 words total. References are limited to 10, and the tables and figures are limited to 2 in total. Authors should include 3-5 brief questions regarding the case that would stimulate discussion and learning about the disease state. These questions will be circulated to educational centers before publication. The author should also list up to 5 points to remember at the end of the manuscript. The questions and points are not included in the manuscript count of 1,500 words. The case should read as a bit of a mystery or diagnostic dilemma. The case title, case description, and questions should not

disclose the diagnosis. Supplemental data are not permitted for Clinical Case Studies. No more than 5 authors should be listed.

Commentaries are limited to 300 words, with no more than 1-2 references. They should not include an abstract or tables and figures and should have no more than 5 authors. Supplemental data are not permitted for Commentaries.

CLINICAL CHEMIST

This monthly feature provides a forum for informing readers about general items of interest.

Topics might include announcements for upcoming conferences, awards received by members of the AACC, announcements of new features in the journal, humorous items, artwork or photographs from readers, or general scientific news. Readers may submit items for consideration in the following categories: [Unveiling the Right Side](#), [What Is Your Guess?](#), [Genetic Metabolic Series](#), and [Clinical Toxicology Series](#), following the specific guidelines for each. The editors will make the final decision on the appropriateness and priority for inclusion in this section of the journal.

Please note that the journal is not currently considering unsolicited submissions to the Technology Corner, Science in the Arts, and Best of *Clinical Chemistry* sections.

CLINICAL TOXICOLOGY SERIES

The Clinical Toxicology Series falls under the Clinical Chemist and contains short clinical cases in toxicology. Each article will include a case description (no more than 75 words), 3 questions, a case discussion (no more than 250 words), and no more than 5 references.

CORRECTION

Corrections are unique and will be considered on a case-by-case basis. Authors are encouraged to contact the Editorial Office at clinchemed@aacc.org should they wish to submit a Correction or should they find a printer error that needs correcting.

EDITORIAL

These are typically invited submissions. Editorials provide opinions and observations by an expert in the field about the subject matter or content of a scientific paper published in *Clinical Chemistry*.

In addition to further educating readers on a selected topic, Editorials are designed to stimulate readers to formulate their own opinions about a paper and its value to the field. In some cases, Editorials may also be independent opinions and observations about a controversial topic or changes taking place in the field.

Editorials are limited to 1,500 words. They should not include an abstract. References are limited to 15, and tables and figures are not permitted. No more than 5 authors should be listed. Supplemental data are not permitted for Editorials.

GENETIC METABOLIC SERIES

The Genetic Metabolic Series falls under the Clinical Chemist and contains short clinical cases in biochemical genetics. Each article will include the actual case presentation, a chromatogram, the biochemical pathway of the defect, and a short case discussion. Submissions should not exceed 600 words in length and should include no more than 2 tables or figures and 5 references.

INSPIRING MINDS

These biographical articles are commissioned to present the achievements of distinguished clinical chemists, as well as their philosophical views on their professional life and the field of clinical chemistry.

LETTER TO THE EDITOR / REPLY

Letters are submitted directly from authors and can be used to report an observation or to discuss a previously published original Article. Letters in response to papers other than Articles will not be considered for publication. Letters report observations on interferences, suggestions to improve test performance, or other observations that are of importance to the wider audience. A Reply to a Letter may also be solicited by the editors. The one figure or table provided should be concise and should not be multipart (i.e., Fig. 1A, 1B, 1C, Part 1, Part 2).

A Letter to the Editor is limited to 750 words. It should not include an abstract. The references are limited to 5, and only 1 table or figure is permitted. Supplemental data are not permitted for Letters to the Editor.

A Reply is limited to 750 words. It should not include an abstract. The references are limited to 5, and only 1 table or figure is permitted. Supplemental data are not permitted for Replies.

Letters to the Editor and Replies should list no more than 8 authors, with any additional

contributors listed in the Acknowledgments. Although exceptions are rare, you may email clinchemed@aacc.org detailing each author's contribution to your submission, which will be forwarded to the editor.

In some instances, editors may request that a submission of another article type to *Clinical Chemistry* be decreased to meet the requirements of a Letter to the Editor.

MINI-REVIEW

Mini-Review articles are typically invited submissions. Mini-Reviews are intended to provide a general overview of a topic. Basic information is provided, along with selected references that can aid the reader in obtaining additional information about the subject. The use of illustrative figures or tables is encouraged.

A Mini-Review article should consist of a structured abstract limited to 250 words with headings of Background, Content, and Summary. The text should not exceed 3,500 words. The manuscript should have no more than 40 references and a total of 4 tables and/or figures. Supplemental data are permitted for Mini-Review articles.

Mini-Reviews should list no more than 5 authors, with any additional contributors listed in the Acknowledgments. Although exceptions are rare, you may email clinchemed@aacc.org detailing each author's contribution to your submission, which will be forwarded to the editor.

NEWS & VIEWS

News & Views submissions fall under the Clinical Chemist section. These are brief pieces, typically an announcement or short overview of a subject that is of interest to readers. News & Views should be no more than 500 words, with a maximum of 1 table or figure. No more than 5 authors should be listed.

OBITUARY

Obituary announcements and associated biographies can be commissioned by the Journal or submitted by authors. Prior to submission of an Obituary, authors should contact the Journal with information about the person who has passed away and with a description of the individual's career achievements and unique contributions. A decision will then be made on proceeding with the Obituary.

Obituaries should include personal information about the deceased (birthplace, education, place of residence, employment), highlights of this person's achievements (research accomplishments, awards, elected positions, committees, service to the profession), and anecdotal information about what made the person unique.

Obituaries are limited to 600 words with no abstract, references, or tables. One figure/image file is permitted. Supplemental data are not permitted for Obituaries.

OPINION

Opinion articles are invited submissions that present the belief or personal view of the author(s) on a specific topic. An opinion implies a conclusion thought out yet open to dispute. Opinion articles are often a formal expression by an expert of his/her judgment or advice. Unlike Editorials and Letters to the Editor, Opinion articles do not comment on, or refer to, specific papers published in the journal.

An Opinion should not include an abstract and is limited to 1,500 words, 15 references, 1 table or figure, and no more than 5 authors. Supplemental data are not permitted for Opinions.

PERSPECTIVE

These articles are invited submissions. Perspectives highlight a clinical, analytical, or basic science report that was published in a journal other than *Clinical Chemistry* but has implications for the practice of clinical chemistry.

Perspectives should not include an abstract. They are limited to 1,500 words, 5 references, 1 table or figure, and no more than 5 authors. Supplemental data are not permitted for Perspectives.

POINT/COUNTERPOINT

These articles are typically invited submissions from experts in a selected discipline and provide different viewpoints on a topic that may be controversial, lacks consensus in the scientific community, or may be of high public interest. In most cases an author or group of authors is asked to write the first half of the article, describing the importance of the topic, challenges to be addressed, current limitations, and/or unmet needs. A second author or group of authors is invited to provide a "Counterpoint" discussion of a different viewpoint or critical factors.

Point/Counterpoint submissions should not include an abstract. The manuscript is limited to 1,500 words, 15 references, and 1 table or figure. Supplemental data are not permitted for Point/Counterpoint.

Q&A

This invited feature is meant to highlight a timely and important issue, either clinical or analytical, through a series of questions posed to leaders in the field by a moderator. The moderator is required to include 1) an introductory paragraph and 2) the following for each expert: a high-resolution, publication-quality photograph, and the expert's professional title and institutional affiliation. Five to 8 questions may be posed to 3 to 5 experts with the moderator documenting the answers. Submissions are limited to 5,000 words.

REFLECTION

These articles are invited submissions. Reflections are authored by highly accomplished scientists in their field who have greatly contributed to science. Reflections will be reserved for special issues and will focus on the specific advancements the individual has made in his or her field.

Reflections are limited to 2,000 words and should not include an abstract. The references are limited to 20, and 1 table or figure is permitted. Supplemental data are not permitted for Reflections.

REVIEW

Review articles are typically invited submissions. Reviews are intended to provide comprehensive coverage of a topic, including background clinical or analytical information, the relevance and importance of the subject matter, and potential future directions. The use of illustrative figures or tables is encouraged.

A Review article should consist of a structured abstract with headings of Background, Content, and Summary limited to 250 words. The text should not exceed 5,000 words. The manuscript should have no more than 75 references and a total of 6 tables and/or figures. Supplemental data are permitted for Review articles.

Reviews should list no more than 15 authors, with any additional contributors listed in the

Acknowledgments. Although exceptions are rare, you may email clinchemed@aacc.org detailing each author's contribution to your submission, which will be forwarded to the editor.

SPECIAL REPORT

Special Reports may be submitted directly by authors or invited by the journal. The types of papers that would be considered include consensus reports, guideline development, position statements, or evidence-based recommendations on test utilization or quality specifications. The editors may also decide to classify other miscellaneous submissions under this heading.

A Special Report should consist of a structured or unstructured abstract limited to 250 words. The main text should be no more than 5,000 words. The manuscript should have no more than 40 references and a total of 4 tables and/or figures. Supplemental data are permitted for Special Reports.

Special Reports should list no more than 20 authors, with any additional contributors listed in the Acknowledgments. Although exceptions are rare, you may email clinchemed@aacc.org detailing each author's contribution to your submission, which will be forwarded to the editor.

UNVEILING THE RIGHT SIDE

Submissions should highlight the creative side of someone in the field of chemistry. This can be poetry, a short story, photographs, or other creative artwork. Submissions are limited to 400 words and/or one image, photograph, or poem. All submissions are subject to review. Cover letter should state interest in contributing to Unveiling the Right Side and must be submitted under the category of Clinical Chemist.

WHAT IS YOUR GUESS?

Submissions for this 1-page quiz should consist of an image or lab values, a case description (no more than 75 words), 3 questions, case discussion (no more than 75 words), and no more than 5 references. Cover letter should state interest in contributing to What Is Your Guess? and must be submitted under the category of Clinical Chemist.

What Is Your Guess? submissions should list no more than 5 authors. Although exceptions are rare, you may email clinchemed@aacc.org detailing each author's contribution to your submission, which will be forwarded to the editor.

[Back to Top](#)

MANUSCRIPT PREPARATION

- [Author Contribution Requirements](#)
 - [Manuscript Guidelines](#)
 - [Submission/Publication Fees](#)
 - [Journal Categories](#)
 - [Title Page](#)
 - [Abstract](#)
 - [Text](#)
 - [Disclosures/Conflict of Interest](#)
 - [Acknowledgments](#)
 - [References](#)
 - [Tables](#)
 - [Figure Captions](#)
 - [Figures](#)
 - [Color](#)
 - [Supplemental Data](#)
-

AUTHOR CONTRIBUTION REQUIREMENTS

General Guidelines

Clinical Chemistry follows the [recommendations](#) for authorship set out by [The International Committee of Medical Journal Editors \(ICMJE\)](#). In accordance with these recommendations, manuscripts are considered for publication with the understanding that each listed author must meet the following criteria:

- 1. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND
 2. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND
 3. Final approval of the version to be published; AND
 4. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.Author limits may be imposed for certain submission types. Please review the specific requirements for your submission type. Please list only the allowed number of authors in the author list, with the remaining contributors listed in an Acknowledgment. Exceptions may be made at the discretion of the editor.

If more than one author should be considered as the first authors, or as the corresponding authors, please indicate this clearly in a footnote on the first page of the manuscript.

Any alterations made to the manuscript after submission must be approved by the editor. Authors may upload the request letter to the online submission system as a supplemental file or send the letter via e-mail to the *Clinical Chemistry* editorial office at clinchemed@aacc.org. The editor may

contact any of the authors and/or contributors to ascertain whether they have agreed to any alteration.

1. The ICMJE Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals state that contributors who do not meet all 4 criteria for authorship should be named in the acknowledgments.
2. Important contributions to an article should be recognized and appropriately attributed in that article.

Good medical writers and editors can make valuable contributions to the publication process, often improving the clarity of the communication, broadening the scope of literature review, providing an extra level of data review, adding balance and objectivity, and shortening the time needed for manuscript development.

The American Medical Writers Association (AMWA) believes that these important contributions deserve recognition.

3. Readers benefit from knowing about the involvement of professional writers and editors. Disclosing the editorial contribution and the source of funding of the writer and editor allows the reader to make informed judgments about the objectivity of the article.

Note that the AMWA position statement recommends acknowledgment of pertinent professional or financial relationships as well as acknowledgment of the contributions of writers and editors. It also recommends that the person being acknowledged be given the opportunity to grant or refuse permission for the acknowledgment.

Changing the Author List

Any change in authors and/or contributors after initial submission must be approved by all authors. This applies to additions, deletions, change of order to the authors, or contributions being attributed differently. If a change is made to the author list after submission or during any revision, the submitting author must send an e-mail to clinchemed@aacc.org explaining the reason for the change and copying all authors for their approval. Any additions or deletions must be made in the electronic submission record as well as on the manuscript itself. At revision, be sure to select "Yes, the authorship has changed" when prompted.

Group Authorship

If you are including the name of a group or consortium in your author list, please clearly identify the group members who can take credit and responsibility for the work as authors by listing them in a footnote or at the end of the manuscript. Please also provide email addresses for each listed group member, either in the manuscript or by emailing clinchemed@aacc.org. All members of the group named as authors should meet all four criteria for authorship, including approval of the final manuscript, and they should be able to take public responsibility for the work and should have full confidence in the accuracy and integrity of the work of other group authors. They will also be required as individuals to complete the author disclosure and contribution forms. This is in accordance with the recommendations of ICMJE.

MANUSCRIPT GUIDELINES

- MS Word document (.doc or .docx) is required for all submissions.

- All figures must be uploaded separately as Image Files in Tagged Image File Format (.tiff), Encapsulated Postscript (.eps) or PowerPoint (.ppt) with embedded fonts.
- All submissions must be double-spaced, 1 inch margin, twelve-point font size in Arial, Helvetica, Times New Roman and Symbol font (for non-text characters).
- All submissions must be page numbered.
- All submissions must have line numbers included in the text.
- Do not use headers or footers.
- Use standard abbreviations and define all nonstandard abbreviations.
- All submissions require a title page.
- Reporting of Concentration Units:
 1. Analyte concentrations will be expressed in the text in the traditional mass unit (mg/dL, ng/ml, and so forth) followed by the SI unit in parentheses. Exceptions would include those analytes in which SI units are used globally, such as electrolytes (use mmol/L for sodium, potassium, chloride, and CO₂ values), or cases in which the traditional unit and the SI unit differ by only a factor of 1000 in both the numerator and denominator (e.g., ng/mL vs µg/L). In such cases, the unit of measure consistent with common practice will be used.
 2. The unit of measure mg/L should be used only when referring to SI units or when national or international guidelines require or recommend that the concentration of an analyte be expressed in that unit of measure, such as for high-sensitivity C-reactive protein. The unit of measure U/L will be used for most enzyme activities.
 3. Only traditional units will be used for tables and figures in the printed version of a report; SI conversion factors will be provided in legends. All tables and figures will also be presented in SI units. These tables and figures will be made available in online supplements to published articles and letters. Authors will provide both versions before final acceptance of a manuscript. SI units are available at Bureau International des Poids et Mesures.
- Supplemental Data are accepted for online publication only and are limited by submission types (See Types of Submissions for details).
- Follow the guidelines for length restrictions, abstract, reference, table and figure, and supplemental data limits as outlined in the chart below:

Type of Submission	Word Limit*	Structured** (S) or Unstructured (U)		Maximum Number of References	Total Number of Tables/Figures	Supplemental Data Permitted
		Abstract:	Word Limit			
Article	3,500	S:	250	40	6	Yes
Citation Classics	600	Nonapplicable		6	Nonapplicable	No
Clinical Case Studies (Case description) w/ 3-5 questions and up to 5 points to remember	1,000 (500)	Nonapplicable		10	2	No
Commentary	300	Nonapplicable		2	Nonapplicable	No
Editorial	1,500	Nonapplicable		15	Nonapplicable	No
Letter to the Editor / Reply	750	Nonapplicable		5	1***	No
Mini-Review	3,500	S:	250	40	4	Yes

Obituary	600	Nonapplicable	Nonapplicable	1	No
Opinion	1,500	Nonapplicable	15	1	No
Perspective	1,500	Nonapplicable	5	1	No
Point/Counterpoint	1,500	Nonapplicable	15	1	No
Reflection	2,000	Nonapplicable	20	1	No
Review	5,000	S: 250	75	6	Yes
Special Report	5,000	S or U: 250	40	4	Yes

*Word limit consists of the body of the manuscript only; it does not encompass the title page, abstract, acknowledgments, references, tables, figure legends, figures, or Clinical Case descriptions, questions, and points to remember.

**Structured abstracts contain the headings (1) BACKGROUND, (2) METHODS, (3) RESULTS, (4) CONCLUSIONS for all applicable article types except for Reviews and Mini-Reviews. Abstracts for Reviews and Mini-Reviews contain the headings (1) BACKGROUND, (2) CONTENT, (3) SUMMARY.

***If a figure accompanies the paper, the image should not be multipart (i.e., Fig. 1A, 1B, 1C, Part 1, Part 2).

SUBMISSION/PUBLICATION FEES

Authors are not required to pay submission fees in order to submit their work to *Clinical Chemistry*. If color figures are present in the submission, authors of accepted papers may be required to pay [a fee for color printing](#) at the time of publication.

Authors have the option to request that their papers be made open access immediately at the time of online publication, for a fee of \$3500. For more information or to request open access publication, contact the Editorial Office at clinchemed@aacc.org. All papers are made open access one year after publication.

JOURNAL CATEGORIES

Articles are grouped in the journal according to subject. Upon submission, authors are required to select the journal category that best describes their manuscript from the list indicated below:

- Molecular Diagnostics and Genetics (MDG)
- Evidence-Based Laboratory Medicine and Test Utilization (TUO)

- Hemostasis and Thrombosis (HAT)
- Proteomics and Protein Markers (PPM)
- Cancer Diagnostics
- Lipids, Lipoproteins, and Cardiovascular Risk Factors (LLP)
- Drug Monitoring and Toxicology (DMT)
- Hematology (HEM)
- Endocrinology and Metabolism (END)
- Point-of-Care Testing
- Automation and Analytical Techniques (AAT)
- Informatics and Statistics
- Laboratory Management (LMA)
- General Clinical Chemistry (GCC)
- Animal Clinical Chemistry (ANI)
- Clinical Immunology (CLI)
- Pediatric Clinical Chemistry (PED)
- Nutrition (NUT)
- Infectious Disease
- Other Areas of Clinical Chemistry (OTH)

TITLE PAGE

The first page of the manuscript should include the following information:

1. full title of submission, which should include only generic, not trade, names when describing a test, assay, etc.;
2. running head of fewer than 50 characters (including spaces);
3. list of all authors (first name, middle initial, and last name, in that order);
4. names of each author's institution (for Q&As only, also include the professional title for each participating expert);
5. name, address, telephone and fax number, and e-mail address of the corresponding author;
6. keywords;
7. any previous presentation of the manuscript;
8. list of abbreviations, in order cited; and
9. list of any "Human Genes" discussed in the paper. For each gene, indicate the gene symbol and gene name approved by the [HUGO Gene Nomenclature Committee](#). Include other name(s) that are used in the paper or are widely used in the literature for the gene.

ABSTRACT (STRUCTURED AND UNSTRUCTURED)

Structured abstracts should be formatted to include separate headings of: Background, Methods, Results, and Conclusions. For Mini-Review and Review articles the headings should be: Background, Content, and Summary. Both structured and unstructured abstracts are subject to a limit of 250 words.

Unstructured abstracts do not require separate headings.

Citation Classics, Clinical Case Study, Commentary, Editorial, Inspiring Minds, Letters to the Editor, Reply, Obituary, Opinion, Perspective, and Point/Counterpoint submissions do not require an abstract.

In addition to appearing at the beginning of the manuscript, abstracts must be uploaded to the abstract field of the Manuscript Metadata page online upon submission.

TEXT

The body of the manuscript should be written as concisely as possible and must not exceed the manuscript category word limits described herein. All pages must be double-spaced and all lines numbered. The body of the paper should include: Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion.

- Introduction - why was the study undertaken?
 - Materials and Methods - how was the study done?
 - Results - what did the study find?
 - Discussion - what might it mean, why does it matter, what next?
- Full corporate names of manufacturers of materials should be utilized (omit Inc., Co., GmbH and similar words). After the first mention, use a shorter name (e.g., for Bio-Rad Laboratories, use Bio-Rad). Only the manufacturer's name should be used, unless the item in question was a gift, in which case the city, state, and e-mail or website of the company should be included.

Reporting of Concentration Units: Analyte concentrations will be expressed in the text in the traditional mass unit (mg/dL, ng/ml, and so forth) followed by the SI unit in parentheses.

Use of human subjects requires a statement in the text indicating whether the procedures followed were approved by your institution's responsible committee or were in accordance with the current revision of the Helsinki Declaration and whether subjects gave informed consent.

Accession numbers for data sets or sequence reads that have been deposited in a public database should be provided in the Materials and Methods section of the text.

Where applicable, a ClinicalTrials.gov identifier for a registered clinical study should be listed both at the end of the abstract and at the first mention of the trial acronym in the main text.

DISCLOSURES/CONFLICT OF INTEREST

All authors are required to complete a full disclosure form upon submission. Please note that the form is not limited to those disclosures that constitute a potential conflict of interest. The disclosure form is electronic and completed during the submission process within the Bench>Press submission system. Disclosures should not be included in an Acknowledgment or elsewhere within the submitted manuscript file. All grants or other forms of research funding applicable to the report, as well as all relevant employment or leadership roles, consulting or

advisory relationships, stock ownership, and patents occurring within the previous 36 months should be included in this form. The recipient(s) of all applicable grants or other funding must be specified. Failure to adhere to this guideline may result in a return of the submission to the author for correction.

In order to complete disclosures, register with *Clinical Chemistry* at <http://submit.clinchem.org/cgi/registration> using a valid e-mail address. Each author is required to be registered and must individually complete the disclosures. If you are registered under a different e-mail address from the one the submitting author has provided, you will not be able to access the disclosures. After registration, the system may take up to 15 minutes to refresh before the disclosure form appears.

Each author is expected to disclose any relevant financial relationships held personally within the last 36 months. Any companies or proprietary entities producing scientific services, which have an investment, licensing, or other commercial interest in the subject matter under consideration in the submitted manuscript, must be disclosed.

Such information is held in confidence while the manuscript is under review and does not influence the editorial decision on reports of research; upon acceptance, relevant information is added to the manuscript for publication.

Authors of editorials are expected to be free of significant financial associations with companies that may be affected by topics discussed in the manuscript and must also complete a full disclosure at the time of submission.

The American Medical Writers Association (AMWA) recognizes the valuable contributions of biomedical communicators to the publication team. Biomedical communicators who contribute substantially to the writing or editing of a manuscript should be acknowledged with their permission and with disclosure of any pertinent professional or financial relationships. In all aspects of the publication process, biomedical communicators should adhere to the AMWA code of ethics.

ACKNOWLEDGMENTS

Acknowledgments are limited to 60 words and should follow the main text of the manuscript directly above the reference section in a separate paragraph heading labeled "Acknowledgments." They should not appear as footnotes.

Do not include financial support, or other disclosure/conflict of interest information in the Acknowledgment. This information should be included in the Author Disclosure/Conflict of Interest form. If you include research funding in the Acknowledgment, you must specify which author or

authors received the funding or if the funding was given to the group or institution. Editorial staff will transfer this information to the disclosure section prior to publication if the paper is accepted.

REFERENCES

References should appear in a separate section directly following the body of the manuscript. The section must be labeled "References" with no additional punctuation. In-text citations should correspond to the numbered references in this list and should be formatted as follows: (1) or (1, 2).

- Italic or boldface type is prohibited in the referenced citations.
 - List and number the references in the order that they appear in the text.
 - Do not use the MS Word document numbering tool. Number each reference manually with the numeral and a period, followed by a space.
 - For articles with more than seven authors, list the first six authors followed by "et al." For seven or fewer, list all authors.
 - Authors' names are inverted (last name, first/second initial). Do not add periods or commas within an individual author name; however, separate author names with a comma and end the author list with a period (Smith J, Doe JJ, Adams B.).
 - Capitalize only the first word of the title or subtitle, and any proper names that are part of the title. The title should end with a period.
 - The Journal names should be abbreviated as indicated at PubMed. For a list of journal abbreviations, please visit: [LinkOut Journals](#).
 - Do not add a period after the journal abbreviation, but continue with a space followed by the year.
 - The year should be followed by a semicolon and then the volume number, which is followed by a colon and then the page numbers. Delete redundant numbers, for example 1998;12:231-45.
 - Do not include the months in parentheses; this information is not needed.
 - Use inclusive page numbers for articles and book chapters.
- Abstract and supplement numbers should be provided, if applicable. Citations of unpublished abstract books, manuscripts in preparation or under review, personal communications, and manufacturers' information should only be cited in the text and should not appear in the reference list. Personal communications should also be listed parenthetically and should contain the first initial and last name of the contact as well as the month and year of the communication. A copy of written permission from the contact to use the communication must also be provided. Published manuscripts and manuscripts that have been accepted and are pending publication should be cited in the reference list. Note that unpublished material must be published, at least online, by the time of publication of the citing article.

In-press references cited in the reference list must be accompanied by a copy of the cited manuscript and a letter of acceptance, or a complete author proof from the publisher. These resources should be uploaded as supplemental data along with the manuscript and other print materials.

The submission system will extract the references from the submitted MS Word document (.doc or .docx) to display in a hyperlinked HTML format as an aid for reviewers and editors. This linking option allows for the checking of the correct formatting and the accuracy of the citations.

Authors must check the linking of their references to PubMed during the “Ready for You to Proof” stage of submission. Correct linking of the references depends on strict adherence to Journal style as indicated.

Clinical Chemistry style is available in the Endnote reference formatting program. **Endnote users please note** that the reference output from Endnote may not be exact and should still be checked carefully against the examples listed below. In particular, journal names may not be abbreviated correctly in the output. If you have used PubMed for journal name abbreviations, it is recommended that you take the following steps:

- Open the output style for *Clinical Chemistry*.
- In the settings along the left of the style window, select Journal Names.
- Set the Journal Names option to "Don't Replace."
- Then, use "File - Save As" to save a copy with a new name. Refer to the [Endnote Help Center](#) for further assistance.

Reference Style:

Journal article with seven or fewer authors:

1. Vermeersch P, Mariën G, Bossuyt X. A case of pseudoparaproteinemia on capillary zone electrophoresis caused by geloplasma. *Clin Chem* 2006;52:2309-11.

Journal article with more than seven authors:

2. Fiechtner M, Ramp J, England B, Knudson MA, Little RR, England JD, et al. Affinity binding assay of glycohemoglobin by two-dimensional centrifugation referenced to hemoglobin Alc. *Clin Chem* 1992;38:2372–9.

Abstract:

3. Hortin GL, King C, Kopp J. Quantification of rhesus monkey albumin with assays for human microalbumin [Abstract]. *Clin Chem* 2000;46:A140-1.

Editorial:

4. Demers LM. New biochemical marker for bone disease: is it a breakthrough? [Editorial]. *Clin Chem* 1992;38:2169–70.

Letter to the Editor:

5. Davey L, Naidoo L. Urinary screen for acetaminophen (paracetamol) in the presence of N-acetylcysteine [Letter]. *Clin Chem* 1993;39:2348–9.

Book Chapter:

6. Rifai N, Warnick GR. Lipids, lipoproteins, apolipoproteins, and other cardiovascular risk factors. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, editors. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 4th Ed. St. Louis (MO): Elsevier Saunders; 2006. p. 903-81.

Thesis:

7. Houghton MA. Immunonephelometric measurement of vitamin D binding protein [MAppSci thesis]. Sydney, Australia: University of Technology, 1989:87pp.

Books and Monographs (serial volumes should be treated as journals):

8. Harrell FE Jr. Regression modeling strategies. New York (NY): Springer; 2001.

9. Bailar JC III, Mosteller F, editors. Medical uses of statistics. 2nd Ed. Boston (MA): NEJM Books; 1992:449 p.

Published Ahead of Print:

10. Milbury CA, Li J, Makrigiorgos GM. PCR-based methods for the enrichment of minority alleles and mutations. [Epub ahead of print] Clin Chem February 6, 2009 as doi:10.1373/clinchem.2008.113035.

Supplement:

11. Castelli WP. Lipids, risk factors and ischaemic heart disease. Atherosclerosis 1996;124 Suppl:S1-9.

Internet Source:

12. American Association for Clinical Chemistry. AACC continuing education. <http://www.aacc.org/education-and-career/continuing-education> (Accessed June 2016).

Preprint:

13. Mao Q, Chin R, Xie W, Deng Y, Xu H, Zhang RY, et al. Advanced whole genome sequencing and analysis of fetal genomes from amniotic fluid. Preprint at <https://www.biorxiv.org/content/early/2017/08/08/173807> (2017).

Clinical Chemistry Trainee Council Webcasts and Pearls of Laboratory Medicine:

14. Browning T. Vitamin D. April 2012. Available from: <http://www.traineecouncil.org/pearl> (Clinical Chemistry Trainee Council, Pearls of Laboratory Medicine).

TABLES

Tables are considered text. They should appear embedded as part of the submission directly following the reference section. Each table should appear on an individual page. Manuscripts will be returned to authors if the tables are uploaded as separate table files. (Manuscripts will not be returned for this reason if tables have been uploaded as supplemental data or if they are to be considered figures, in the special circumstances described below.)

Each table should be clearly labeled and numbered consecutively with Arabic numerals (Table 1, Table 2, etc.). The abbreviations used must be defined. As with the text, reporting of concentration units consists of analyte concentrations expressed in the text in the traditional mass unit (mg/dL, ng/ml, and so forth) followed by the SI unit in parentheses.

Tables should not be divided into parts. Separate parts (Table 1A, Table 1B, etc.) will be considered separate tables and will count toward your overall table/figure count.

Table captions should be limited to 60 words.

Each column of an individual table must have a heading and be clearly defined. Indicate explanatory footnotes with superscript lowercase italic letters in alphabetical order.

Tables will be converted into a standard format for publication that will not include color. Large or complex tables or tables that include graphic elements should be submitted as figures or as supplemental data for online publication only. The Editor may choose to make any table supplemental as he/she deems necessary.

If a table has been published previously, acknowledge the original source in the table caption. You must obtain written permission from the copyright holder to reproduce the table and upload this permission as supplemental data. Please specify whether the table has been exactly reproduced or adapted from the original source, and provide a copy of the original table if it has been adapted. Even if the table has been modified, it may still require a permission. Any costs associated with table permissions will be borne by the author. Contact the editorial office at clinchemed@aacc.org if you are not sure whether permission is needed.

FIGURE CAPTIONS

Figure captions and sub-captions must be listed together on an individual page directly following the tables or the references if the submission does not include tables. Each figure requires a figure caption and should be clearly labeled (Figure 1, Figure 2, etc.). Multi-panel figures and figures with parts (a, b, c, etc.), should be distinctively labeled (Figure 1A, Figure 1B, Figure 2A, etc.).

Figure captions should be limited to 60 words.

If a figure has been published previously, acknowledge the original source in the figure caption. You must obtain written permission from the copyright holder to reproduce the figure and upload this permission as supplemental data. Please specify whether the figure has been exactly reproduced or adapted from the original source, and provide a copy of the original figure if it has been adapted. Even if the figure has been modified, it may still require a permission. Any costs

associated with figure permissions will be borne by the author. Contact the editorial office at clinchemed@aacc.org if you are not sure whether permission is needed.

FIGURES

All figures must be uploaded separately as image files in Tagged Image File Format (.TIFF) or Encapsulated Postscript (.EPS). Microsoft Power Point (.PPT) is also acceptable; however, the graphics must contain embedded fonts with one image per slide, one slide per file. Each image should have a resolution of 600 dots-per-inch (dpi). More detailed specifications can be found on our print publication vendor's page at [Cenveo Digital Art Support](#).

The submission system is designed to retrieve the manuscript file and separate image file(s) and combine or merge the files into an individual Portable Document Format (.PDF) for reviewing purposes. It is the responsibility of the author to verify the quality of the image file(s) after the conversion to PDF. It may be necessary to alter the individual image file(s) to ensure the content is not lost or misconstrued in the merged PDF.

Submissions will be returned to authors if the figures are embedded within the manuscript file and not uploaded separately or if the figures have become illegible in the merged PDF.

Do not place unnecessary graphics, such as borders, in or around your figure. Pay particular attention to the quality of the lines, symbols, and patterns. Published figures are reduced to 1 column (85mm) or 2 columns (176 mm) in width. If, at that width, the figure symbols or lettering are not clear, you will need to increase the font size. Letters should be 8-10 points when reduced, and subscripts no less than 6 points. Initial capitals and lower case letters and a medium (not bold) sans serif font are required. European PI, Helvetica, Mathematical PI, Times Roman, and Symbol fonts are Type 1 PostScript fonts supported by our printer for the creation of digital art figures.

The x-axis and y-axis should be clearly labeled, and the units of measurements given. This includes using decimal points instead of commas, italicizing species or gene symbols, and using U.S. English.

COLOR

The costs of publishing color illustrations in print will be borne by the author. Costs are \$1500 for the first figure and \$500 for each subsequent figure, or parts of figures. Upon acceptance, authors will be billed for the color costs unless a request to print figures in black and white is received via cover letter or e-mail. Color versions of figures may be provided for publication in the online

Journal at no extra charge. Please note your color preference and/or your agreement to pay for color printing in your cover letter. If black and white printing is requested, color figures alone should still be submitted to the Journal. The figures will be converted to grayscale by the printer. Authors should not attempt to convert the figures or submit both color and grayscale versions.

SUPPLEMENTAL DATA

Figures or tables too large for print, manuscript material that exceeds the limitation for the specific submission type, or appendices should be submitted for online publication only. These files should be marked and uploaded separately as supplemental files during submission and should be referenced within the text as supplemental data (i.e., "See Supplemental Table 1", "See Supplemental Figure 1", etc.). Supplemental files must be labeled consecutively (i.e., Supplemental Table 1, Supplemental Table 2, Supplemental Figure 1, Supplemental Figure 2, etc.). It is recommended that supplemental files be provided in formats that are widely accessible to readers. For example, many readers of the Journal do not have access to the programs needed to open .eps figures, so we do not recommend the use of .eps format in a supplement.

When labeling your files and referencing them within the main text, please keep in mind the preferred naming conventions for supplements. "Supplemental" is preferred over "Supplementary," and the word "Data" is not necessary in table or figure titles (i.e., "Supplemental Table 1," not "Supplemental Data Table 1" or "Supplementary Table 1"). If all supplemental materials are contained in a single file, that file should be referred to as "Supplemental Data."

Captions for the supplemental data should be uploaded as a separate supplemental file or embedded within the supplemental data/table/figure file. Do not include the supplemental captions in your manuscript file.

Please be advised, supplemental data are permitted for Article, Inspiring Minds, Mini-Review, Review, and Special Report submissions only. Manuscripts of all other types with supplemental data will be returned to authors.

Supplemental data will be reviewed as part of the manuscript and will be evaluated for its importance and relevance; however, it should not appear in the "Peer-reviewed PDF" file created by the submission system.

If accepted and posted online, the supplemental data will be referenced in the text of the print article directing readers to the URL of the website.

[Back to Top](#)

ONLINE SUBMISSION AND TRACKING

- [What is Bench>Press?](#)
 - [Registering](#)
 - [Changing Contact Information and Password](#)
 - [Troubleshooting](#)
 - [Journal Portal](#)
-

WHAT IS BENCH>PRESS?

Clinical Chemistry uses the Bench>Press™ (B>P) manuscript submission, tracking, review, and publishing system, developed by Stanford University Libraries' HighWire Press.

B>P is an Internet application and operates with standard browsers, although a JavaScript-enabled browser (such as Internet Explorer) is recommended.

For user convenience and accessibility, B>P converts uploaded manuscript files to Adobe Portable Document Format (PDF). Adobe Acrobat Reader is required to view these files and is available at no cost. Click the following link to

download: <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>

B>P uses a series of pages, presented one at a time, to guide the author through the submission process. For help during regular business hours, contact *Clinical Chemistry* via e-mail at clinchemed@aacc.org.

REGISTERING

Please see FAQs at http://submit.clinchem.org/journals/clinchem/forms/registration_faq.pdf for more extensive help.

Before submitting a manuscript or review of a manuscript, you must register with our manuscript submission and tracking system. Register at <http://submit.clinchem.org/cgi/registration>.

After accessing the registration page, you will need to verify your e-mail address. If there is an existing account with an old e-mail address, do not create a new account with a different e-mail address. Simply access the account with the out-of-date e-mail address, and use the system to update/change your e-mail address.

Always use the same e-mail when accessing the system. Multiple e-mail addresses will cause repeated registrations and the creation of multiple accounts, which could lead to future system access problems.

NOTE: If you have used other Bench>Press journals, you must use the same e-mail address and password to register with *Clinical Chemistry*. Although all Bench>Press journals require the same e-mail address and password for access, this is the only shared information. You must be registered individually with each journal you are trying to access.

CHANGING CONTACT INFORMATION AND PASSWORD

E-mail addresses, passwords, and other contact information can be modified at any time by clicking "Personal Info" from the gray navigation bar at the top of any page within the manuscript processing system.

Feel free to contact the Editorial Office via e-mail at clinchemed@aacc.org should you need assistance.

TROUBLESHOOTING

Please see FAQs at <http://submit.clinchem.org/submission/submissionhelp> for more extensive help.

Trouble Registering

All authors and reviewers must be registered with *Clinical Chemistry*. To register, go to <http://submit.clinchem.org>, and click the "Create a New Account" button to the left of the login screen. If you do not receive a request to create a password and answer a security question, you are most likely registered with *Clinical Chemistry* or another Bench>Press journal. *Clinical Chemistry* uses an online manuscript management system called Bench>Press. Bench>Press is used by hundreds of journals, all of which share the same registration system. If you have already registered with another Bench>Press journal, you do not need to repeat the registration process. You simply need to sign in with the same e-mail and password and complete a profile page for *Clinical Chemistry*.

If you can't remember with which journal(s) you registered, this information can be sent by clicking the "Send My Registration Details" button on the registration page.

No e-mail response after registering:

If you have registered and have not received a verification e-mail, this may be due to a spam blocking filter associated with your institutional server. You may need to manually register clinchemed@aacc.org so as to accept mail from *Clinical Chemistry*. Your Systems Manager should be able to help you with this problem.

Java Difficulties:

If you are using Internet Explorer as your browser and are having trouble accessing pages, you might want to try the following:

Tools

Internet Options

Advanced

Under heading Microsoft VM, make sure all 3 boxes are checked:

Java console

Java logging

JIT Compiler

Click okay.

Restart machine

You may check to see if the site works properly by going to <http://submit.clinchem.org/>.

Please note that login information (e-mail and password) for the submission and review site will not be the same login information you use if you subscribe to the online journal.

Duplicate Accounts:

Often, due to problems with the initial registration or infrequent use, an author may have two accounts listed. Multiple accounts lead to future system access problems and therefore must be merged.

If an author or reviewer suspects this is the problem, send a request with the preferred e-mail address, current contact information, and the suspected invalid e-mail address to the *Clinical Chemistry* editorial office at clinchemed@aacc.org.

Cookies preventing login:

Bench>Press requires users to have their browser set to accept cookies in order to maintain their logged-in status throughout the system. A "cookie" is a message given to a browser by a server. The browser stores the message, and the message is sent back to the server each time the browser requests a page from the server.

If the user does not have cookies enabled, the user will be required to repeatedly sign in to the system.

Most browsers will allow the user to manually alter the cookie settings from the Tools or Internet Options bar.

Expertise Terms:

The Area of Expertise list was developed to help editors choose reviewers who possess specific knowledge in a given area.

Our tracking system has been set to allow this page to appear---as a gentle reminder---until the reviewer has selected at least one item on the list. As soon as the reviewer selects a topic and saves it, it will no longer appear.

Changing these areas of expertise or adding more detailed information can be accomplished by simply logging into <http://submit.clinchem.org> at any time and clicking the Personal Info area at the top of the page.

On the lower right side of the page, the user will find "Expertise Terms: Edit Expertise Terms." Click on this link and change the data accordingly.

Conversion Errors:

Receiving a conversion error means that conversion of your manuscript to PDF format has failed. Invalid file types are the most common cause of conversion failure. Be sure your file names end with extensions appropriate to the file type (i.e. ".doc", ".tif" or ".eps"). Mac computers generally leave off the file type extension and it must be added manually.

Formats that are not supported include the following: Bitmap (.bmp), PICT (.pict), Excel (.xls - Excel tables can be embedded in word processing documents), Photoshop (.psd), Canvas (.cnv) and CorelDRAW (.cdr). Multi-slide PowerPoint files (.ppt). If any of these have been used to create your file, you will need to convert the file to an acceptable file format for submission in order for the files to convert properly.

Large or numerous files may slow the conversion process of submission, sometimes resulting in a system "time out" or conversion failure. It may be appropriate to upload and wait for the conversion of an individual file before proceeding with the remaining files. The Bench>Press submission and tracking system has limits of how much data can be uploaded at one time. Generally most files become unwieldy when they pass the 1 MB (megabyte) mark.

For reference:

1000 Bytes (B) = 1 Kilobyte (KB)

1000 Kilobytes (KB) = 1 Megabyte (MB)

1000 Megabytes (MB) = 1 Gigabyte (GB)

Empty HTML references field:

You may find that your HTML references section is empty. This can be remedied by including the heading "References" before the references section in your paper.

HTML references cannot be edited directly; any changes must be made by re-uploading your manuscript file during the proofing stage.

In addition, uploading a PDF file as your manuscript source file will prevent the references from parsing to the *Clinical Chemistry* HTML reference window.

JOURNAL PORTAL

In the event that your paper is rejected, you may be interested in submitting it to *Clinical Chemistry*'s sister journal, *The Journal of Applied Laboratory Medicine (JALM)*. Authors of a manuscript rejected by *Clinical Chemistry* will receive a decision email with detailed instructions on the Journal Portal, a tool that allows authors to easily transfer their papers to *JALM* for consideration. Authors will have 30 days to complete the transfer before the portal closes for each manuscript. The portal can be accessed through the Author Area in the "Manuscripts with Decisions in the Past 180 Days" queue.

The following information will be transferred from *Clinical Chemistry* to *JALM*:

1. Author disclosures
 2. Author Contributions
 3. Blinded *Clinical Chemistry* reviewers' comments for authors, if there are any. Comments for the editors will not be transferred.
- Authors who wish to transfer their submissions should review the *JALM [Information for Authors](#)* for more detailed information and submission requirements.

[Back to Top](#)

POST-ACCEPTANCE

- [Copyright](#)
 - [Disclaimers](#)
 - [Permissions and Reprints](#)
 - [Publish Ahead of Print](#)
-

COPYRIGHT

Upon acceptance, all authors are required to read and sign the Copyright Transfer Agreement. Each author will be invited via e-mail to sign a statement confirming that the manuscript does not contain material for which publication would violate any copyright or other personal or proprietary right of any person or entity. U.S. Federal employees will need to be identified. Each author must be registered with our online submission system to access, read, and electronically sign the copyright agreement.

Manuscripts will be held until all copyrights are received. In the event that copyrights are not received, the manuscript will not be published.

Manuscripts will not be prohibited from publication solely on the basis of a web-posting of a talk at a medical or scientific meeting that presents all or part of the content of the submitted manuscript.

Authors are expected to retain – for a minimum of 1 year after publication – the raw data from laboratory or clinical studies and to present these data upon request of the Editor if the data are contested.

Authors are expected to identify to the Editor any other manuscripts (in print, accepted, have been submitted, in preparation) that relate to the submitted manuscript, especially if any patients or results are described in both.

Questions related to the possibility of perceived redundant publication or fragmentation of results should be directed to the Editor.

DISCLAIMERS

Manuscripts published in *Clinical Chemistry* reflect the individual views of their authors and, in the absence of a statement to the contrary, not the views of the institutions with which the authors are affiliated. The contents of advertisements or articles are not to be construed as official statements, evaluations, or endorsements by the Editor or the American Association for Clinical Chemistry.

PERMISSIONS AND REPRINTS

Clinical Chemistry is copyrighted by the AACC. Permission to reproduce copyrighted material for scholarly or commercial use can be arranged through the AACC office in Washington, DC.

Permissions Coordinator

AACC Office

900 Seventh Street, NW

Suite 400

Washington, DC 20001

United States

Phone: 800-892-1400 or 202-857-0717

Fax: 202-887-5093

E-mail: permissions@aacc.org

Reprints of papers published in *Clinical Chemistry* can be obtained at any time in multiples of 100.

Authors will receive a reprint order form with their page proof or they can contact the Cenveo Reprint Department at 1-866-487-5625 or 410-943-3728.

[Author Reprint Order Form \[PDF\]](#)

EARLY RELEASE

Early Release is a service offered by *Clinical Chemistry* where authors' proofs of accepted articles are published online as they become available.

The proofs are available as PDFs, 3-5 weeks before their publication in print or in their final on-line format. The version posted ahead of print is an uncorrected page proof. Author corrections have not been made.

For current articles, click *Clinical Chemistry* [Early Release](#).

[Back to Top](#)

CLINICAL CHEMISTRY EDITORIAL OFFICE

Clinical Chemistry

900 Seventh Street, NW

Suite 400

Washington, DC 20001

United States

clinchemed@aacc.org

(202) 420-7678

(202) 833-4576 [FAX]

Sheehan Misko, Director: smisko@aacc.org

Kristen Hauck, Assistant Managing Editor: khauck@aacc.org

Patty Brady, Editorial Specialist: pbrady@aacc.org

Erin Roberts, Editorial Specialist: eroberts@aacc.org

Please include the corresponding author's e-mail address and the manuscript number on all correspondence.