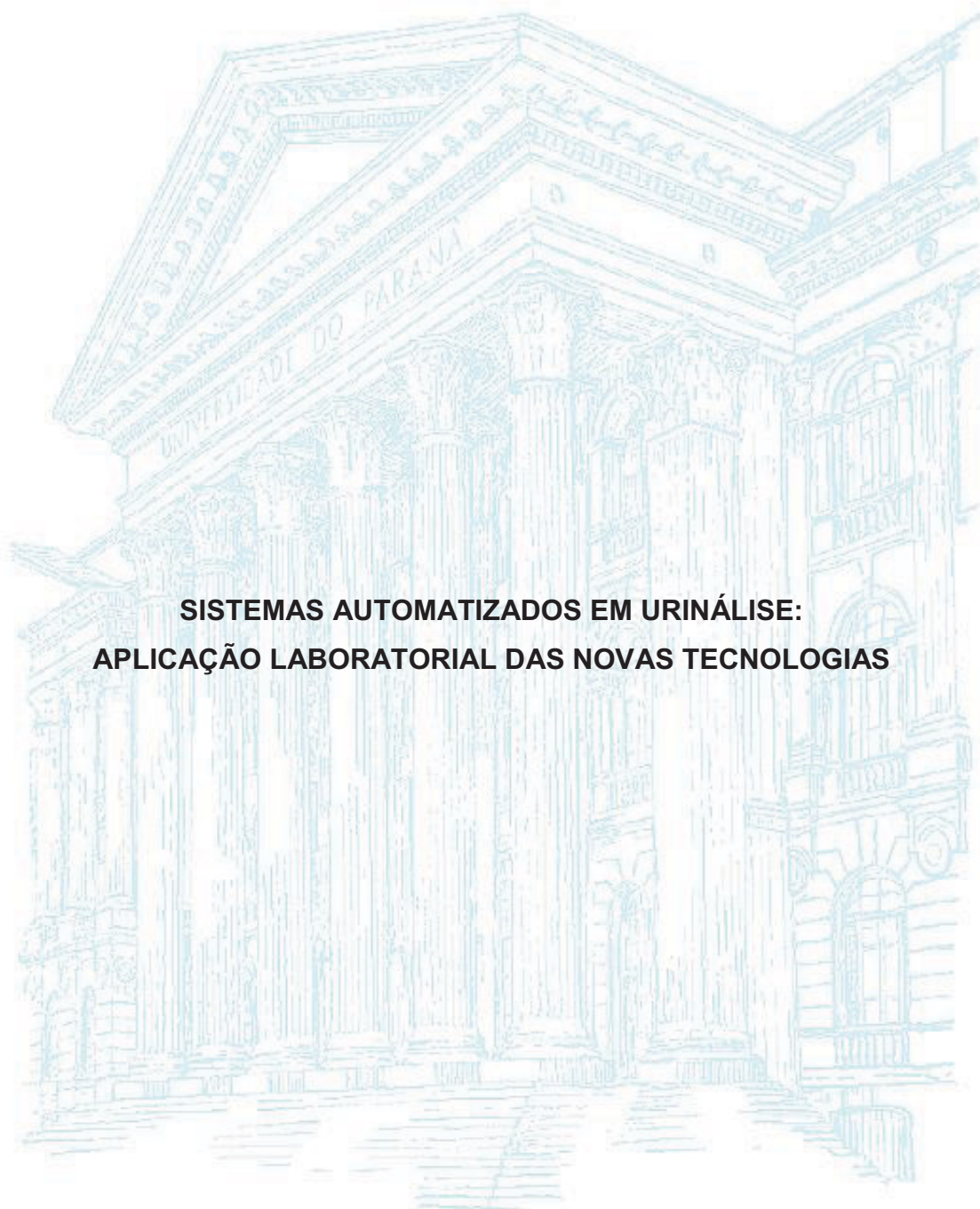


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JULIA MIDORI ENDO NAKASATO



**SISTEMAS AUTOMATIZADOS EM URINÁLISE:
APLICAÇÃO LABORATORIAL DAS NOVAS TECNOLOGIAS**

CURITIBA

2018

JULIA MIDORI ENDO NAKASATO

**SISTEMAS AUTOMATIZADOS EM URINÁLISE:
APLICAÇÃO LABORATORIAL DAS NOVAS TECNOLOGIAS**

Monografia apresentada como requisito parcial à conclusão do curso de Especialização em Análises Clínicas, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dra. Aline Borsato Hauser

CURITIBA

2018

RESUMO

O exame parcial de urina é o terceiro exame mais solicitado nos laboratórios clínicos e continua sendo a melhor forma de avaliar o funcionamento do sistema urogenital. Historicamente considerado o primeiro exame laboratorial, o exame parcial de urina caracteriza-se por ser de simples execução, barato e utiliza como amostra um material de fácil obtenção, sendo de alta demanda ainda nos dias atuais. Nos últimos anos observou-se a entrada da automação no setor da Urinálise, o que contribuiu com o aumento da produtividade e principalmente da qualidade dos resultados liberados, por permitir maior padronização dos procedimentos adotados.

Objetivo: Apresentar uma breve revisão bibliográfica a respeito dos sistemas automatizados para Urinálise disponíveis no Brasil, comparando as diferentes metodologias empregadas e buscando retratar as vantagens e desvantagens que cada método possui. **Metodologia:** Realizou-se busca em bancos de dados e em literatura clássica sobre automação em Urinálise, coleta de dados nas especificações técnicas fornecidas pelos fabricantes de aparelhos automatizados, em sítios nacionais e internacionais, além de levar em conta a experiência dos autores com metodologias automatizadas. **Resultados:** As especificações técnicas de cinco sistemas totalmente automatizados para Urinálise foram organizadas em uma tabela para permitir a comparação entre os aparelhos: Urisys[®] 2400/UF-1000i (ROCHE – SYSMEX), IRICELL[®] 3000 (IRIS DIAGNOSTICS), LabUMat[®] II/ UriSed[®] II (ALERE), COBAS[®] 6500 (ROCHE) e UN-3000[®] (SYSMEX). Foram descritos diversos estudos publicados que compararam os sistemas automatizados em vários países do mundo, expondo as vantagens e desvantagens listadas pelos autores das pesquisas. **Conclusão:** Os sistemas automatizados aumentam a produtividade, melhoram a qualidade e a segurança dos resultados em Urinálise, fato indiscutível quando se fala em quantificação, mas não substitui o profissional com experiência em microscopia na rotina laboratorial.

Palavras-chave: Urinálise; Automação; Sistemas totalmente automatizados.

ABSTRACT

Urine analysis is the third most requested examination in clinical laboratories and remains the best way to evaluate the functioning of urogenital system. Historically considered the first laboratory test, urine analysis is characterized by being simple, inexpensive and uses as sample na easily obtainable material, being high demand still in the present day. In recente years, automation has been introduced in Urinalysis, which has contributed to the increase in productivity and, above all, to the quality of the released results, since it allows a greater standardization of the procedures adopted. **Objective:** To present a brief bibliographical review about the automated systems for urinalysis available in Brazil, comparing the diferente methodologies used and seeking to portray the advantages and disadvantages of each method. **Methodology:** Data search and classical literature on topic of Automation in Urinalysis were carried out, as well as data collection in technical specifications provided by the manufacturers of automated devices, in national and international sites. **Results:** Technical specifications of five fully automated systems for Urinalysis were organized in a tablet allow comparison between devices. They were: Urisys[®] 2400 / UF-1000i (ROCHE-SYSMEX), IRICELL[®] 3000 (IRIS DIAGNOSTICS), LabUMat[®] II / UriSed[®] II (ALERE), COBAS[®] 6500 (ROCHE) and UN-3000[®] (SYSMEX). A number of published studies comparing automated systems in several countries around the world have been described, exposing the advantages and disadvantages listed by the authors of the research. **Conclusion:** Automated systems increase productivity, improve the quality and safety of Urinalysis results, although it does not dispense or replace the professional with microscopical experience in laboratory routine.

Key-words: Urinalysis; Automation; Fully automated analyzer.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	2
2.1	OBJETIVO GERAL.....	2
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
3	JUSTIFICATIVA	3
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	3
5	REVISÃO DA LITERATURA.....	4
5.1.	BREVE HISTÓRICO	4
5.2.	MÉTODO MANUAL DE ANÁLISE	6
5.2.1.	AVALIAÇÃO FÍSICA DA URINA	7
5.2.2.	AVALIAÇÃO QUÍMICA DA URINA	7
5.2.3.	AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DA URINA.....	7
5.3.	AUTOMAÇÃO EM URINÁLISE.....	8
5.3.1.	AUTOMAÇÃO NA ANÁLISE QUÍMICA DA URINA	9
5.3.1.1.	<i>FOTOMETRIA POR REFLECTÂNCIA</i>	12
5.3.2.	AUTOMAÇÃO NA ANÁLISE MICROSCÓPICA.....	15
5.3.2.1.	<i>CITOMETRIA DE FLUXO</i>	15
5.3.2.2.	<i>IMAGEM DIGITAL COM RECONHECIMENTO DE PARTÍCULAS</i>	22
5.3.2.3.	<i>MICROSCOPIA AUTOMATIZADA COM IMAGEM DIGITAL</i>	25
5.3.2.4.	<i>SISTEMA MODULAR MISTO</i>	29
5.4.	NOVOS PARÂMETROS EM URINÁLISE.....	30
5.4.1.	RELAÇÃO ALBUMINA/CREATININA E PROTEÍNA/CREATININA	30
5.4.2.	MICROSCOPIA DIGITAL COM CONTRASTE DE FASE.....	31
5.5.	COMPARAÇÃO ENTRE METODOLOGIAS MANUAL E AUTOMATIZADAS.....	32
6	RESULTADOS.....	38
7	DISCUSSÃO	42
8	CONCLUSÃO	47
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

1 INTRODUÇÃO

O exame parcial de urina representa o terceiro exame de rotina mais solicitado nos laboratórios clínicos, precedido apenas pelos exames bioquímicos e hematológicos de rotina (DELANGHE, 2014). Essa alta demanda nos laboratórios atuais se deve ao fato da análise da urina ser capaz de fornecer, de forma simples e rápida, informações importantes sobre o funcionamento dos rins.

Apesar disso, é um exame pouco padronizado e que apresenta ampla variabilidade entre analistas diferentes (BOTTINI, 2006). Há décadas, a análise microscópica do sedimento urinário é considerada padrão ouro na Urinálise. No entanto, a introdução de novas tecnologias e automação tem aumentado a acurácia e a produtividade desse procedimento (DELANGHE, 2014).

A automação da etapa de microscopia do exame de urina auxilia na detecção de estruturas inesperadas e permite a padronização da identificação e da contagem dos elementos do sedimento urinário. Isso torna o exame de urina mais confiável em relação à quantificação de leucócitos e eritrócitos (MUNDT, 2012). Mas, ainda se notam problemas na correta identificação de certos elementos urinários, como observado por Henneberg *et al* (2014) que mostrou que a aplicação de aparelho de automação moderno não foi capaz de apontar a presença de eritrócitos dismórficos em amostra de urina.

Dentro desse contexto, este trabalho pretende realizar uma análise das principais metodologias para a realização do exame de urina disponíveis no mercado, a fim de avaliar e comparar seus desempenhos e estabelecer as perspectivas no diagnóstico de doenças renais e do trato urinário.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do estudo será apresentar uma análise dos sistemas automatizados disponíveis no mercado para a realização do exame de urina e compará-las entre si a fim de estabelecer os benefícios que cada um tem a oferecer para o diagnóstico dos principais distúrbios do sistema renal.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar revisão da literatura para demonstrar a evolução dos sistemas automatizados em Urinálise desde a sua introdução até os dias atuais;
- Listar as características de cada sistema e as principais metodologias disponíveis para análise de urina;
- Compilar os principais trabalhos publicados que comparam os resultados obtidos utilizando diferentes sistemas automatizados;
- Apresentar os novos parâmetros em Urinálise introduzidos pela automação e seus benefícios;
- Estabelecer as perspectivas na medicina diagnóstica com o emprego das novas tecnologias em Urinálise;
- Correlacionar as informações obtidas com as experiências práticas dos autores na área da Urinálise.

3 JUSTIFICATIVA

Apesar do uso da automação em Urinálise representar uma melhora em termos de qualidade dos resultados emitidos, com redução significativa no tempo necessário para sua execução, a falta de padronização e a escassez de informação técnica a respeito das novas tecnologias empregadas nos analisadores automatizados ainda são limitantes para sua utilização. Esta pesquisa se propõe a ampliar o conhecimento sobre automação em Urinálise e torná-la mais consistente na prática laboratorial clínica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram elaboradas tabelas contendo as informações técnicas detalhadas de cada equipamento, bem como os resultados de controle de qualidade publicados por pesquisadores de diversos países. Foram compilados vários trabalhos publicados que compararam os resultados obtidos em amostras de urina analisadas por metodologias diferentes, possibilitando avaliar a confiabilidade das novas tecnologias na Urinálise. Foram avaliadas as vantagens e desvantagens entre os métodos automatizados e entre métodos automatizados e métodos manuais. O material utilizado foi obtido por meio de consulta às bases de dados Medline PubMed (*US. National Library of Medicine National Institutes of Health, USA*), SciELO Brazil (*Scientific Eletronic Library Online*) e BIREME (Biblioteca Regional de Medicina, Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde) desde o início do uso da amostra de urina na medicina laboratorial até o desenvolvimento dos sistemas automatizados mais modernos e suas aplicações na prática laboratorial, sem preferências de ano de publicação, mas com prioridade para autores e trabalhos de grande impacto científico, além da consulta a livros consagrados e da troca de experiência entre as autoras que trabalharam em rotina laboratorial na área da Urinálise.

5 REVISÃO DA LITERATURA

5.1. BREVE HISTÓRICO

O exame de urina é uma das formas mais antigas de diagnóstico e sua origem ocorreu paralelamente aos estudos em Urologia, e posteriormente, a Nefrologia. As doenças do trato urinário são tão remotas quanto à própria origem da humanidade e a Urologia pode ser considerada como um dos primeiros ramos da Medicina, que buscou entender os sinais e sintomas clínicos das doenças na tentativa de buscar soluções para as patologias (BARDALES, 2002).

O exame da urina foi o primeiro teste laboratorial documentado na história da Medicina. Seria um método ideal para o diagnóstico por se tratar de um fluido instável, ou seja, que sofre mudanças quando alguma doença se instala e que poderia ser analisado física e quimicamente. Essas características fizeram da Urinálise uma ferramenta útil para o acompanhamento do paciente (KAMALEDEEN, 2015).

O QUADRO 1 mostra os principais acontecimentos que marcaram a história da Urinálise ao longo dos séculos até o desenvolvimento das tecnologias aplicadas para a identificação e quantificação dos elementos urinários.

QUADRO 1 - PRINCIPAIS ACONTECIMENTOS RELACIONADOS À HISTÓRIA E AO DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA APLICADA PARA ANÁLISE DOS ELEMENTOS DA URINA.

(continua)

ANO	ACONTECIMENTO
Antiguidade	Primeiros relatos de casos de urolitíase e outras doenças do trato urinário em papiros do Antigo Egito ^{1,7} .
400 a.C.	Hipócrates escreveu sobre Uroscopia, considerado o primeiro relato racional das observações da urina na Grécia Antiga ^{1,7,11} .
100 a.C.	Escrituras antigas descrevem 20 categorias de urina baseadas nas características físicas da urina e o primeiro relato da urina doce na Índia ⁷ .
200 d.C.	Galeno descreveu o processo de formação da urina e enriqueceu os conceitos de fisiologia renal em Roma ^{1,10,11} .
Século VII	<i>Theophilus Protospatharius</i> publicou a obra <i>De Urinus</i> , utilizado por séculos como um guia de Uroscopia ⁷ .

QUADRO 1 - PRINCIPAIS ACONTECIMENTOS RELACIONADOS À HISTÓRIA E AO DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA APLICADA PARA ANÁLISE DOS ELEMENTOS DA URINA.

(continua)

ANO	ACONTECIMENTO
Século X	
980 - 1037	Avicena aplicou as observações nas características físicas da urina para avaliar a condição do paciente na Pérsia ¹ .
Século XI	
1040 -1136	Ismail Zayn al-Din Gorgani, instituiu a recomendação de coleta de urina de 24 horas e fez outras observações sobre os cuidados anteriores à coleta da urina ⁷ .
Século XIII	
1140 - 1224	Gilles de Corbeil publicou a obra <i>De Urinis</i> baseado na obra de <i>Theophilus Protospatharius</i> , descrevendo ao longo dos 352 versos os 20 tipos de urina que poderiam ser associados com diferentes condições do organismo ^{10,11} .
Século XVI	
1506	Manuscritos da época mostram a importância que era dada à análise visual da urina, realizada na época com auxílio do Gráfico Uroscópico ou a Roda Uroscópica ¹ .
1590	Invenção do primeiro microscópio pelos irmãos holandeses Francis e Zacharias Janssens ¹ .
Século XVII	
Por volta de 1600	Johann Baptista Van Helmont determinou a gravidade específica na urina ¹ .
1630	Nicolas-Claude Fabri de Peirese observou a litíase em amostras de urina ¹ .
1665	Robert Hooke descreveu os cristais da urina em sua obra <i>Michographia</i> ¹ .
1694	Frederik Dekkers desenvolveu um teste bioquímico eficaz para detectar a presença de glicose através da fervura da urina ⁴ .
Século XVIII	
1797	Carl Friedrich Gartner demonstrou interesse em desenvolver um teste simples de urina que pudesse ser realizado à beira do leito ⁶ .
1797	William Cumberland Cruikshank foi o primeiro a demonstrar que havia uma substância que cristalizava na urina e que precipitava na presença de ácido nítrico, posteriormente reconhecido como sendo as proteínas ⁹ .
Século XIX	
1827	Dr Richard Bright publicou o primeiro volume de <i>Medical Reports</i> , que descreveu os sintomas clínicos da síndrome nefrótica, a nefrite aguda e nefrite crônica ⁸ .
1835	Pierre-François Olive Rayer e Eugene N. Vigla introduziram o exame microscópico da urina na prática clínica ¹ .
1836	George Owen Rees publicou <i>On the analysis of the blood and urine in health and disease</i> , o primeiro livro com a análise científica da urina ¹ .

QUADRO 1 - PRINCIPAIS ACONTECIMENTOS RELACIONADOS À HISTÓRIA E AO DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA APLICADA PARA ANÁLISE DOS ELEMENTOS DA URINA.

(conclusão)

ANO	ACONTECIMENTO
1839	Pierre-François Olive Rayer publicou <i>Traité des maladies des reins</i> , um atlas com ilustrações coloridas ² .
1850	Jules Maumené criou a primeira tira teste para análise de glicose na urina ¹¹ .
1878	Lionel Smith Beale publicou <i>The microscope in Medicine</i> , contendo todos os tipos de cristais que poderiam ser encontrados na urina, incluindo ilustrações, além dos cilindros que foram descritos e interpretados ¹ .
1880	Pavy desenvolveu peletes reagentes para detecção de glicose na urina ⁵ .
1883	George Oliver publicou <i>On bedside urine testing</i> , e produziu a primeira tira reagente em papel de filtro impregnada com os reagentes necessários para detectar glicose e proteínas na urina ⁵ .
1900	Empresa química alemã HELFENBERG AG disponibilizou o primeiro papel reagente comercialmente no mercado ¹¹ .
Século XX	
1911	Thomas Addis instituiu método de contagem de elementos no sedimento da urina, a contagem de Addis ³ .
1921	Fritz Feigl publicou o método de <i>Spot analysis</i> ^{5,11} .
1937	O mesmo Fritz Feigl publicou o método para detecção de proteínas utilizando tetrabromofenoltaleína ^{5,11} .
1941	A tecnologia da tira reagente “ <i>Clinitest</i> ” lançada pela <i>Ames Corporation</i> para controle da glicose na urina ⁵ .
Por volta de	Lançado o Albustix® pela <i>Ames Corporation</i> , utilizando o método da tira reativa para
1950	detecção de microalbuminúria na urina ⁵ .
1964	Lançado o Combur-Test® pela <i>Boehringer Mannheim</i> , atualmente ROCHE DIAGNOSTICS LTD com tecnologia da tira reativa de múltiplos parâmetros para análise de 10 parâmetros com leitura em 60 segundos ¹² .

FONTES: ¹ BARDALES (2002); ² BERRY (2015); ³ BLAGG (2009); ⁴ DELLALIBERA-JOVILIANO (2017); ⁵ FREE (1957); ⁶ HOPPE (2008); ⁷ KAMALEDEEN (2015); ⁸ MACKENZIE (1989); ⁹ NEILD (1996); ¹⁰ NOGUEIRA NETO (2017); ¹¹ ROCHE (2010) (1); ¹² ROCHE (2018) (1).

5.2. MÉTODO MANUAL DE ANÁLISE

O exame de rotina de urina deve contemplar:

a) Características físicas: cor e aspecto;

- b) Características químicas: densidade, pH, proteínas, glicose, cetonas, sangue, bilirrubina, nitrito, esterase leucocitária e urobilinogênio;
- c) Estruturas microscópicas no sedimento urinário (STRASINGER, 2014).

5.2.1. Avaliação física da urina

A observação das características físicas da urina fornece informações preliminares relativas a certos distúrbios. A cor alterada pode ser o primeiro sinal de distúrbio no trato urinário e, o aspecto turvo se correlaciona diretamente com a presença de elementos urinários que podem ou não ser patológicos. De qualquer forma, acrescentam pouca informação se isolados, sendo fundamental a associação do exame físico com os exames químico e microscópico para se chegar a uma conclusão no resultado laboratorial (STRASINGER, 2014; MUNDT, 2012).

5.2.2. Avaliação química da urina

O método das tiras reagentes consiste em uma tira de plástico com pequenas almofadas absorventes impregnadas com substâncias químicas. As áreas reagentes quando em contato com a amostra de urina, sofrem reações químicas evidenciadas pela mudança na sua coloração de forma semi-quantitativa. A interpretação é feita comparando-se a cor produzida com uma tabela fornecida pelo fabricante (STRASINGER, 2014).

A metodologia manual consiste na imersão completa e rápida da tira reagente na amostra homogeneizada, eliminando-se o excesso de urina e aguardando-se o tempo recomendando pelo fabricante para que as reações ocorram (STRASINGER, 2014).

5.2.3. Avaliação microscópica da urina

Atualmente têm-se três métodos para identificação e quantificação microscópica dos elementos urinários: Lâmina e lamínula (ABNT 15.268/2005), Lâminas plásticas KCell e Câmara de Neubauer. Os três métodos utilizam o método de centrifugação com remoção do sobrenadante como ferramenta para concentração dos elementos no sedimento urinário. Cada laboratório deve padronizar a metodologia que será utilizada, e normatizar velocidade e tempo de centrifugação, assim como volume de amostra conforme o método escolhido (MUNDT, 2012).

No entanto, o *European Confederation of Laboratory Medicine* (ECLM), recomenda atenção ao fato de que a etapa de centrifugação das amostras de urina, apesar de ser uma ferramenta útil para concentração dos elementos urinários, é também uma importante fonte de erros analíticos (EUG, 2000).

A microscopia ótica comum de campo claro (MO) é a mais empregada nos laboratórios clínicos, porém, existem outras opções em casos específicos, como microscopia com contraste de fase, luz polarizada, campo escuro, fluorescência e de interferência (STRASINGER, 2014). No caso da MO, recomenda-se o uso de diafragma ajustado para permitir passagem de pouca luz e gerar o contraste adequado com uso contínuo do botão micrométrico, o qual permite a visualização da profundidade dos elementos e de materiais que estejam em plano focal diferente (MUNDT, 2012). Para observação de estruturas que podem estar presentes em pequena quantidade, como cilindros e alguns cristais, recomenda-se visualização em menor aumento (100x). Em seguida, altera-se para o maior aumento (400x) para visualização e quantificação dos demais elementos (MUNDT, 2012).

5.3. AUTOMAÇÃO EM URINÁLISE

A automação pode ser definida como a aplicação de técnicas computadorizadas ou mecânicas com o objetivo de tornar um processo mais eficiente, maximizando a produção com menor gasto de energia (aplicação de mão-de-obra especializada em atividade de baixa geração de valor) e gerando maior segurança e confiabilidade no resultado obtido (CAMPANA, 2011).

Nas análises clínicas, a automação apresenta-se como resultado de avanços importantes na tecnologia que culminaram com o desenvolvimento de equipamentos laboratoriais mecanizados interligados por meio de interface com equipamentos e programas computadorizados como suporte. Seu uso não apenas aumenta a produtividade nos laboratórios clínicos, mas também reduz a exposição ao risco biológico, reduz custos operacionais, agiliza o processo de liberação de resultados e oferece melhora na performance dos procedimentos (NOGUEIRA NETO, 2017).

No passado, um único exame de urina poderia levar cerca de duas horas para ser realizado. Os métodos químicos eram executados individualmente com reagentes apropriados para cada pesquisa. Atualmente, a análise química automatizada utilizando método de leitura por fotometria de reflectância, ocorre em cerca de um minuto sendo que, se realizada de forma manual, cada leitura da tira reativa pode levar até dois minutos (NOGUEIRA NETO, 2017).

Os analisadores para Urinálise disponíveis no mercado podem ser diferenciados em leitores de tiras, leitores semi-automáticos, analisadores automáticos de sedimento urinário e analisadores de urina totalmente automáticos, os quais realizam tanto a análise química quanto a análise do sedimento urinário (MUNDT, 2012).

Órgãos internacionais como o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) e o *European Confederation of Laboratory Medicine* (ECLM), e também a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) recomendam o uso de sistemas comerciais padronizados para contagem de elementos por unidade de volume, e não mais contagem por campo microscópico. Além disso, recomendam como alternativa ao método microscópico manual, a análise do sedimento urinário por instrumento automático ou semi-automático, com o qual seria possível obter melhor reprodutibilidade quando comparado à microscopia manual realizada por diferentes analistas (CLSI, 2001; ABNT, 2005; EUG, 2000).

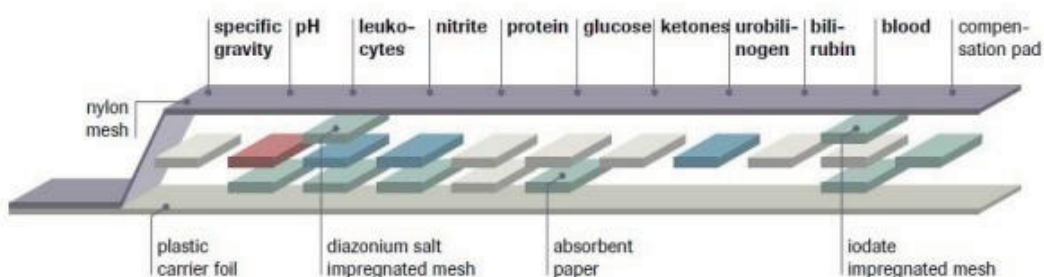
5.3.1. Automação na análise química da urina

Desde o lançamento da primeira tira reagente no mercado ocorreram pequenos avanços com melhoria nas técnicas de impregnação da tira, indicador de cor mais estável e aperfeiçoamento na graduação das cores indicadas, o que

contribuiu para a disseminação do seu uso nos laboratórios clínicos como instrumento diagnóstico confiável (ROCHE, 2010 (2)).

A tira reagente (FIGURA 1) consiste em um suporte plástico com pequenas almofadas absorventes impregnadas com substâncias químicas aderidas. Quando a amostra de urina é colocada em contato com as almofadas, reações químicas acontecem e são evidenciadas pela mudança na sua coloração. O QUADRO 2 apresenta um resumo das reações químicas envolvidas na pesquisa de cada parâmetro químico analisado na urina (STRASINGER, 2014).

FIGURA 1 – VISÃO LATERAL DA TIRA REAGENTE DA MARCA COMBUR-TEST®



FONTE: ROCHE (2018 (2)).

QUADRO 2 - RESUMO DOS PRINCÍPIOS DOS TESTES ENVOLVIDOS NAS ANÁLISES DE CADA PARÂMETRO QUÍMICO DA URINA.

(continua)

PARÂMETRO	PRINCÍPIO DO TESTE
Urobilinogênio	Reação de Ehrlich em que o dimetilaminobenzaldeído reage com urobilinogênio, com formação de pigmento de cor rosa.
Glicose	Reação enzimática dupla seqüencial. A glicose oxidase catalisa a formação de ácido glutâmico e peróxido de hidrogênio para a oxidação da glicose. A peroxidase catalisa a reação de peróxido de hidrogênio com o cromogênio iodeto de potássio para oxidar o cromógeno para mudança de cor de azul ao verde para marrom.
Corpos cetônicos	Desenvolvimento de alterações de cor entre amarelo-rosa para uma leitura negativa para marrom quando o ácido acetoacético reage com nitroprussiato.
Bilirrubina	Ligação da bilirrubina com dicloroanilinadiazotizado em meio ácido forte. As cores variam através de vários tons de rosa até violeta.

QUADRO 2 - RESUMO DOS PRINCÍPIOS DOS TESTES ENVOLVIDOS NAS ANÁLISES DE CADA PARÂMETRO QUÍMICO DA URINA.

(conclusão)

PARÂMETRO	PRINCÍPIO DO TESTE
Proteína	Este teste é baseado na mudança de cor pelo indicador azul de tetrabromofenol na presença de proteína. A reação positiva é indicada pela mudança de cor do amarelo/verde.
Nitrito	Depende da conversão do nitrato (derivado da dieta) em nitrito pela ação de bactérias Gram negativas na urina. Com o pH ácido da área reagente, o nitrito da urina reage com o ácido p-arsanílico para formar um composto de diazônio. O composto de diazônio se liga ao N-naftiletilenodiaminadihidroclorato e produz a cor rosa.
pH	Princípio do indicador duplo que dá uma ampla variação de cores cobrindo toda a faixa de pH da urina. A faixa de cores varia do laranja ao amarelo e do verde ao azul.
Sangue/Hemoglobina	Atividade da peroxidase ligada a hemoglobina, que catalisa a reação do hidroperóxido orgânico e cromógeno. A cor resultante varia de amarelo ao verde até azul escuro. O aparecimento de manchas verdes na área reagente indica a presença de eritrócitos intactos na urina.
Densidade	Mudança de pKa de certos polieletrólitos pré-tratados em relação à concentração iônica. Na presença de um indicador, a coloração varia de azul escuro na urina de concentração iônica baixa até verde e verde amarelado em urinas de concentração iônica aumentada.
Leucócitos	Desenvolvimento de cor variando do bege (leitura negativa) à rosa, quando o Naftol AS-D cloroacetato, que está ligado por uma ligação éster é liberado pela ação hidrolítica da esterase e se acopla ao sal diazônio para formar um corante azo colorido.

FONTE: Adaptado de YD (2014); WAMA (2010).

Os leitores de tiras são encontrados em versões que atendem desde ambulatórios ou laboratórios pequenos, com capacidade para realizar entre 20 e 50 exames por dia; aparelhos semi-automáticos para laboratórios de médio porte, com demanda entre 50 e 100 exames por dia; ou ainda aparelhos totalmente automatizados para laboratórios com alto volume de amostras, acima de 100 exames por dia (ROCHE, 2018 (3)).

A leitura das tiras reagentes quando realizada visualmente pelo analista apresenta problemas como dificuldade na diferenciação das cores entre indivíduos

diferentes, influência da luz no ambiente de trabalho, possibilidade de declínio na concentração dos elementos de cor quando se realiza análise de várias amostras simultaneamente e dificuldade em utilizar o tempo correto de reação para cada área reagente. Tais situações levam a falhas na padronização da leitura. Dessa forma, a automação aprimorou essa análise por meio de uma maior padronização das medições, maior rapidez nas leituras e da documentação dos resultados de maneira confiável (ROCHE, 2010 (1)). Rumley (2000) publicou um artigo que apresenta uma comparação da leitura da tira reagente visualmente e através do leitor de tiras CLINITEK 50 da Bayer®. O trabalho mostrou discrepâncias entre as leituras realizadas pelos dois métodos e que, de fato, o leitor de tiras melhora a reprodutibilidade mostrando que o fator subjetivo humano interfere nas leituras. Isso foi verificado com resultados obtidos por operadores distintos, em que claramente um deles realizava leituras tendendo para resultados mais elevados do que as do aparelho, enquanto outro operador realizava leituras tendendo para resultados mais baixos quando comparados ao aparelho. O autor ressalta a problemática que as medições erradas podem ocasionar na decisão médica, especialmente no controle de glicose e proteína na urina.

5.3.1.1. Fotometria por reflectância

Os equipamentos com leitores de tiras empregam o método da fotometria por reflectância para efetuar as medições de cor. A fotometria pode ser definida como a medição da intensidade ou da quantidade de luz luminosa que atinge uma superfície a partir de uma fonte luminosa. O uso do termo medição fotométrica foi definido originalmente como o processo usado para medir a intensidade da luz, independentemente do comprimento de onda. No entanto, a maioria dos instrumentos modernos, isola uma faixa estreita do espectro de comprimentos de onda para efetuar as medições. Aqueles que usam filtros para esse propósito são chamados de fotômetros de filtro, enquanto aqueles que usam prismas ou grelhas são chamados de espectrofotômetros (BURTIS, C.A; BRUNS, D. E., 2016).

O termo “energia” se refere ao que foi transmitido por ondas eletromagnéticas caracterizadas pela sua frequência e seu comprimento de onda, enquanto o termo “luz” se refere a energia radiante do ultravioleta até as porções de luz visível do

espectro (290 a 750 nm), sendo que analiticamente o comprimento de onda representa uma posição específica no espectro, sendo < 380 nm região ultravioleta, entre 380 a 750 região visível e > 750 região infravermelho (BURTIS, C.A; BRUNS, D. E., 2016).

Na fotometria por reflectância, uma fonte de luz difusa é utilizada para iluminar um campo de reação em um carreador e efetua-se a mensuração da luz refletida. Alternativamente, o carreador é iluminado e o campo de reação gera uma luz refletida difusa, a qual é medida. A intensidade da luz refletida do carreador de reagentes é comparada à intensidade da luz refletida por uma superfície de referência. Para fazer a conversão do valor medido de intensidade da luz refletida, parâmetro não linear em relação à concentração do analito, utiliza-se a equação de Kubelka-Munk ou a transformação de Clapper-Williams, que converte os dados a um formato linear. A Equação de Kubelka-Munk consiste nas duas equações que seguem:

$$F(R) = \frac{(1 - R_\lambda)^2}{2R_\lambda} \quad (1)$$

F(R) = Função de Kubelka-Munk

R_λ = Reflectância em cada comprimento de onda

$$R = 1 + F(R)_\lambda - \sqrt{(2 F(R)_\lambda + (F(R)_\lambda)^2)} \quad (2)$$

R = Reflectância (linear)

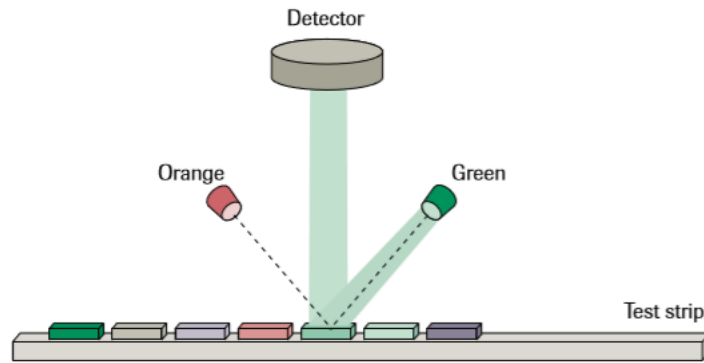
$F(R)_\lambda$ = Função de Kubelka-Munk

A primeira equação converte o valor medido de reflectância em uma função F(R). Após efetuar os cálculos, utiliza-se a segunda equação para retornar ao valor de reflectância, de forma linear em relação à concentração do analito. A fotometria de reflectância utiliza basicamente os mesmos componentes da fotometria de absorbância sendo usada como método de medição em sistemas automatizados de química seca (BURTIS, C.A; BRUNS, D. E., 2016).

Nos sistemas automatizados para Urinálise utiliza-se como fonte de luz um LED (*light emitting diodes*) com comprimentos de onda específicos e com tempo de

medição ajustados para que ocorra a reação química nos campos testes da tira reagente. A FIGURA 2 mostra um esquema simplificado de um sistema para medição da cor utilizando a fotometria por reflectância.

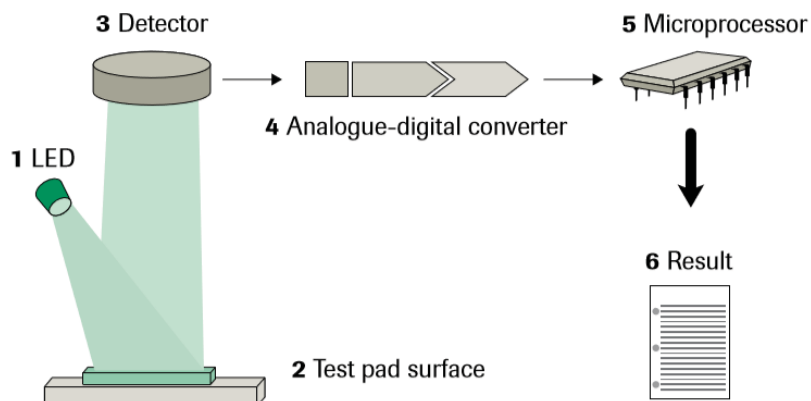
FIGURA 2 – ESQUEMA DE MEDIÇÃO DA COR POR FOTOMETRIA DE REFLECTÂNCIA



FONTE: ROCHE (2010 (1)).

O processamento do resultado de cada campo de reação da tira reagente depende de outros componentes do sistema. O método de fotometria de reflectância permite obter com alta precisão as mínimas alterações de cor que podem surgir nos campos de reação. Como não é possível eliminar todas as interferências que podem ocorrer nas reações químicas utilizadas nos testes, existe uma zona de compensação na tira reagente que é medida e automaticamente calculada para eliminar a coloração intrínseca da amostra de urina. O esquema a seguir (FIGURA 3) ilustra o processo de medição dos parâmetros químicos da urina em um analisador.

FIGURA 3 – ESQUEMA DA LEITURA DOS RESULTADOS DA TIRA REAGENTE



FONTE: ROCHE (2010 (1)).

Uma fonte de LED (1) emite luz em um comprimento de onda específico na superfície do campo teste (2) em um ângulo ótimo. A luz é refletida da superfície e capturada pelo detector (3). O fototransistor envia um sinal elétrico analógico para um conversor A/D (4), que o converte em um sinal digital. Um microprocessador (5) converte o sinal digital em um valor de reflectância por meio da relação com um calibrador padrão. Os valores de reflectância são comparados com os intervalos de medição definidos (valores de reflectância que são programados no analisador para cada parâmetro). São gerados os resultados semi-quantitativos (6), impressos ou enviados através de interface para os computadores para emissão de laudos técnicos (ROCHE, 2018 (1)). Antes de cada medição, o sistema óptico é testado para variações no brilho do LED e na sensibilidade do detector. Caso a tira não esteja na posição correta, o resultado não é emitido e a análise precisará ser repetida. O resultado da gravidade específica é automaticamente corrigido se o valor do pH estiver elevado (ROCHE, 2010 (1)).

5.3.2. Automação na análise microscópica

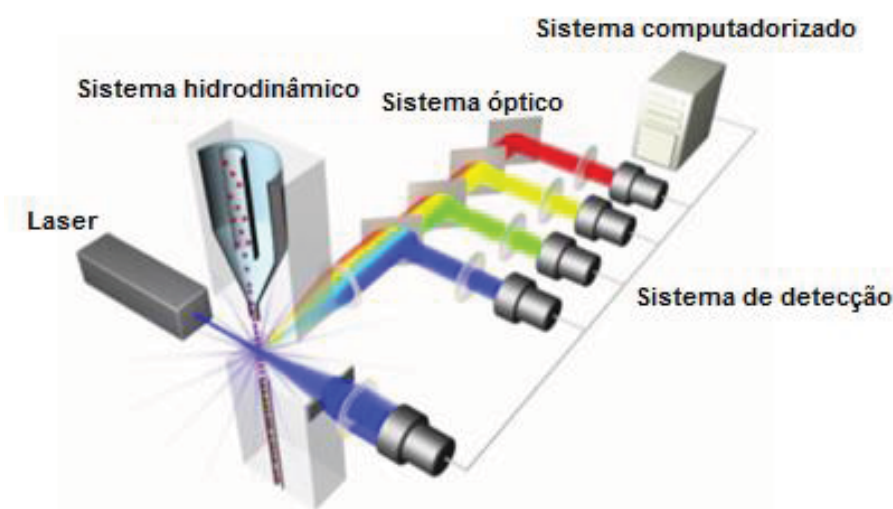
Atualmente, os aparelhos automatizados para análise microscópica da urina utilizam métodos por citometria de fluxo, imagem digital com reconhecimento de partículas ou microscopia automatizada com imagem digital.

5.3.2.1. *Citometria de fluxo*

Citometria é a medida quantitativa de células ou de seus componentes. A citometria de fluxo é um método quantitativo que aplica conceitos de óptica e hidrodinâmica para realizar medidas de células ou seus componentes (SOARES, 2012). Os citômetros de fluxo são constituídos por três sistemas acoplados em sequência (hidrodinâmico, óptico e de detecção) (FIGURA 4): O sistema hidrodinâmico é formado por dois condutos para fluídos em fluxo laminar, que se unem dando origem à câmara de fluxo. O fluído da amostra é injetado em um caminho central de fluxo laminar, e é envolvido pelo fluído de revestimento. Como o fluído de revestimento é injetado a uma velocidade maior que a da amostra, pelo princípio de Bernoulli, cria-se um caminho central de baixa pressão onde as células

tendem a se manter, e com um ajuste nas velocidades dos fluídos e um estreitamento no caminho do fluxo, é possível atingir uma condição em que somente uma célula passe de cada vez através do ponto onde está posicionado um feixe de luz direcionado (SOARES, 2012). O sistema óptico utiliza uma fonte de laser proporcionando uma grande quantidade de luz monocromática em cada célula que passa através do citômetro de fluxo. Entre a fonte do laser e a câmara de fluxo é colocada uma lente convergente, que foca o laser em um ponto exato da câmara. Logo após a câmara, em linha reta, é posicionado um bloco pequeno para bloquear o feixe de laser e atrás desse bloco, um detector com uma área maior (detector de luz frontal). A 90° do feixe de laser, lateral à câmara, é posicionada uma lente convergente que direciona a luz desviada lateralmente após exposição da célula para o restante do sistema óptico. Filtros dicróicos colocados em sequência selecionam faixas de comprimento de onda a serem divididas para os diversos detectores específicos (SOARES, 2012). O sistema de detecção apresenta fotomultiplicadores para detectar os fótons provenientes do sistema óptico, convertendo-os em uma corrente elétrica amplificada e proporcional ao número de fótons incidentes no detector. O princípio utilizado é o do fenômeno fotoelétrico e da emissão secundária de elétrons. Essa corrente elétrica é processada pelo sistema eletrônico do aparelho e convertida em um sinal digital que é processado pelo sistema computadorizado (SOARES, 2012).

FIGURA 4 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UM CITÔMETRO DE FLUXO SIMPLES.



FONTE: Adaptado de INVITROGEN (2017).

A citometria de fluxo, método já amplamente utilizado nas análises hematológicas, foi introduzido na Urinálise na década de 90, com o lançamento pela fabricante Sysmex® da linha UF de analisadores urinários. Em 1995, a empresa colocou no mercado o modelo UF-100®, seguido pelo UF-50® em 1997, e finalmente em 2006 o aparelho UF-1000® SYSMEX (FIGURA 5) (HENNEBERG, 2014).

FIGURA 5 – ANALISADOR UF-1000® SYSMEX



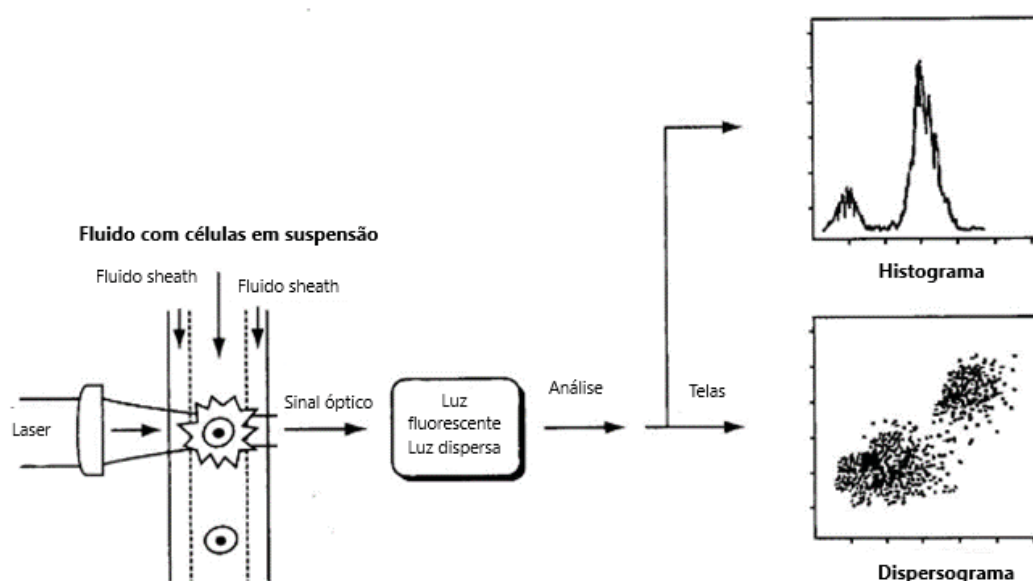
FONTE: SYSMEX (2015).

A urina é um material biológico composto por elementos muito heterogêneos, sendo que o seu sedimento não é constituído apenas por células, mas também por cristais, cilindros, bactérias, fungos e parasitas, além de outros elementos artefatuais que podem estar presentes. Esses elementos apresentam uma variedade muito grande de formas, tamanhos e características e, por esta razão, os analisadores urinários por citometria de fluxo utilizam um conjunto de medições que realizam a separação e a diferenciação dos elementos (HENNEBERG, 2014).

O conceito do equipamento UF-1000® SYSMEX é de um analisador totalmente automatizado, capaz de realizar análise dos elementos que compõe o sedimento urinário utilizando como metodologia a citometria de fluxo com fluorescência. As medidas de fluorescência correspondem às estruturas internas dos elementos formados. O DNA e as membranas dos elementos formados na urina são marcados seletivamente com fenantridina para ácidos nucleicos e carbocianina para membranas celulares.

O princípio de funcionamento do UF-1000[®] consiste na entrada da amostra de urina, um fluido com células (e outros elementos) em suspensão, no sistema do analisador juntamente com o fluido de arraste (fluido *sheath*), um líquido condutor de eletricidade, que arrasta todos os elementos urinários sendo forçados a passar individualmente por uma câmara de contagem (FIGURA 6). As células conduzem mal a eletricidade e, por isso, ao passarem pelos sensores de condutividade da câmara de contagem, modificam a diferença de potencial destes, gerando um sinal proporcional ao seu tamanho. Em seguida, os elementos são direcionados a uma fonte de laser, geralmente de argônio, que incide sobre os elementos individualmente. Esse laser excita os compostos de carbocianina aderidos às membranas celulares e emitem uma fluorescência esverdeada, enquanto os compostos de fenantridina aderidos ao DNA emitem fluorescência alaranjada. Paralelamente à captação da luz fluorescente emitida pelos elementos celulares, ocorre o desvio ou dispersão do laser em várias direções. O sinal óptico é detectado e interpretado pelo sistema computadorizado, com geração de gráficos de dispersão (dispersogramas) e histogramas (HENNEBERG, 2014). Dessa forma, os elementos urinários são analisados e classificados, levando-se em consideração o volume (impedância), o tamanho (dispersão de luz) e as características tintoriais (fluorescência) nucleares e citoplasmáticas (BOTTINI, 2006; MUNDT, 2012).

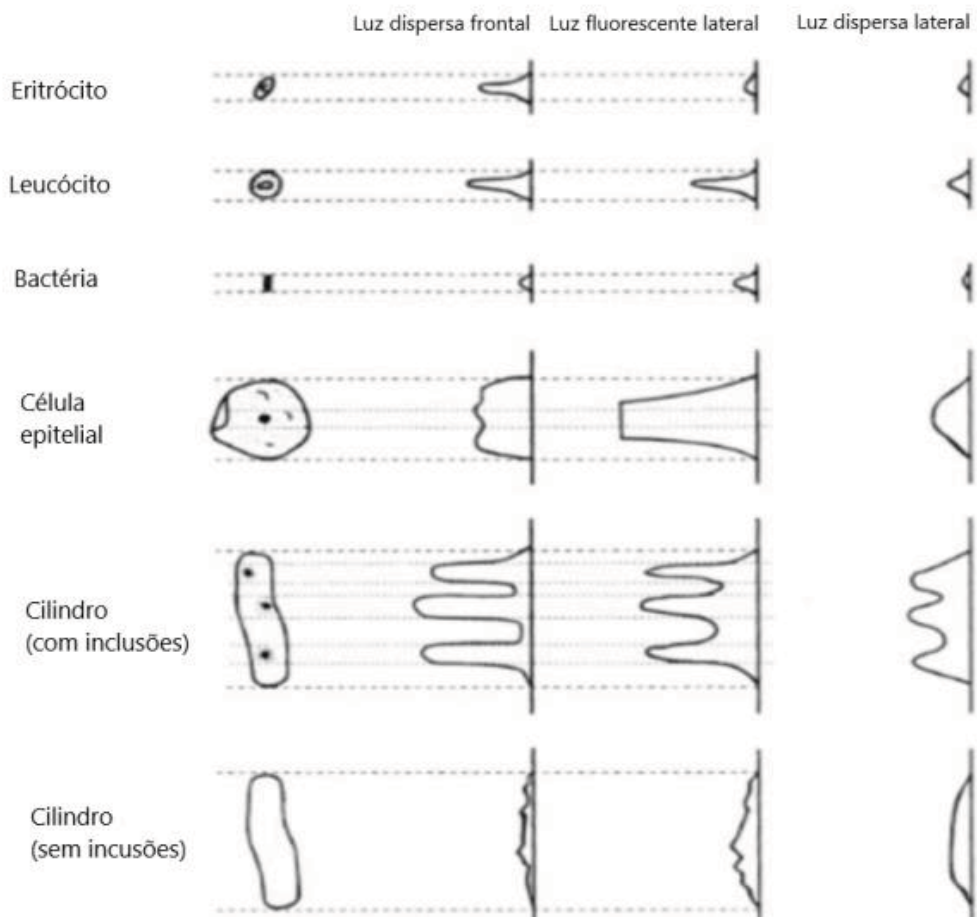
FIGURA 6 – DIAGRAMA DO PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO DO ANALISADOR POR CITOMETRIA DE FLUXO COM FLUORESCÊNCIA.



FONTE: Adaptado de UCL (2016).

Para a correta interpretação dos gráficos de dispersão e histogramas gerados pelo UF-1000[®] é importante entender como são formados. A FIGURA 7 esquematiza os histogramas obtidos para cada célula que passa pelo citômetro de fluxo. Através do tratamento das informações detectadas pelo aparelho em relação à luz dispersa frontal (FSC) e intensidade da luz fluorescente (FI) é possível distinguir os elementos. No eixo vertical verifica-se o tempo (representativo do tamanho) do sinal e no eixo horizontal, a intensidade do sinal.

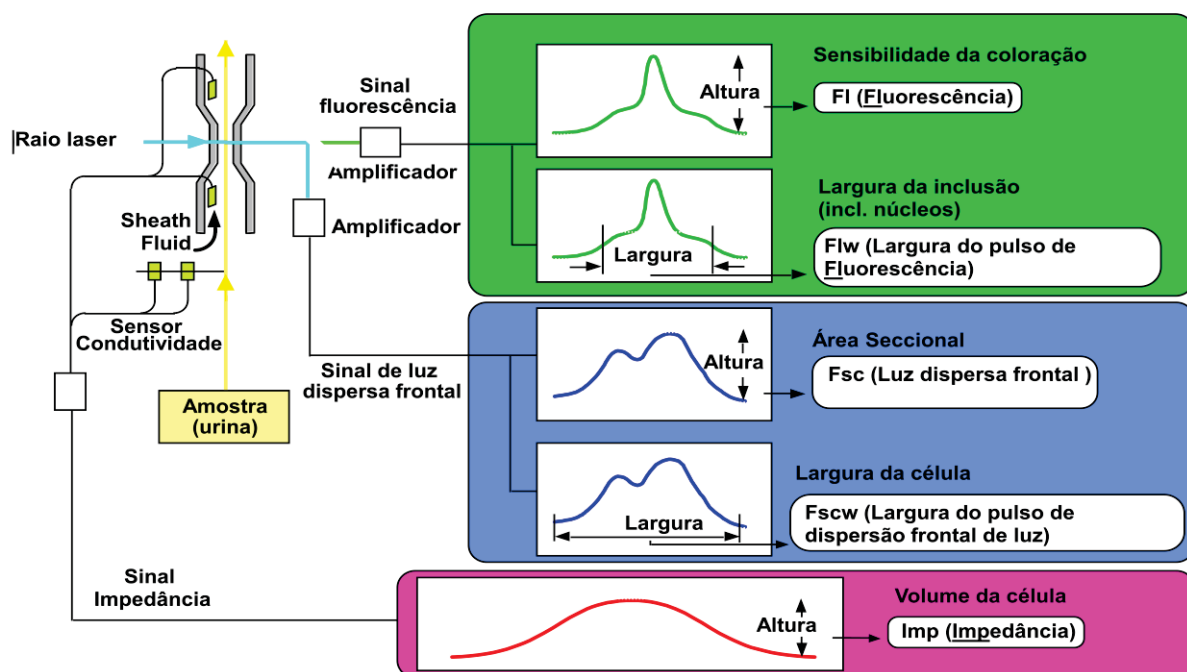
FIGURA 7 – EXEMPLOS DE HISTOGRAMAS DE INTERPRETAÇÃO DA LUZ DISPERSA FRONTAL, LUZ FLUORESCENTE LATERAL E LUZ DISPERSA LATERAL OBTIDOS POR CITOMETRIA DE FLUXO COM FLUORESCÊNCIA.



FONTE: Adaptado de UCL (2016).

A FIGURA 8 demonstra de forma esquemática novamente a interpretação dos gráficos, considerando-se a altura e a largura do pulso de fluorescência, da dispersão frontal de luz e do sinal de impedância na identificação dos elementos urinários.

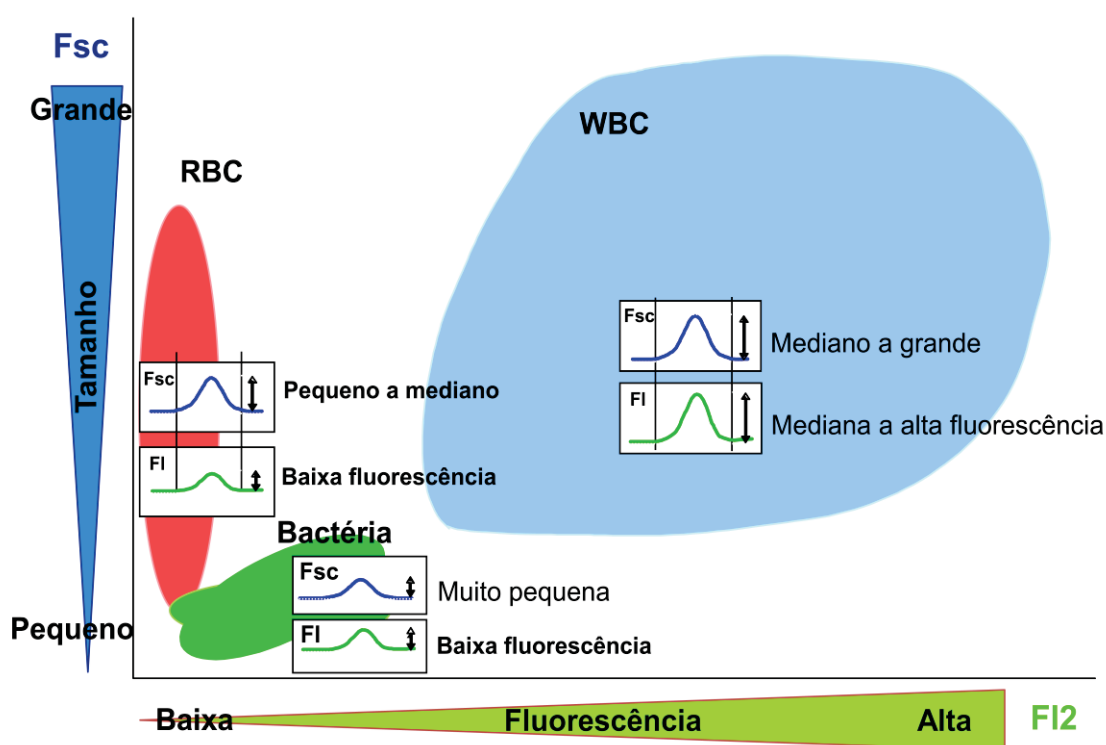
FIGURA 8 – DIAGRAMA DE INTERPRETAÇÃO DOS GRÁFICOS DE SINAL DE FLUORESCÊNCIA, SINAL DE LUZ DISPERSA FRONTAL E SINAL DE IMPEDÂNCIA PARA IDENTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS URINÁRIOS POR CITOMETRIA DE FLUXO.



FONTE: HAUSER (2018).

Ao plotar os dados obtidos com os sinais de fluorescência versus os sinais de dispersão frontal obtém-se o dispersograma FSC/FI, onde é possível identificar os elementos através das características dos sinais emitidos. As hemácias, leucócitos e bactérias (FIGURA 9) podem ser classificados conforme a altura da dispersão frontal e fluorescência.

FIGURA 9 – DISPERSOGRAMA FSC/FI CARACTERIZANDO A DISTRIBUIÇÃO PARA HEMÁCIAS, LEUCÓCITOS E BACTÉRIAS POR CITOMETRIA DE FLUXO.

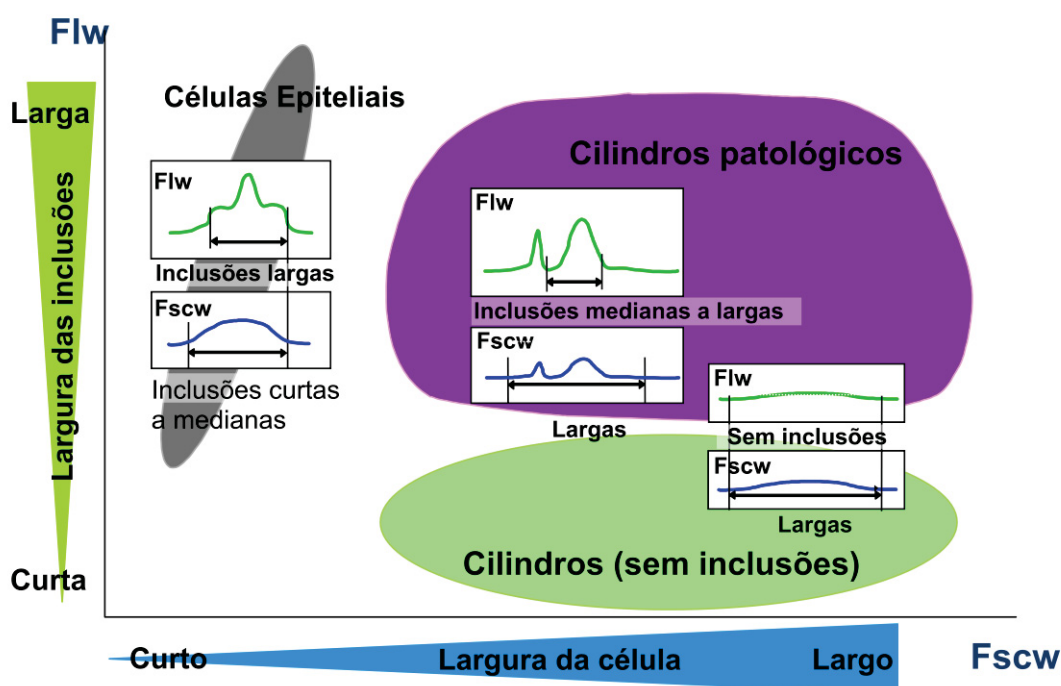


FONTE: HAUSER (2018).

Já as células epiteliais, cilindros sem inclusão e cilindros patológicos (com inclusões) são classificados conforme a largura da dispersão frontal e fluorescência, levando-se em consideração as inclusões, demonstrado no dispersograma de Largura do pulso de fluorescência (Flw)/Largura do pulso de dispersão frontal de luz (Fscw), conforme FIGURA 10.

Outros dispersogramas podem ser analisados para diferenciação de hemácias com alterações de forma e tamanho e outros elementos urinários.

FIGURA 10 – DISPERSOGRAMA FLW/FSCW CARACTERIZANDO A PRESENÇA DE CÉLULAS EPITELIAIS, CILINDROS SEM INCLUSÕES E CILINDROS PATOLÓGICOS (COM INCLUSÕES).



FONTE: HAUSER (2018).

5.3.2.2. Imagem digital com reconhecimento de partículas

O equipamento iQ[®]200 fabricado pela *Iris Diagnostics Division International Inc.* utiliza microscopia automatizada com reconhecimento de partículas. Para análise completa de amostras de urina, o iQ[®]200 precisa ser acoplado ao aparelho AUTION MAX[®] (FIGURA 11), que realiza a análise química da urina (MUNDT, 2012).

FIGURA 11 – ANALISADOR IQ[®]200 (AO CENTRO) ACOPLADO AO APARELHO AUTION MAX[®] (À DIREITA).



FONTE: MUNDT (2012)

Mais recentemente foi lançado o aparelho da linha iRICELL®, com dois módulos acoplados, iChem VELOCITY®, para análise química e o iQ®200 ELITE para análise microscópica (FIGURA 12) (BECKMAN COULTER, 2017).

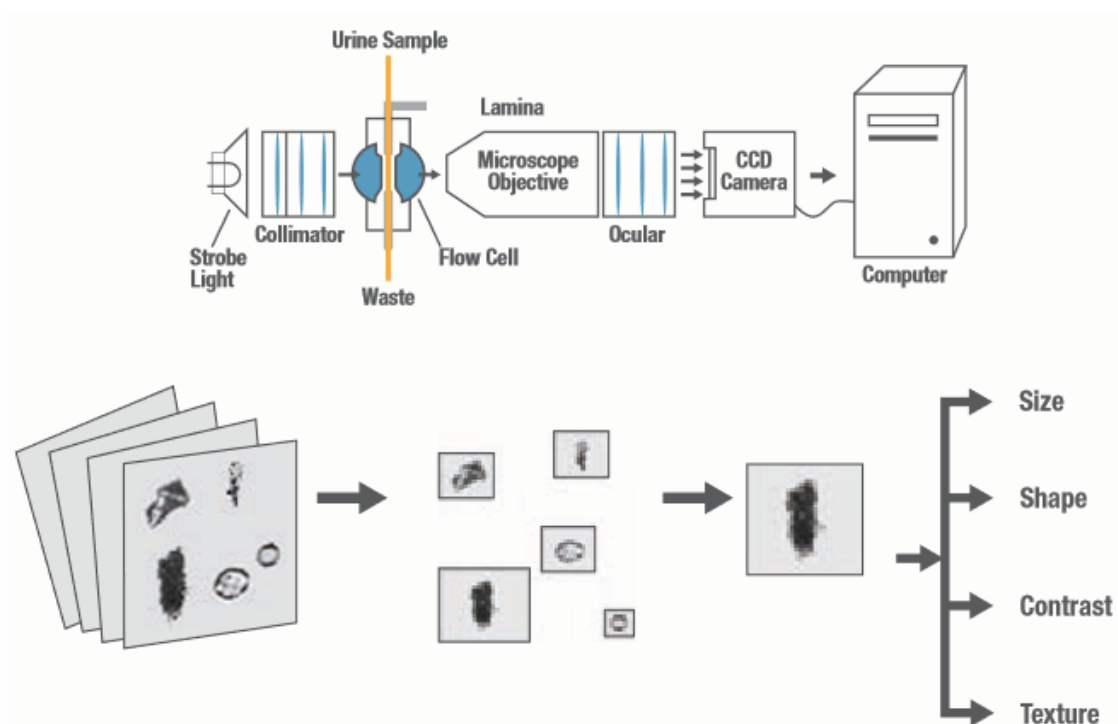
FIGURA 12 – ANALISADOR DA SÉRIE IRICELL®, COM O MÓDULO IQ®200 ELITE (À ESQUERDA) E O MÓDULO ICHEM VELOCITY® (À DIREITA).



FONTE: BECKMAN COULTER (2017).

O princípio de funcionamento do iQ®200 utiliza a tecnologia patenteada da Morfologia de Fluxo Digital (DFM), a qual isola, identifica e caracteriza as partículas na tela. O sistema utiliza a microscopia de imagem de fluxo, que por meio de uma câmera digital de alta definição captura individualmente imagens de cada partícula em uma amostra e através de um programa de inteligência artificial para reconhecimento de partículas acoplado faz a identificação dos elementos. A FIGURA 13 ilustra o esquema de funcionamento do IRICELL (BECKMAN COULTER, 2014)

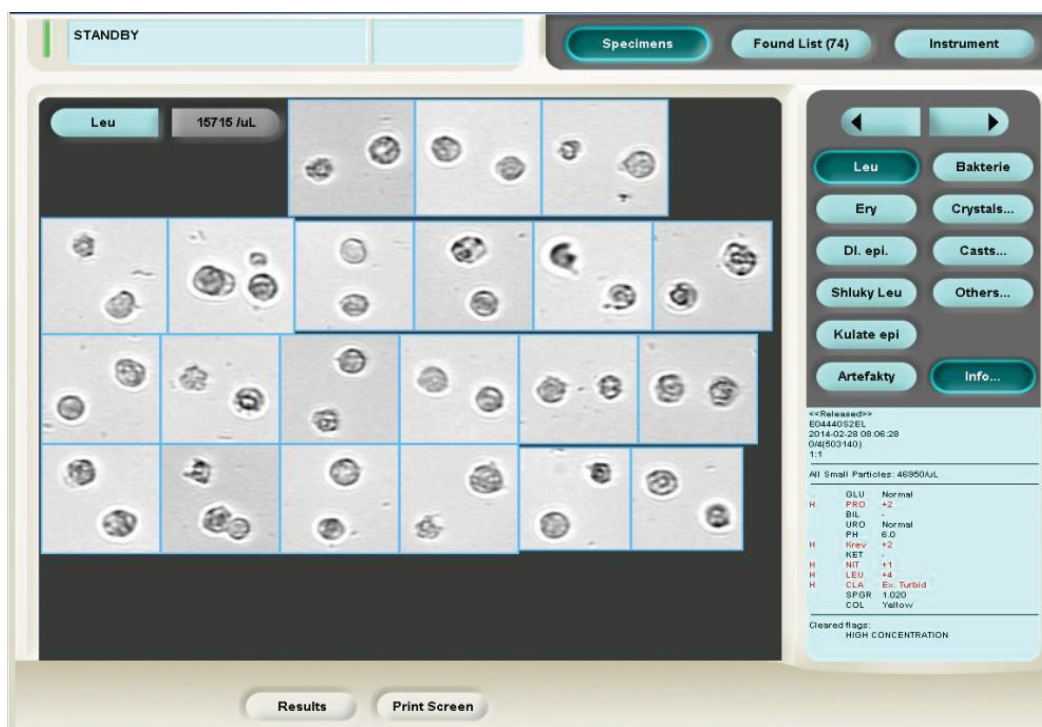
FIGURA 13 – ESQUEMA DE FUNCIONAMENTO DO APARELHO IQ®200.



FONTE: BECKMAN COULTER (2017).

A amostra de urina (não centrifugada) é aspirada e colocada em um sistema que gera uma camada única em fluxo laminar que se desloca ao longo da lente objetiva do microscópio do aparelho. Uma câmera digital, iluminada por uma luz estroboscópica, captura 500 *frames* ou quadros por amostra. A FIGURA 14 mostra um exemplo de imagem fornecida pelo aparelho IQ®200. Em seguida, o programa *Auto-Particle Recognition*® analisa as imagens de cada quadro e identifica os elementos individualmente comparando tamanho, forma, contraste e textura. São identificadas as seguintes estruturas: eritrócitos, leucócitos, bactérias, cilindros hialinos, cilindros patológicos, cristais, células epiteliais escamosas, células epiteliais não escamosas, leveduras, espermatozóides e muco. O fabricante recomenda a avaliação das imagens digitais por um técnico experiente, correlacionando com os achados químicos e físicos da amostra, antes da liberação dos resultados (MUNDT, 2012).

FIGURA 14 – CAPTURA DE TELA MOSTRANDO EXEMPLO DE IMAGENS FORNECIDAS PELO APARELHO IQ®200.



FONTE: BENOVSKA (2015).

5.3.2.3. Microscopia automatizada com imagem digital

Esta nova tecnologia para análise de sedimento urinário foi recentemente introduzida e pode ser comparada com a microscopia convencional. O equipamento UriSed®II fabricado pela empresa 77 Elektronika da Hungria, e distribuído no Brasil pela empresa Alere™, e o equipamento Cobas® 6500 fabricado e distribuído no Brasil pela empresa ROCHE, ambos utilizam essa mesma tecnologia.

Neste tipo de aparelho uma camada única de sedimento urinário é formada por centrifugação em uma cubeta especial. O sedimento é analisado por microscopia em campo claro e uma câmera digital é utilizada para capturar as imagens. Em seguida, as partículas são categorizadas, baseado no tamanho e forma, usando um *software* processador de imagens (BLOCK; LIESKE, 2012).

O equipamento totalmente automatizado distribuído pela Alere™ no Brasil é composto pelo módulo da LabUMat®II, que realiza a análise química com tira reagente, acoplado ao UriSed®II para análise do sedimento urinário (FIGURA 15).

FIGURA 15 – ANALISADOR URISED®II (AO CENTRO) ACOPLADO AO APARELHO LABUMAT®II (À DIREITA)



FONTE: ALERE (2017).

O UriSed®II realiza o preparo da amostra, depositando uma pequena alíquota de 200 µL de urina homogeneizada na cubeta e submetendo à centrifugação a 2000 rpm por 10 segundos. Em seguida, a cubeta é posicionada na área de microscopia onde são capturadas de 5 a 20 campos (previamente programado pelo operador) de cada amostra e utiliza o chamado AIEM (*Auto Image Evaluation Module* ou Módulo automático de avaliação de imagem), um *software* processador de imagens de alta qualidade. Com isso, é capaz de reconhecer os seguintes parâmetros: eritrócitos, leucócitos, cilindros hialinos, cilindros patológicos, células epiteliais escamosas, células epiteliais não escamosas, bactérias, leveduras, cristais (oxalato de cálcio monohidratado, oxalato de cálcio diidratado, ácido úrico, fosfato triplo), muco e espermatozóides. Outras subclasses podem ser adicionadas manualmente pelo operador após análise das imagens digitais (URISED, 2014).

O equipamento Cobas® 6500 (FIGURA 16) é formado pelo módulo 601, que realiza a análise físico-química da urina e, pelo módulo 701, que realiza a análise do sedimento urinário. Neste módulo, ocorre a homogeneização e pipetagem de uma pequena alíquota da amostra em cubetas especiais ou cuvetes (FIGURA 17). Em seguida, é feita a centrifugação automatizada (2000 rpm por 10 segundos) formando a camada única de sedimento urinário (FIGURA 17). A cuvette é então movida até a estação de microscopia onde uma câmera digital captura 15 imagens de cada amostra (FIGURA 18). As imagens são analisadas por um *software* processador de imagens, que faz a distinção de 11 parâmetros, sendo eles: eritrócitos, leucócitos, células epiteliais escamosas, células epiteliais não escamosas, leveduras, cristais, bactérias, cilindros hialinos, cilindros patológicos, espermatozóides e muco. A

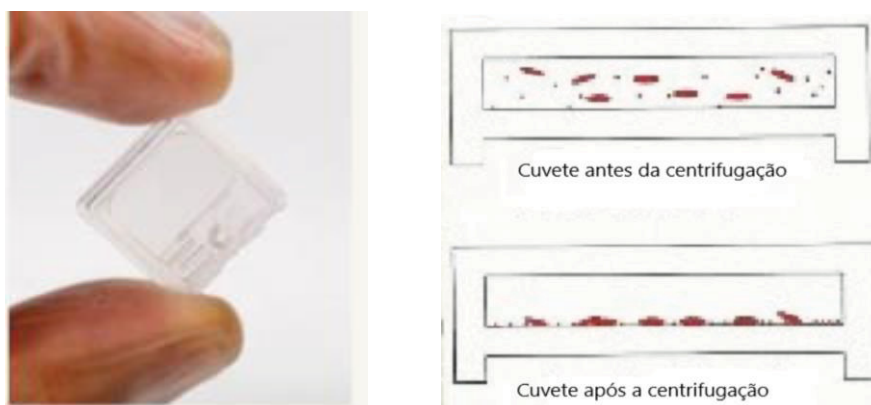
FIGURA 19 mostra a captura da tela de trabalho do aparelho. E a FIGURA 20 mostra um exemplo de imagem obtida pelo aparelho Cobas® 6500, com a identificação dos elementos de acordo com o sistema de reconhecimento de partículas. Em caso de discordância do analista, é possível editar a identificação dos elementos. O sistema de microscopia automatizada fornece quantificação de alguns parâmetros, semi-quantificação ou classificação qualitativa de partículas, sendo possível a reclassificação manual pelo operador em caso de discordância (ROCHE, 2017).

FIGURA 16 - ANALISADOR AUTOMATIZADO COBAS® 6500. COMPOSTO PELO MÓDULO 601 (À DIREITA) E MÓDULO 701 (À ESQUERDA).



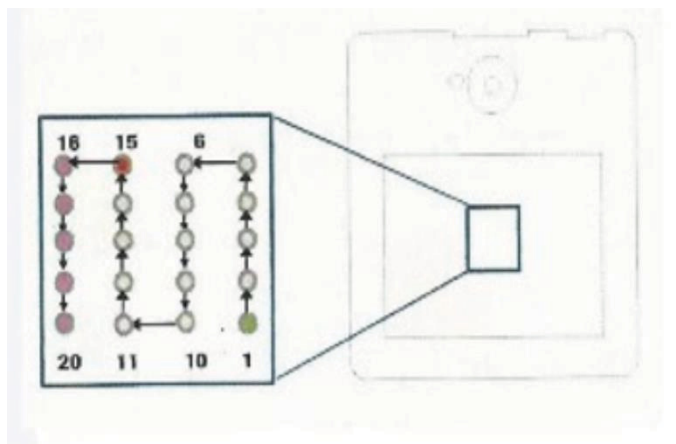
FONTE: ROCHE (2017).

FIGURA 17 – CUVETE ESPECIAL DO COBAS® 6500 (À ESQUERDA) E ILUSTRAÇÃO DE CORTE LATERAL DA CUVETE MOSTRANDO A DISPOSIÇÃO DOS ELEMENTOS URINÁRIOS ANTES E APÓS A CENTRIFUGAÇÃO (À DIREITA).



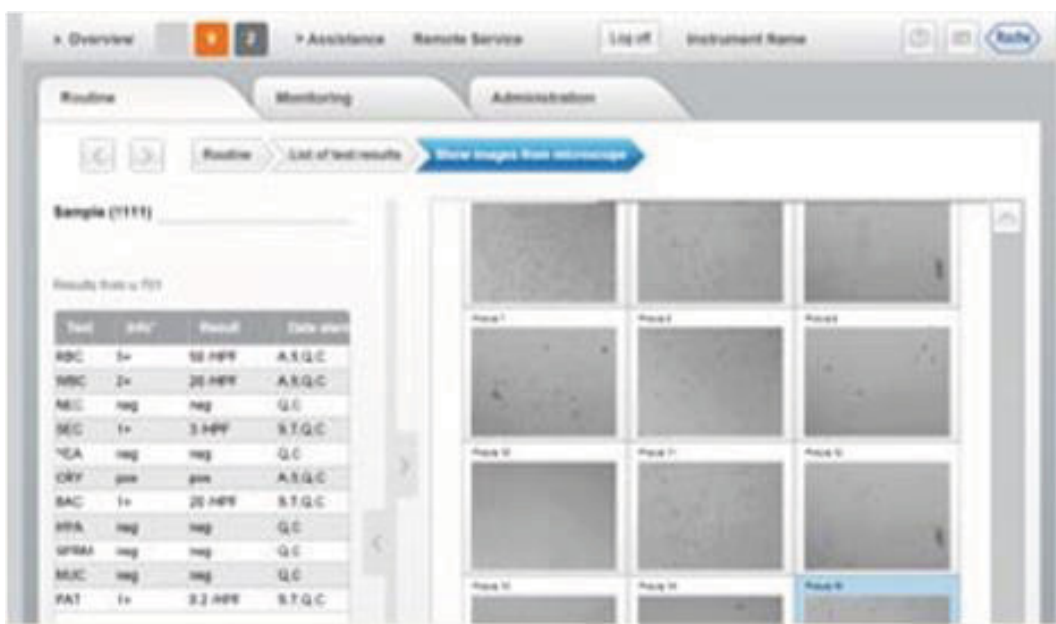
FONTE: ROCHE (2013); Adaptado de UCL (2016).

FIGURA 18 – ESQUEMA MOSTRA A CAPTURA DAS IMAGENS DA CUVETE.



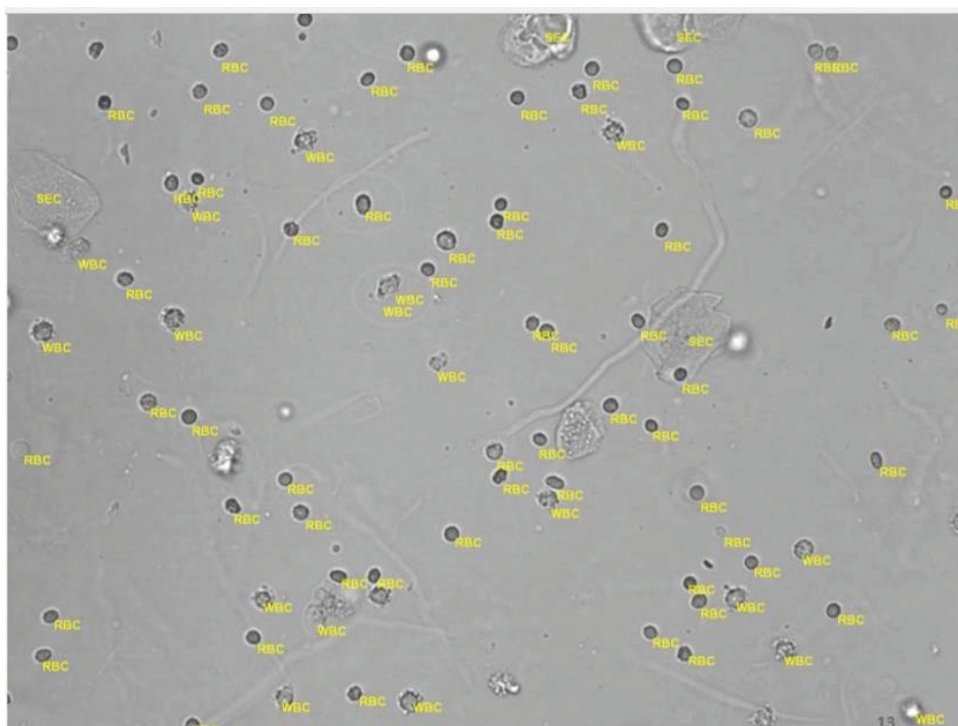
FONTE: Adaptado de UCL (2016).

FIGURA 19 – CAPTURA DE TELA DO COBAS 6500, MOSTRANDO APRESENTAÇÃO DAS IMAGENS DOS RESULTADOS.



FONTE: ROCHE (2013).

FIGURA 20 – EXEMPLO DE IMAGEM CAPTURADA PELO APARELHO COBAS 6500 MOSTRA LEUCÓCITOS (WBC) E ERITRÓCITOS (RBC) IDENTIFICADOS.



FONTE: UCL (2016).

5.3.2.4. Sistema Modular Misto

A linha de equipamentos lançada em 2017 pela empresa Sysmex® Série-UN poderia ser enquadrada como um sistema modular misto. O sistema modular UN-3000 (FIGURA 21) é composto por três módulos distintos, sendo eles: o UC-3500™ que realiza a análise química da urina, utiliza nova tecnologia de fotometria com sensor inteligente de cor CMOS (semi-condutor de óxido de metal complementar) que digitaliza cada tira reagente para distinguir com mais facilidade a coloração das almofadas de reação pelo método de fotometria de reflectância e refratometria; o UF-5000™ que realiza análise de partículas na urina utilizando tecnologia de citometria de fluxo fluorescente, permitindo avaliação das propriedades fisiológicas e químicas das células e partículas da urina; e o UD-10™, dispositivo de imagem digital das partículas da urina, utiliza uma câmera acoplada de alta definição que reconhece e classifica as partículas pela diferença de tamanho, além de armazenar

de 40 a 80 imagens por amostra de urina para revisão pelo analista (SYSMEX, 2017).

FIGURA 21 – SISTEMA MODULAR SYSMEX SÉRIE UN-3000. COMPOSTO PELO UC-3500™ (À DIREITA), UF-5000™ (AO CENTRO) E UD-10™ (À ESQUERDA).



FONTE: SYSMEX (2017).

5.4. NOVOS PARÂMETROS EM URINÁLISE

5.4.1. Relação albumina/creatinina e proteína/creatinina

Uma novidade trazida pelo analisador UN-3000 (FIGURA 21) é a inclusão de dois novos parâmetros químicos no módulo UC-3500, além dos parâmetros químicos padrão, que são: relação albumina/creatinina e proteína/creatinina, importante na triagem de um possível distúrbio renal, de acordo com informações do fabricante (SYSMEX, 2017).

O módulo UC-3500 permite o uso de dois tipos diferentes de tiras reativas. A primeira denominada MEDITAPE UC-9A realiza 9 parâmetros (Urobilinogênio, Hemoglobina, Proteína, Glicose, Cetonas, Bilirrubina, Nitrito, Esterase leucocitária, pH). E, a segunda, MEDITAPE UC-11A realiza os mesmos 9 parâmetros e mais Creatinina e Albumina (SYSMEX, 2017).

Graças a tecnologia do sensor semicondutor de óxido de metal complementar (CMOS) é possível realizar a leitura direta para quantificação da microalbuminúria e da creatinina na urina utilizando o método da tira reativa (SYSMEX, 2017).

Estes parâmetros têm sido defendidos como possíveis substitutos às dosagens de proteína e microalbuminúria em amostras de urina de 24 horas. Este tipo de coleta apresenta uma série de dificuldades, destacando-se aquelas relacionadas à coleta adequada da amostra e ao manuseio desse material no laboratório clínico (SOLORZANO, 2012).

O método convencional de quantificação de proteinúria em amostras de urina de 24 horas é considerado o padrão-ouro para o diagnóstico e prognóstico das doenças renais, constituindo um verdadeiro marcador, principalmente devido à grande variação na concentração de proteína urinária ao longo do dia, o que impossibilita sua avaliação em amostras isoladas (SOLORZANO, 2012).

No entanto, a coleta isolada da amostra de urina para as determinações das relações albumina/creatinina e proteína/creatinina apresenta vantagens, principalmente no que se refere à facilidade da obtenção da amostra ideal, precisão, rapidez no diagnóstico e grande aplicabilidade em subgrupos específicos de pacientes que apresentam maior dificuldade na coleta de urina de 24 horas, como crianças, idosos, pacientes com algum tipo de retardo mental, e ainda aqueles com problemas psiquiátricos ou com disfunção motora (SOLORZANO, 2012).

5.4.2. Microscopia digital com contraste de fase

Recentemente lançado pela empresa 77 Elektronika da Hungria, ainda indisponível no Brasil, o Urised[®]3 PRO (FIGURA 22), traz como proposta a análise do sedimento urinário incorporando a microscopia com contraste de fase na avaliação dos elementos urinários.

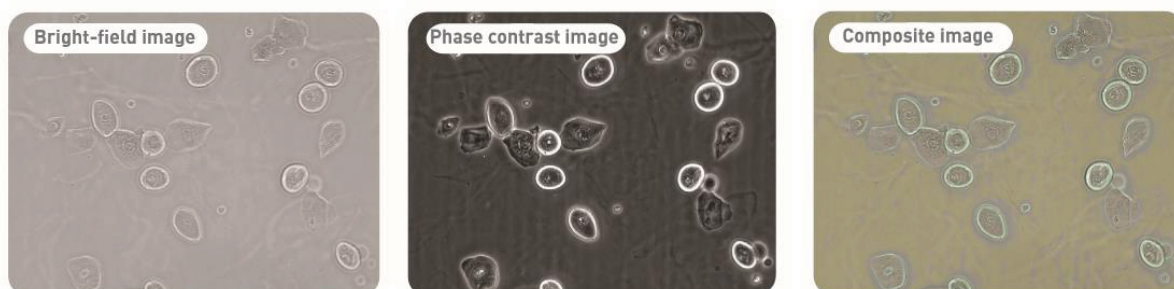
FIGURA 22 – ANALISADOR URISED®3 PRO (AO CENTRO) ACOPLADO AO APARELHO LABUMAT®2 (À DIREITA)



FONTE: 77 ELEKTRONIKA (2018).

A empresa prevê um incremento na performance do aparelho com visualização e capacidade de reconhecimento melhorados em relação ao uso isolado da microscopia em campo claro, principalmente para aqueles elementos que não seriam facilmente detectados, tais como cilindros e hemácias fantasma. A FIGURA 23 mostra um exemplo de imagem por campo claro, com contraste de fase e uma imagem composta gerada pelo Urised®3 PRO.

FIGURA 23 – IMAGEM DE ELEMENTOS URINÁRIOS POR MICROSCOPIA EM CAMPO CLARO (À ESQUERDA), EM CONTRASTE DE FASE (AO CENTRO) E IMAGEM COMPOSTA GERADA PELO APARELHO URISED® 3 PRO.



FONTE: 77 ELEKTRONIKA (2018).

5.5. COMPARAÇÃO ENTRE METODOLOGIAS MANUAL E AUTOMATIZADAS

Henneberg et al. (2014) publicaram uma comparação entre os resultados obtidos com o aparelho iQ[®]200 da IRIS e os métodos manuais utilizando Câmara de Neubauer e Câmara KCell[®]. Os resultados mostraram que há boa correlação entre as duas metodologias manuais para contagem de eritrócitos (R=0,868) e leucócitos (R=0,932). Na comparação entre as contagens de eritrócitos obtidas com a Câmara KCell[®] e o aparelho iQ[®]200 a correlação entre as metodologias foi boa (R=0,888) com contagens maiores obtidas com o uso da automação. Já para a contagem de leucócitos, a correlação entre Câmara KCell[®] e o aparelho iQ[®]200 foi moderada (R=0,693) e com contagens maiores com o uso da automação. Em relação ao uso da Câmara de Neubauer, os resultados obtidos mostraram boa correlação em relação à contagem pelo aparelho iQ[®]200 para eritrócitos (R=0,757) e para leucócitos (R=0,778). A comparação entre as duas metodologias manuais mostrou-se equivalente tanto para a contagem de eritrócitos (R=0,868) e de leucócitos (R=0,932). Henneberg *et al* (2014) destacam que outros estudos semelhantes apontaram diferenças para mais ou para menos nestas contagens, o que se explica pelo fato de o aparelho automatizado não ser capaz de distinguir corretamente os elementos urinários na presença de número elevado de partículas (leveduras, cristais, células degeneradas ou agrupadas e muco). Em relação ao qualitativo, o equipamento apresenta limitações para diferenciar eritrócitos isomórficos e dismórficos, assim como cilindros com ou sem inclusões, que foram relatados como “elementos não classificados”, tendo sido necessária a intervenção do analista para a correta interpretação do resultado.

Ebubekir Bakan et al. (2016) um artigo comparando os resultados obtidos pelo aparelho COBAS[®] 6500 da ROCHE, o iQ[®]200 da IRIS e o método manual para análise microscópica da urina. Os aparelhos automatizados apresentaram boa correlação para contagem de leucócitos em relação ao método manual (R=0,82 (COBAS[®] 6500) e R=0,81 (iQ[®]200), moderada para eritrócitos (R=0,59 (COBAS[®] 6500) e R=0,65 (iQ[®]200), moderada para células epiteliais escamosas (R=0,73 (COBAS[®] 6500) e R=0,70 (iQ[®]200), mas não apresentou boa correlação para cristais (R=0,67 (COBAS[®] 6500) e R=0,37 (iQ[®]200) e não houve correlação para células epiteliais não-escamosas (R=0,43 (COBAS[®] 6500) e R=0,14 (iQ[®]200). A correlação entre o módulo 601 do COBAS[®] 6500 e o módulo iChemVelocity da IRIS foi positiva para o pH (R=0,77) e gravidade específica (R=0,92) e teve boa concordância para

os demais parâmetros, com exceção do urobilinogênio ($R=0,44$) e cetonas ($R=0,58$). O resultado da microscopia automatizada demonstrou ser compatível com a leitura da tira teste ($R=0,74$ e $R=0,65$ para contagem de leucócitos e eritrócitos pelo COBAS®6500, respectivamente; e $R=0,74$ e $R=0,76$ para contagem de leucócitos e eritrócitos pelo iQ®200, respectivamente). Os resultados obtidos com a microscopia automatizada pelo COBAS® 6500 apresentou muito boa compatibilidade em relação ao método manual para contagem de leucócitos, enquanto o iQ®200 apresentou boa compatibilidade em relação ao método manual para contagem de eritrócitos. Os autores mencionam a dificuldade em padronizar o método manual, especialmente porque não dispunham de câmaras de contagem para a realização deste trabalho, tendo usado método de contagem com lâmina e lamínula, além de não terem incluído mais amostras patológicas no estudo. Concluem que os desempenhos de ambos os aparelhos são similares e os resultados de microscopia obtidos com o COBAS® 6500 tiveram boa correlação com o método manual. No entanto, permanecem inadequados para a determinação e classificação de alguns elementos do sedimento urinário como células, cilindros e cristais presentes em amostras de urina anormais ou patológicas.

Fatma Demet Ince et al. (2016) compararam os resultados obtidos pelo aparelho automatizado iQ®200 (IRIS), FUS-200 (DIRUI) e o método manual de contagem. O aparelho FUS-200 utiliza como princípio de funcionamento o fluxo celular com imagem digital acoplado a um sistema de identificação com tecnologia de inteligência artificial, um sistema similar ao iQ®200, já descrito anteriormente. Neste estudo os autores classificaram os elementos celulares de acordo com o limite de decisão clínica e não as contagens numéricas em si. Os autores utilizaram o coeficiente kappa de Cohen para avaliar a concordância entre os métodos, com a seguinte graduação: 0-0,21 (muito ruim), 0,21-0,40 (ruim), 0,40-0,60 (moderado), 0,61-0,80 (bom) e 0,81-1,00 (muito bom). Para os resultados clinicamente positivos, a concordância entre o método manual e os dois métodos automatizados foi bom para eritrócitos (coeficiente kappa de Cohen 0,68 (FUS-200 vs método manual) e 0,77 (iQ®200 vs método manual), leucócitos (coeficiente kappa de Cohen 0,65 (FUS-200 vs método manual) e 0,73 (iQ®200 vs método manual). A concordância entre os métodos foi considerada moderada para células epiteliais (coeficiente kappa de Cohen 0,59 (FUS-200 vs método manual) e 0,50 (iQ®200 vs método manual),

bactérias (coeficiente kappa de Cohen 0,47 (FUS-200 vs método manual) e 0,52 (iQ[®]200 vs método manual) e cristais (coeficiente kappa de Cohen 0,54 (FUS-200 vs método manual) e 0,57 (iQ[®]200 vs método manual). A concordância entre o método manual e os métodos automatizados foi muito ruim para leveduras (coeficiente kappa de Cohen 0,17 (FUS-200 vs método manual) e 0,19 (iQ[®]200 vs método manual). Não houve concordância entre os métodos para cilindros (coeficiente kappa de Cohen 0,13 (FUS-200 vs método manual) e 0,10 (iQ[®]200 vs método manual). A concordância entre os dois aparelhos foi melhor do que entre aparelhos e método manual para todos os tipos de células.

Fatma Demet Ince et al (2016) também trazem uma reflexão a respeito das diferenças nas contagens de células pelo método manual e os métodos automatizados. No método manual, várias etapas como a centrifugação, decantação e ressuspensão podem provocar a lise celular e, conseqüentemente, a perda de células nas contagens. O aparelho iQ[®]200 examina a urina sem centrifugação, mostrando um desempenho melhor do que o de outros aparelhos, com contagens ligeiramente mais altas para leucócitos, hemácias e células epiteliais. Este resultado, no entanto, não ocorre em todos os estudos publicados, sendo que neste estudo as contagens para células realizadas pelo iQ[®]200 foram menores que pelo método manual.

Ince et al (2016) cita outros estudos como o realizado por Budak et al., que observou que a contagem para leucócitos realizadas pelos analisadores automatizados seriam maiores que as contagens manuais. Isso porque, as partículas sofreriam uma ressuspensão automática devido a injeção de ar em cada amostra antes de serem testadas. Isso seria capaz de dissociar agrupamentos de células, resultando em contagens de células mais altas do que as contagens por método manual. Akgun et al, mencionam em seu trabalho que as contagens realizadas pelo iQ[®]200 para leucócitos e eritrócitos são melhores que as contagens manuais, porém, a contagem para células epiteliais não seria tão boa. Isso porque o iQ[®]200 não seria capaz de identificar e contar células deformadas. De maneira análoga, outros aparelhos que utilizam a tecnologia da fotografia digital não seriam capazes de contar leucócitos danificados, mas contariam células distorcidas ou danificadas como artefatos. Shayanfar et al. demonstraram que contagens mais baixas de eritrócitos ocorrem na presença de eritrócitos anormais como fantasmas

ou dismórficos, devido à incapacidade dos aparelhos em reconhecer esses elementos. Por outro lado, em alguns casos, contagens erroneamente mais altas de eritrócitos podem ocorrer na presença de leveduras, o que também foi constatado por Wah et al. Em relação a análise de bactérias, a maioria dos analisadores automatizados apresenta dificuldade para identificar e quantificar corretamente bactérias. Chein et al. encontrou bactéria em muitas amostras quando comparado à análise do iQ[®]200, especialmente para as formas de cocos pequenos.

Wesarachkitti et al. (2016) compararam os resultados obtidos com o aparelho automatizado UX-2000[®] (Sysmex) e o COBAS[®] 6500 (ROCHE) e compararam o tempo consumido para análise pelos dois aparelhos. Para a análise microscópica, o UX-2000 utiliza citometria de fluxo e o COBAS 6500 utiliza imagem digital, enquanto que para a análise química, ambos os equipamentos utilizam a mesma metodologia, com uma pequena diferença para medição de gravidade específica pelo aparelho UX-2000[®], que utiliza a refratometria com compensação automática para glicose e proteínas. Apesar desta diferença, a gravidade específica medida pelos dois aparelhos apresentou excelente correlação ($R=0,97$). Em relação aos resultados da análise microscópica, o aparelho UX-2000[®] apresentou contagens mais altas para células, com correlação não adequada em relação ao método manual ($R=0,78$ para contagem de hemácias vs manual) e ($R=0,85$ (contagem de leucócitos vs manual)), talvez explicada pelo método de contagem utilizado entre lâmina e lamínula ao invés de câmaras de contagem, assim como o uso de urina sem centrifugação e devido à proporção de urinas alteradas incluídas no trabalho. Observou-se que amostras com contagens elevadas de microrganismos (bactérias, leveduras) apresentaram maior tendência a erros na detecção de eritrócitos e que, a presença de quantidades elevadas de células redondas pequenas pode interferir nas contagens de leucócitos. Quanto ao aparelho COBAS[®] 6500, a correlação entre os resultados do analisador e o método manual foi considerada excelente para leucócitos ($R=0,95$) e eritrócitos ($R=0,94$), atribuído pelo autor à similaridade da tecnologia do aparelho com a microscopia manual, uma vez que ambos fazem a visualização da imagem para as medições. O UX-2000[®] apresentou maior sensibilidade que o COBAS[®] 6500 para células pequenas redondas, cilindros hialinos e patológicos. Por outro lado, o COBAS[®] 6500 teve sensibilidade maior para a detecção de células epiteliais escamosas, cristais e leveduras. Na contagem de bactérias, o UX-2000[®] demonstrou

forte concordância em relação ao método manual de análise (84%), enquanto o COBAS® 6500 apresentou 71% de concordância.

Wesarachkitti et al. (2016) consideraram o tempo consumido para análise automatizada e o UX-2000® levou aproximadamente 4 vezes mais tempo do que o COBAS® 6500 para processar uma amostra. Além disso, cerca de 80% das amostras analisadas pelo UX-2000®, cujos resultados apresentaram anormalidade necessitaram de revisão por método manual para confirmação. Comparativamente, com o COBAS® 6500 somente 10% das amostras de urina anormais necessitaram de revisão pelo método convencional. Isso porque o fluxo de trabalho utilizado com os dois aparelhos é diferente. O aparelho COBAS® 6500 foi considerado mais fácil e mais conveniente que o UX-2000®, pois permite a revisão através da avaliação das imagens armazenadas no computador que o acompanha (exceto em caso de amostras muito turvas ou com grande quantidade de muco, as quais necessitam de revisão por microscopia manual). A taxa de revisão microscópica é de aproximadamente 50 a 60% quando se utiliza o UX-2000® na rotina, enquanto que a mesma taxa é de apenas 10 a 20% para o COBAS® 6500.

6 RESULTADOS

Com a finalidade de conhecer as características dos principais sistemas automatizados disponíveis no mercado para o exame de urina realizou-se uma pesquisa aprofundada junto aos maiores fabricantes de equipamentos laboratoriais, utilizando as especificações técnicas disponibilizados na *internet*, em sítios nacionais e internacionais. A TABELA 1 traz a listagem das principais características dos sistemas totalmente automatizados disponíveis atualmente no Brasil e a TABELA 2 traz a nomenclatura empregada para apresentar os parâmetros analisados, bem como a diferenciação que cada aparelho realiza na classificação dos elementos.

TABELA 1 - INFORMAÇÕES TÉCNICAS E TECNOLOGIA EMPREGADA NOS PRINCIPAIS SISTEMAS AUTOMATIZADOS EM URINÁLISE DISPONÍVEIS NO BRASIL.

(continua)

ROCHE®/SYSMEX®	IRIS®	ALERET™	ROCHE®	SYSMEX®
Urisys® 2400/UF-1000i	IRICELL® 3000	LabUMat® II/ UriSed® II	COBAS® 6500	UN-3000®
- Análise de tiras: 240/h (Urisys® 2400) - Análise microscópica: 100/h (UF-1000i).	- Análise de tiras: 210/h (iChemVelocity) - Análise microscópica: 101/h (iQ®200)	- Análise de tiras teste: 240/h (LabUMat® II) - Análise microscópica: 120/h (UriSed® II)	- Análise de tiras teste: 240/h (módulo 601) - Análise de microscopia: 116/h (módulo 701)	- Análise de tiras teste: 276/h (UC-3500) - Análise por citometria de fluxo: 105/hora (UF-5000) - Análise por imagem digital: 50/h (UD-10)
- Manual: Vol. mín. 1mL - Automático: Vol. mín. 4 mL	- iChemVelocity: Vol. mín 2 mL - iQ®200: Vol. mín 2 mL - iRICELL: 3-4 mL	- LabUmat: Vol. mín 2 mL - Urised: Vol. mín 2 mL - Análise completa: Volume mín 4 mL	- Cobas 601: Vol. mín. 2 mL - Análise completa: Vol. mín. 2,8 mL	- UC-3500: mín 1 mL - UF-5000: mín 2 mL - UD-10: mín 1,6 mL - Análise completa: Vol. mín 4,6 mL
Cor: Fotometria por reflectância	Cor: Fotometria por reflectância com sensor CMOS	Análise física: Unidade PMC (<i>Physical measurement cell</i>)	Cor: Fotometria por reflectância	Cor: Fotometria por reflectância com sensor CMOS
Aspecto: Turbidimetria	Aspecto: Medição direta da luz dispersa		Aspecto: Turbidimetria	Aspecto: Turbidimetria
Densidade: Refratometria	Densidade: Refratometria		Densidade: Refratometria	Densidade: Refratometria

TABELA 1 - INFORMAÇÕES TÉCNICAS E TECNOLOGIA EMPREGADA NOS PRINCIPAIS SISTEMAS AUTOMATIZADOS EM URINÁLISE DISPONÍVEIS NO BRASIL.

(continua)

ROCHE®/SYSMEX®	IRIS®	ALERE™	ROCHE®	SYSMEX®
Demais parâmetros: Método da tira reativa com leitura utilizando Fotometria por reflectância.	Demais parâmetros: Método da tira reativa com leitura utilizando Fotometria por reflectância com inovação no sensor de cor com tecnologia CMOS	Demais parâmetros: Método da tira reativa com leitura utilizando Fotometria por reflectância.	Demais parâmetros: Método da tira reativa com leitura utilizando Fotometria por reflectância.	Demais parâmetros: Método da tira reativa com leitura utilizando Fotometria por reflectância com inovação no sensor de cor com tecnologia CMOS
	Sensor CMOS distingue hemácias de hemoglobina livre			Sensor CMOS distingue hemácias de hemoglobina livre
INSUMOS: Urisys® 2400 <ul style="list-style-type: none"> Cassete de tiras testes (pack com 400 tiras) UF-1000/ <ul style="list-style-type: none"> UF II SHEATH UF II PACK-SED UF II PACK-BAC UF II SEARCH-SED UF II SEARCH-BAC 	INSUMOS: iChemVelocity <ul style="list-style-type: none"> Cassete de tiras teste (pack com 300 tiras) iQ®200 <ul style="list-style-type: none"> Lâmina e filtro 	INSUMOS: LabUMat® II <ul style="list-style-type: none"> Cassete de tiras teste (pack com 150 tiras) UriSed® II <ul style="list-style-type: none"> Cassete de cuvetes (pack com 50 cuvetes) Obs.: Podem ser instalados 12 packs, totalizando 600 cuvetes no aparelho).	INSUMOS: Módulo 601 <ul style="list-style-type: none"> Cassete de tiras teste (pack com 400 tiras) Módulo 701 <ul style="list-style-type: none"> Cassete de cuvetes (pack com 400 cuvetes) 	INSUMOS: UC-3500 <ul style="list-style-type: none"> Cassete de tiras testes UF-5000 <ul style="list-style-type: none"> UF Cellsheat UF Cellpack SF UF Cellpack CR UF Fluorocell SF UF Fluorocell CR UD-10 <ul style="list-style-type: none"> UF-Cellsheat
Fotômetro possui LED com 3 comprimentos de onda diferentes (470, 555 e 620 nm).	Fotômetro possui LED com 3 comprimentos de onda diferentes (472, 520 e 630 nm).	Fotômetro possui LED com 4 comprimentos de onda diferentes (505, 530, 620, 660 nm).	Fotômetro possui LED com 4 comprimentos de onda diferentes (465, 528, 560 e 615 nm).	Fotômetro possui LED com 4 comprimentos de onda diferentes (430, 565, 660 e 735 nm)
Leitura da tira: Um detector fotodiodo, posicionado acima da zona teste da tira reativa, recebe a luz refletida e efetua medição	Leitura da tira: Módulo captura a imagem da zona teste da tira reativa e realiza a medição	Leitura da tira: Método patenteado de detecção (fabricante não descreve)	Leitura da tira: Uma lente óptica projeta uma imagem da zona de teste para um sensor de imagem, são processadas por um software	Leitura da tira: Sensor CMOS de cor escaneia cada tira reativa para medição por fotometria
Elimina interferência da presença de cristais amorfos.	Não elimina interferência por cristais amorfos.	Não elimina interferência por cristais amorfos.	Não elimina interferência por cristais amorfos.	Elimina interferência da presença de cristais amorfos.

TABELA 1 - INFORMAÇÕES TÉCNICAS E TECNOLOGIA EMPREGADA NOS PRINCIPAIS SISTEMAS AUTOMATIZADOS EM URINÁLISE DISPONÍVEIS NO BRASIL.

(conclusão)

ROCHE®/SYSMEX®	IRIS®	ALERE™	ROCHE®	SYSMEX®
Interferentes: Papel reagente impregnado com iodeto nos campos de reação para hemoglobina e glicose são utilizados na Combur-Test® para eliminar interferência por ácido ascórbico.	Interferentes: Campo de reação específico para ácido ascórbico na tira teste, informa a potencial interferência nas reações químicas.	Interferentes: Campo de reação específico para ácido ascórbico na tira teste, informa a potencial interferência nas reações químicas.	Interferentes: Papel reagente impregnado com iodeto nos campos de reação para hemoglobina e glicose são utilizados na Combur-Test®.	Interferentes: Fabricante não menciona qualquer método para reduzir ou eliminar interferência por ácido ascórbico.
Não centrifuga a amostra.	Não centrifuga a amostra.	Realiza centrifugação 2000 rpm por 10 segundos.	Realiza centrifugação 2000 rpm por 10 segundos.	Não centrifuga a amostra.
Análise do sedimento por Citometria de fluxo fluorescente com foco hidrodinâmico	Análise do sedimento por Morfologia de Fluxo Digital (DFM)	Análise do sedimento por Microscopia automática (AIEM)	Análise do sedimento por Microscopia automática	Utiliza Citometria de fluxo fluorescente + Microscopia automática com imagem digital
Gráficos de dispersão para demonstrar a presença dos elementos urinários.	Captura 500 frames de cada amostra e identifica os elementos urinários.	Captura 5-20 campos de cada amostra e identifica os elementos urinários.	Captura 15 campos de cada amostra e identifica os elementos urinários.	Após análise das partículas por citometria de fluxo com geração de gráficos de dispersão, captura 40-80 imagens por amostra.

FONTE: O AUTOR (2018).

TABELA 2 - NOMENCLATURA E DIFERENCIAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALISADOS PELOS DIFERENTES APARELHOS AUTOMATIZADOS PARA URINÁLISE DISPONÍVEIS NO BRASIL.

PARÂMETRO	ROCHE®/ SYSMEX®	IRIS®	ALERE™	ROCHE®	SYSMEX®
Hemácias	RBC	RBC	RBC	RBC	RBC NL RBC Lysed RBC
Leucócitos	WBC	WBC WBCC (WBC Clumps)	WBC WBCc (WBC Clumps)	WBC	WBC WBC Clumps
Células	EC SRC	SQEP NSE	EPI NEC	SEC NEC	Squa EC Non SEC Tran EC RT EC SRC Atyp C
Cristais	XTAL	CRYS UNCCX	<i>Calcium-oxalate monohydrate (CaOxm)</i> <i>Calcium-oxalate dihydrate (CaOxd)</i> <i>Uric acid (URI)</i> <i>Triple phosphate (TRI)</i>	CRY	XTAL
Bactérias	BACT	BACT	Bacteria Cocci (BACc); Bacteria Rod (BACr);	BAC	BACT
Leveduras	YLC	YST	YEA	YEA	YLC
Cilindros	CAST P CAST	HYAL UNCC	HYA PAT	HYA PAT	Hy CAST Path CAST
Espermatozóides	SPERM	SPERM	SPRM	SPRM	SPERM
Muco	MUCUS	MUCOUS	MUC	MUC	MUCUS
Artefatos	DEBRIS	UNCL (unclassified)	Sub-classes podem ser inseridas manualmente	Não realiza	DEBRIS

FONTE: O AUTOR (2018).

7 DISCUSSÃO

Inúmeros estudos publicados em diversos países buscaram avaliar a precisão e correlação das metodologias empregadas pelos equipamentos automatizados para a Urinálise, com o objetivo de aprimorar o entendimento a respeito da interpretação dos resultados obtidos. Baseado nos dados levantados foi possível observar que os sistemas totalmente automatizados disponíveis para Urinálise empregam tecnologias bastante distintas, com bons resultados, porém, com algumas limitações.

Em relação à análise química, a aplicação das tiras reativas de múltiplos parâmetros representou, indiscutivelmente, um enorme avanço na rotina da Urinálise. Seu uso encontra-se mundialmente disseminado e levando-se em conta a falta de padronização na leitura manual, a implantação dos aparelhos automatizados para leitura das reações de cor que ocorrem em cada zona teste, foi possível observar um aumento na confiabilidade e na segurança dos resultados. Melhorias em relação à estabilidade dos reagentes utilizados nas reações químicas para determinação de alguns parâmetros proporcionaram a primeira diferenciação entre as marcas disponíveis no mercado.

Foi observada a necessidade de inibir a interferência causada pelo ácido ascórbico, presente na urina de pacientes que fazem uso de suplementação vitamínica ou mesmo pelo simples consumo de certos alimentos na dieta. O ácido ascórbico (vitamina C) é uma vitamina solúvel em água, presente em diversos vegetais e amplamente utilizado na indústria alimentícia como antioxidante. Concentrações acima de 400 mg/L são cada vez mais comuns em amostras de pacientes que realizam exame de urina rotineiramente. Estas concentrações elevadas podem causar problemas na utilização da tira reativa porque o ácido ascórbico inibe as reações de oxidação e, podem conferir resultado falso-negativo nas reações para determinação de hemoglobina e glicose. Assim, pode-se recomendar ao paciente para evitar o consumo de ácido ascórbico nas 10 horas que antecedem o exame, verificar se a tira reativa apresenta uma zona teste para medição de ácido ascórbico na urina em concentrações elevadas e, impregnar o papel reagente presente na almofada da reação com iodato, um agente oxidante

capaz de eliminar o impacto negativo causado pelo ácido ascórbico nas reações, tecnologia utilizada na tira reativa Combur-Test® (ROCHE, 2010 (2)).

Os aparelhos leitores de tiras reativas foram aperfeiçoados, sendo que, primeiramente, realizavam a leitura por fotometria de reflectância diretamente das zonas testes da tira reativa. Posteriormente, os leitores foram adicionados de sistemas ópticos capazes de digitalizar a imagem e transmiti-la para sensores capazes de realizar as leituras de cor com maior precisão e acurácia. E, mais recentemente, sensores de cor com a tecnologia CMOS (semi-condutor de óxido de metal complementar) permite a distinção da reação de cor que ocorre na presença de hemácias íntegras e na presença de hemoglobina livre, além de outras melhorias na detecção de pequenas alterações de cor nas zonas testes (SYSMEX, 2017). É importante salientar que a observação das marcas das tiras é um fator relevante e que, não se deve deixar de fazer controle internos e externo dos equipamentos para leitura. Deve-se realizar também o controle diário das tiras reativas, além de seguir as normas pertinentes para o uso adequado e manutenção. Ressalta-se também que a umidade é outro fator que altera com facilidade o resultado dos parâmetros químicos, sendo fundamental que o compartimento das tiras reativas no interior dos aparelhos automatizados apresente solução para evitar tal interferência, garantindo resultados confiáveis.

Em relação à automação para análise microscópica, deve-se considerar a contagem dos leucócitos e eritrócitos, assim como a identificação dos elementos urinários. O primeiro aparelho desenvolvido utilizou o método da citometria de fluxo com fluorescência, amplamente utilizado nos analisadores hematológicos e adaptado para a diferenciação dos elementos urinários. Através da aplicação dos corantes fluorescentes foi possível evidenciar estruturas citoplasmáticas e do DNA das células e diferenciá-las dos elementos sólidos como cilindros e cristais, sendo que a contagem de bactérias foi realizada em canal específico (SYSMEX, 2015). Hu *et al* (2010) avaliaram a utilização da contagem de bactérias por citometria de fluxo pelo aparelho Sysmex UF-1000® como teste de triagem para reduzir a necessidade de culturas de urina na investigação de infecção no trato urinário. Os autores confrontaram o resultado da citometria de fluxo com canal específico para contagem de bactérias do Sysmex UF-1000® com a versão anterior UF-100® (sem canal específico para bactérias) e a cultura de urina realizada em placas de ágar sangue e

ágar MacConkey. Estabeleceram o valor de *cutoff* para bactérias para o UF-1000® sendo de 160 bactérias/μL, o qual fornece a melhor discriminação para infecção do trato urinário, com sensibilidade de 81,1% e especificidade de 83,2% comparado com a cultura de urina, sendo possível reduzir em 54,9% das culturas desnecessárias. A conclusão dos autores foi que o UF-1000® é superior ao UF-100® quanto à redução do número de culturas desnecessárias e quanto à otimização da rotina do laboratório de microbiologia, com redução nos custos de análise e no tempo necessário para a tomada de decisão dos médicos quanto à introdução de antibioticoterapia (HU *et al*, 2010).

A grande dificuldade encontrada pelos laboratórios e que foi levantada nos estudos publicados é a elevada taxa de revisão de amostras (WESARACHKITTI, 2016). Ao contrário dos analisadores hematológicos, nos equipamentos para análise da urina, não são encontradas apenas células, mas tem-se uma diversidade nos elementos urinários (cristais, cilindros e outros). Uma vez que a citometria de fluxo não é capaz de fazer a distinção de diversos elementos, o analista, mesmo dispondo dos diagramas de dispersão, obriga-se a realizar a microscopia do sedimento urinário em aproximadamente 50-60% das amostras de urina, o que aumenta o tempo de análise na rotina laboratorial. Ainda foi observado que amostras com contagens elevadas de microrganismos (bactérias, leveduras) apresentaram maior tendência a erros na detecção de eritrócitos e que, a presença de quantidades elevadas de células redondas pequenas pode interferir nas contagens de leucócitos (WESARACHKITTI, 2016). A experiência das autoras corrobora com a literatura na utilização de métodos automatizados por citometria de fluxo, assim como tem sido observado uma redução no uso desses equipamentos na rotina laboratorial em substituição por outras metodologias.

O método desenvolvido por meio de uma câmera digital de alta definição acoplada a uma lente de microscópio óptico capaz de fotografar a imagem dos elementos urinários trouxe uma grande evolução na área de Urinálise. Ainda sob a influência da citometria de fluxo, foi utilizada tecnologia que alinha os elementos em fluxo contínuo, para serem fotografados por câmera digital. O *software* separa os elementos e classifica de acordo com as características de tamanho, contraste, forma e textura, graças ao uso de redes neurais computadorizadas, compostas por um arquivo semelhante à memória humana, com inúmeras imagens em seu banco

de dados (BECKMAN COULTER, 2014). Em seguida, surgiu o sistema de microscopia automática com imagem digital, utilizando uma porção da urina homogeneizada disposta no interior de um dispositivo que simulasse a tradicional lâmina e lamínula, e que após ser submetida ao processo de centrifugação poderia ter vários campos fotografados por uma câmera digital, exatamente como nos campos observados ao microscópio (77 ELEKTRONIKA, 2018; ROCHE, 2013).

A vantagem observada pelos sistemas que realizam a captura de imagem digital é a possibilidade de revisão das amostras pelo analista nas próprias imagens armazenadas na memória do aparelho. Isso reduz a taxa de revisão de amostras pelo método convencional de microscopia para cerca de 10-20% (WESARACHKITTI, 2016) e, conseqüentemente, reduz o tempo despendido na execução da rotina laboratorial. Apesar disso, os sistemas que utilizam a microscopia automática com imagem digital são prejudicados pelas limitações do sistema de identificação de partículas que não é capaz de diferenciar células anormais (eritrócitos dismórficos ou fantasmas, leucócitos danificados, células fragmentadas, etc), além de serem imprecisos na definição de estruturas semelhantes entre si, tais como eritrócitos e leveduras, ou bactérias e cristais amorfos. As publicações trazem a observação de contagens maiores ou menores para os leucócitos, eritrócitos e células quando outros elementos são encontrados em grande quantidade, como leveduras, cristais e cilindros. Além disso, alguns elementos não são facilmente distinguidos pela microscopia automatizada e exige a revisão microscópica por analista experiente, sendo o caso das gotículas de óleo, *Trichomonas*, células pequenas redondas, cristais e cilindros com inclusões. Esses elementos são cruciais para o diagnóstico de diversas patologias do sistema urinário e merecem atenção antes da liberação do laudo.

De forma geral, os aparelhos automatizados permitem a realização de grandes rotinas de exames em pouco tempo e melhoram muito em termos de padronização dos resultados. A capacidade de processamento dos aparelhos mais robustos permite realizar rotinas de 100 a 1000 amostras diárias, o que seria impraticável se fossem realizados pelos métodos manuais de contagem (ROCHE, 2018 (1)). Além disso, permitem contagens de elementos por unidade de volume, conforme preconiza os guias internacionais de padronização em Urinálise, substituindo o método antigo que utilizava contagem de elementos por campo de

visualização microscópica (CLSI, 2001; ABNT, 2005; EUG, 2000). Se para a correta identificação dos elementos urinários, a microscopia óptica ainda se faz necessária, a contagem dos leucócitos e eritrócitos apresenta melhores resultados pela automação tendo em vista o número maior de elementos contados pelos equipamentos.

Nos sistemas totalmente automatizados, os módulos para análise química e análise microscópica são acoplados, sendo possível definir previamente a configuração que será adotada na rotina laboratorial. Dessa forma, o laboratório pode estabelecer se sempre será realizada a análise total da urina ou se somente será realizada a análise microscópica em casos específicos em que alguma alteração na análise química da urina seja detectada.

Em termos de liberação dos resultados, a automação permite a instalação de sistemas de interface que transmitem os resultados do aparelho para um computador de acesso ao analista. O processo garante agilidade e rastreabilidade, pois o analista utiliza uma senha pessoal e intransferível para ter acesso aos dados. O sistema de interface permite a edição dos parâmetros revisados, os quais ficam registrados no sistema. Na sequência faz-se o envio para um sistema de gerenciamento, que elabora o laudo final com a assinatura digital do profissional responsável. Isso reduz os erros pós-analíticos e garante rastreabilidade, segurança e qualidade dos resultados emitidos.

8 CONCLUSÃO

Com base no exposto conclui-se que o exame parcial de urina persiste como um importante auxiliar no diagnóstico de patologias do sistema urogenital, mas que necessita de atenção na sua execução, observando os critérios fundamentais para sua realização. O uso da tecnologia melhora a reprodutibilidade do exame e permite uma maior padronização, evitando-se as discrepâncias entre resultados emitidos por analistas diferentes e os erros analíticos inerentes dos métodos convencionais. No entanto, este trabalho ressalta a importância do analista com experiência em Urinálise atuando lado a lado com os sistemas automatizados nos laboratórios clínicos. Conforme apresentado, nenhum dos sistemas disponíveis no mercado pode ser considerado autossuficiente, sendo que todos eles são incapazes de distinguir com precisão diversos elementos urinários, tais como os eritrócitos dismórficos, os cilindros e os cristais, com grande impacto no diagnóstico do paciente, além de outros elementos raros ou incomuns como os artefatos, *Trichomonas sp.* e outros parasitas que acidentalmente podem ser encontrados na urina humana.

Desta forma, é possível estabelecer como perspectiva para melhora no campo de diagnóstico um aperfeiçoamento dos sistemas automatizados, com ampliação da capacidade de distinção dos elementos urinários pelas redes neurais computadorizadas, o que não parece muito distante tendo em vista os grandes avanços no setor da tecnologia, em especial, na área da bioinformática. Espera-se com isso, obter resultados cada vez mais precisos e que contribuam ainda mais para o diagnóstico correto do paciente.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALERE INC. **Uroanálise - UriSed®II&LabUMat®II**. Disponível em: <<http://www.alere.com/pt/home/product-details/UroanaliseUriSed.html>> Acesso em: 11 jun. 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **Laboratório Clínico – Requisitos e recomendações para exame de urina**. ABNT NBR 15268, 2005.

BAKAN, E. et al. Comparison of Cobas 6500 and Iris IQ200 fully-automated urine analyzers to manual urine microscopy. **Biochemia Medica**, 2016. 26(3):635–75.

BARDALES, R. H. From Urine Contemplation to Urine Evaluation: Historical. In **Practical Urologic Cytopathology**. OXFORD UNIVERSITY PRESS. 2002. p1-5.

BECKMAN COULTER. **Urinalysis Lab Forward. Take the next step to ward urine microscopy**. 2014.

BECKMAN COULTER. **IRICELL® 3000**. Disponível em: <<https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/wsr/diagnostics/clinical-products/urinalysis/iricell-workcells/iricell3000/index.htm>> Acesso em: 07 jun. 2017.

BECKMAN COULTER. **iRICELL – Complete Urinalysis Training Guide**. Version 2.1. 07-2017. p187.

BENOVSKA, M.; WIEWIORKA, O; TUMOVA, J. **Microscopic Analysis of Urine**. Masaryk University, 2015.

BERRY, D. Pierre-François Olive Rayer: Biography. **Medical History Supplement**, 2015(24): 7–13.

BLAGG, CR. Thomas Addis, 1881-1949, clinical scientist, hematologista and pioneering nephrologist: a brief biography. **Journal of Nephrology**, 2009.22 Suppl 14:115-9.

BLOCK, D. R.; LIESKE, J. C. Automated urinalysis in the clinical lab. **Medical Laboratory Observer**, 2012 v. 44, n. 10, p. 8.

BOTTINI, P.V.; GARLIPP, C.R. Urinálise: comparação entre microscopia óptica e citometria de fluxo. **Jornal Brasileiro de Patologia Médica Laboratorial**, 2006. v.42. n.3: 157-162.

BURTIS, C. A.; BRUNS, D. E. **Tietz Fundamentos de Química Clínica e Diagnóstico Molecular**. Tradução da 7ª ed. Elsevier, 2016.

CAMPANA, G.A.; OPLUSTIL, C.P. Conceitos de automação na medicina laboratorial: revisão de literatura. **Jornal Brasileiro de Patologia Médica Laboratorial**, 2011. v.47: 119-127.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens**; Approved Guideline-Second Edition GP16-A2 Vol.21, Nº19, 2001.

DELANGHE, J.; SPEECKAERT, M. Pre analytical requirements of urinalysis. **Biochemia Medica**, 2014. v.24: 89-104.

DELLALIBERA-JOVILIANO, R. **Uroanálise: Abordagens Gerais**. Disponível em: <<http://docente.ifsc.edu.br/rosane.aquino/MaterialDidatico/AnalisesClinicas/urin%C3%A1lise/Uroan%C3%A1lises-%20Abordagens%20gerais.pdf>> Acesso em: 06 dez. 2017.

EUROPEAN URINALYSIS GROUP. European Urinalysis Guidelines. **Scandinavian Journal of Clinical Laboratory Investigation**, 2000. 60:1-96.

FREE, A.H.; RUPE, C.O.; METZLER, I. Studies with a new colorimetric test for proteinuria. **The American Association for Clinical Chemistry**, 1957. 3. 716-727.

HAUSER, A. B. Gráficos de interpretação de sinais de luz fluorescente e luz laser dispersa em citometria de fluxo. *Imagens cedidas por Aline Borsato Hauser*, 2018.

HENNEBERG, J. R. **Avaliação da análise microscópica tradicional e do analisador automatizado IQ 200® no exame de urina**. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

HOPPE, B. Gaertner, Karl Friedrich von. **Complete Dictionary of Scientific Biography**. Charles Scribner's Sons, 2008.

HU, X.; ZHANG, J.; ZHANG, X. Evaluation of the Sysmex UF-1000i Urine Analyzer as a Screening Test to reduce the need for urine cultures for Urinary Tract Infection. **Laboratory Medicine**, 2010. 41; 6. 349-352.

INCE, F. D. et al. The comparison of automated urine analyzers with manual microscopic examination for urinalysis automated urine analyzers and manual urinalysis. **Practical Laboratory Medicine**, 2016. 5. 14-20.

INVITROGEN TUTORIALS. **Introduction to flow cytometry [online]**. Califórnia, Estados Unidos, 2017. Disponível em: <<https://www.thermofisher.com/br/en/home/support/tutorials.html#vid4>> Acesso em: 04 jun. 2017.

KAMALEDEEN, A; VIVEKANANTHAM, S. The rise and fall of uroscopy as a parable for the modern physician. **Journal Royal College of Physicians of Edinburgh**, 2015. 45: 63–6.

MACKENZIE, J.C. Dr Richard Bright- A Man of many Parts His Bicentenary Year - 1789-1858. **Bristol. Med. Chir. J.**, 1989. 63-7. 104-107.

MUNDT, L.A.; SHANAHAN, K. **Exame de urina e de fluidos corporais de Graff**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

NEILD, G.H. William Cruickshank (FRS – 1802): Clinical chemist. Historical Note. **Nephrology Dialysis Transplantation**. 11. 1885-1889, 1996.

NOGUEIRA NETO, J.F.; OLIVEIRA JUNIOR, R.B. Novas tecnologias em Patologia Clínica. **Gold book – Inovação Tecnológica em Educação e Saúde**. p. 846-883. Acesso em: 21 mai. 2017.

ROCHE DIAGNOSTICS INTERNATIONAL LTD. **Cobas® 6500 urine analyzer series**. Switzerland, 2013.

ROCHE DIAGNOSTICS LTD. **Cobas - Compendium of urinalysis**. Switzerland, 2010 (1).

ROCHE DIAGNOSTICS LTD. **Vitamin C and urine test strips. Handling the impact on erythrocytes and glucose results**. Switzerland, 2010 (2).

ROCHE DIAGNOSTICS LTD. **Cobas® 6500 urine analyzer series - Manual do operador**. Versão 1.0.0. 06998437046, 2014.

ROCHE DIAGNOSTICS LTD. **Celebrating 50 years of Combur-Test® strip technology from Roche**. Disponível em: <<http://www.cobas.com/home/newsroom/cobas-stories/50-years-combur.html>> Acesso em: 07 jan. 2018 (1).

ROCHE DIAGNOSTICS LTD. **Combur-Test® Strip**. Disponível em: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/instruments/combur_chemstripnepurnitur.html> Acesso em: 12 out. 2018 (2).

ROCHE DIAGNOSTICS LTD. **Urinálise na Roche**. Disponível em: < Disponível em: <<http://www.roche.com.br/home/diagnostica/urinalise.html>> Acesso em: 07 jan. 2018 (3).

RUMLEY, A. Urine dipstick testing: comparison of results obtained by visual Reading and with the Bayer CLINITEK 50. **Ann Clin Biochem**: 2000; 37:220-221.

SYSMEX. **UF1000i - A new generation automated urina particle analyzer**. Sysmex America, 2015.

SYSMEX. SÉRIE UN. **Sistema modular de automatização da Urinálise**. Disponível em: <https://www.sysmex.com/la/pt/Products/Documents/SERIEUN_PT_V03_baixa.pdf> Acesso em: 06 dez. 2017.

SOARES, J.L.M.F.; ROSA, D.D.; LEITE, V.R.S.; PASQUALOTTO, A.C. **Métodos diagnósticos**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. **Recomendações da SBPC/ML: Coleta e preparo da amostra biológica.** Barueri. Manole, 2014.

SOLORZANO, G.T.M. et al. Relação proteína/creatinina na urina versus proteinúria de 24 horas na avaliação de nefrite lúpica. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, 2012. 64-67.

STRASINGER, S.K.; DI LORENZO, M. S. **Urinalysis and body fluids.** 6 ed. F A Davis, 2014.

UCL – CLINIQUES UNIVERSITAIRES SAINT-LUC. **Sédiment urinaire automatisé: l'approche Laboratoire Central Automatisé.** Bruxelas, 2016.

URISED 2. **LabUMat 2 & UriSed 2 – Complete Urine Laboratory System.** 2014.

YD-DIAGNOSTICS CORPORATION. Uriscan™ 11 – Tiras reagentes de Urina. YE 041. Rev 06. 03-02-2009/ BS Rev 01 Jan 2014.

WAMA DIAGNÓSTICA. Uri-Color Check. 2ª Edição. Rev 10/2010.

WESARACHKITTI, B. et al. Performance Evaluation and Comparison of the Fully Automated Urinalysis Analyzers UX-2000 and Cobas 6500. **American Society for Clinical Pathology. Laboratory Medicine**, 2016.47:2:124-133.

77 ELEKTRONIKA. **LabUMat 2 & UriSed 2 – A New Phase with Contrast.** Disponível em: <en.e77.hu/products/urine-analyzer/labumat-2> Acesso em: 31 mar. 2018.