COMPARAÇÃO DE TIRAS REAGENTES PARA URINÁLISE VETERINÁRIA

Gabriela Fiuza Corato¹, Ronaldo Eugênio de Oliveira¹, Kamila Pandolfi¹, Rudson da Silva Florêncio¹, Mirelle Baptista Jordaim¹, Leandro Andre Milholli¹, Filipe Freire Rampinelli¹, Gabriela Porfirio-Passos², Lenir Cardoso Porfirio¹

¹ Universidade Federal do Espirito Santo/Departamento de Medicina Veterinária, Alto Universitário, sn, Alegre, Espirito Santo, lenircp52@gmail.com

Resumo – No exame de urina é possível identificar parâmetros como pH, glicose, cetona, proteína, bilirrubina, urobilinogênio, densidade, hemoglobina, leucócitos, ácido ascórbico, outros e o exame do sedimento urinário. Este estudo foi desenvolvido para comparar as marcas de tiras reagentes de urina Roche Combur10 Test® UX, Labtest Uriquest Plus VET® e Inlab Uri-test11® com a marca utilizada na rotina do Laboratório de Análises Clínicas, a Labtest Uriquest Plus®. Foi observada discrepâncias entre os resultados das marcas desenvolvidas para a medicina humana com a marca desenvolvida para a medicina veterinária e entre elas, nos exames da urina de cães atendidos no Hospital Veterinário. Foi possível observar que os parâmetros de pH, densidade e proteína urinária apresentaram maiores discrepâncias entre as fitas quando comparado com padrões para dosagens da densidade por refratometria e da proteína por espectrofotometria. Há necessidade de padronização do exame de urina com tiras reagentes, pois é um valioso auxílio ao diagnóstico de doenças renais e extra-renais.

Palavras chave: Exame químico, Exame de urina, Cães.

Área do Conhecimento: Medicina Veterinária

Introdução

O exame de urina ou urinálise é um exame simples, de baixo custo e não invasivo ao animal, que permite a análise da urina como exame complementar. É útil para avaliação da saúde do animal, pois é possível identificar informações do trato urinário e doenças sistêmicas ou extra-renais. A análise da urina é realizada em três etapas, o exame físico, o químico e a análise microscópica do sedimento urinário. Após a realização destas etapas, obtêm-se informações em relação o funcionamento do sistema urinário, assim como de outros órgãos, como o pâncreas endócrino e o fígado, principalmente (GARCIA-NAVARRO, 2005; KIEL, MOSKOWITZ, 1987).

A primeira etapa é o exame físico da urina, realizada a partir da observação da amostra de urina em um recipiente de vidro transparente, onde então se avalia o volume urinário, a coloração, o odor, o aspecto e a densidade específica da urina. Alterações no aspecto urinário podem indicar alterações como formação de cálculos ou lesão renal crônica. A segunda etapa é o exame químico semi-quantitativo da urina, de fácil execução e podem ser realizadas com o uso das fitas reagentes. Os parâmetro avaliados no exame químico da amostra são principalmente o pH, densidade, glicose, cetonas, proteínas, bilirrubina, urobilinogênio, nitrito, leucócitos e hemoglobina. A terceira etapa é o exame do sedimento urinário das amostras centrifugadas a 1.500 rpm por 5 minutos e a quantificação microscópicas dos elementos figurados da urina, entre lâmina e lamínula (FINCO, 1997; SODRÉ, et al. 2007; LIMA et al. 2001).

Os cuidados na obtenção para a realização do exame de urina devem ser respeitados, porque diferentes fatores podem interferir nos métodos analíticos empregados nas tiras reagentes, destacam-se os produtos de limpeza, desinfetantes, medicamentos, vitamina C em concentrações elevadas na urina (Costa et al. 2012) em relação ao ácido ascórbico.

O objetivo da realização deste trabalho é a análise comparativa dos resultados e desempenho de quatro marcas de tiras reagentes (Roche Combur10 Test® UX, Labtest Uriquest Plus® e Inlab Uritest11®) destinadas a testes laboratoriais para exame de urina tipo 1 em humano e as tiras reagentes Labtest Uriquest Plus VET® destinada para exame de urina em animais.

² Universidade Federal da Bahia, Doutoranda em Ciência Animal nos Trópicos. Laboratório de Infectologia Veterinária. Hospital de Medicina Veterinária, gporfiriopassos@gmail.com



Metodologia

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da Universidade Federal do Espirito Santo (UFES), com o número 47/2015.

Foram utilizadas amostras de urina obtidas de 18 animais atendidos no Hospital Veterinário (HOVET), do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da UFES, em Alegre. As amostras foram obtidas pelo método de sondagem uretral em recipiente esterilizado e foram requeridas para o exame de urina, como exame complementar, no período de agosto de 2015 a maio de 2016. As amostras foram acondicionas em refrigeração sob temperatura de 2 a 8°C e submetidas a avaliação de exame químico e físico em no máximo 2 horas após a coleta.

A análise física foi dividida de acordo com as características da urina quanto ao volume, aspecto, cor, odor, pH e densidade. Para comparar a densidade indicada nas tiras reagentes, realizou-se o procedimento padrão do Laboratório de Análises Clínicas do HOVET, onde 20µl de urina foram avaliados com auxílio do refratômetro, um instrumento óptico utilizado para medir o índice de refração de uma substância translúcida e baseiam-se na refração da luz ao passar por um prisma, para determinar a grandeza a medir a densidade de pequenas amostras.

A análise química quali-quantitativamente foi realizada com as quatro tiras reagentes selecionadas para o presente estudo, que foram a Roche Combur10 Test® UX, Labtest Uriquest Plus VET® e Inlab Uri-test11® mais a marca Labtest Uriquest Plus® utilizada na rotina do Hospital Veterinário do HOVET. Foram analisados parâmetros como glicose, pH, cetonas, proteínas, bilirrubina, urobilinogênio, nitrito, densidade, hemoglobina, leucócitos, ácido ascórbico, conforme a tira reagente.

Cada amostra foi homogeneizada e utilizada como meio para submergir todas as áreas reagentes das fitas. Após a imersão, as fitas foram retiradas e dispostas lateralmente para eliminação do excesso de urina, em papel absorvente. Cada fabricante determina a forma de leitura e o tempo de reação, portanto, é necessário respeitar as instruções.

Na etapa seguinte foi realizada, para confirmação dos valores da proteína urinária obtidas nas tiras reagentes, com a quantificação da proteína urinária realizada com o Kit Labtest® Sensiprot que tem como princípio o vermelho de pirogalol reage com o molibdato de sódio formando um complexo que, quando combinado com a proteína em meio acido desenvolve um cromóforo de cor azul, com absorção em 600 nm, onde a absorbância resultante é diretamente proporcional a concentração de proteína na amostra de urina ou líquor e foi mensurado no espectrofotômetro Bioplus 2000®

Resultados

Os resultados avaliados foram dispostos em tabelas. É importante observar que as tabelas e marcas que possuem a sigla PNA (Parâmetro Não Avaliado) indicam que o parâmetro não é oferecido pela marca da tira reagente para exame de urina, ou seja, nem todas as marcas possuem os mesmos parâmetros.

Observar que a tira reagente específica para uso em medicina veterinária, Uriquest Plus Vet[®], isto é, para realização do exame de urina em animais, não contém reagentes para avaliação os parâmetros bilirrubina, urobilinogênio, acido ascórbico e densidade.

Tabela 1. Resultados dos parâmetros obtidos no exame físico e químico de urina do cão número 9

Parâmetros	Uri-test 11	Uriquest PLUS	Uriquest PLUS Vet	Combur
Bilirrubina	+	Negativo	PNA	+
Urobilinogênio	0,1 (Normal)	Normal	PNA	Normal
Corpos cetônicos	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Ácido ascórbico	++ (40mg/dl)	+	PNA	PNA
Glicose	Negativo	Normal	Normal	Negativo
Proteína (148,4mg/dL)	+++ (300 mg/dl)	500 mg/dl	500 mg/dl	+++ (500 mg/dl)
Sangue/sem hemólise	+ eritrócito/µL	50 eritrócito/µL	5-10 eritrócito/µL	++++250 eritrócito/µL
рH	6	5	5	5
Nitrito	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Leucócitos	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Densidade (1,036)	1,030	1,025	PNA	1,020

Tabela 2. Resultados dos parâmetros obtidos no exame físico e químico de urina do cão número 14

Parâmetros	Uri-test 11	Uriquest PLUS I	Uriquest PLUS Vet	Combur
Bilirrubina	Negativo	Negativo	PNA	Negativo
Urobilinogênio	0,1 (Normal)	Normal	PNA	Normal
Corpos cetônicos	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Ácido ascórbico	Negativo	Negativo	PNA	PNA
Glicose	Negativo	Normal	Normal	+ (50 mg/dl)
Proteína (81,8mg/dL)	+ (30 mg/dl)	++ (30 mg/dl)	100 mg/dl	Normal
Sangue/hemólise	+ 10 eritrócito/µL	+++ 300 eritrócito/µL	+++300 eritrócito/µL	+++50 eritrócito/µL
рH	5,5	6	5	6
Nitrito	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Leucócitos	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Densidade (1.025)	1,010	1,010	PNA	1,000

Tabela 3. Resultados dos parâmetros obtidos no exame físico e químico de urina do cão número 7

Parâmetros	Uri-test 11	Uriquest PLUS	Uriquest PLUS Vet	Combur
Bilirrubina	Negativo	Negativo	PNA	Negativo
Urobilinogênio	0,1 (Normal)	Normal	PNA	Normal
Corpos cetônicos	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Ácido ascórbico	++ (40mg/dl)	++	PNA	PNA
Glicose	Negativo	Normal	Normal	Negativo
Proteína (4,6mg/dL)	Negativo	Negativo	Negativo	Normal
Sangue	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
pH	5,5	5	5	5
Nitrito	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Leucócitos	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Densidade (1,022)	1,025	1,015	PNA	1,020

Tabela 4. Resultados dos parâmetros obtidos no exame físico e químico de urina do cão número 18

Parâmetros	Uri-test 11	Uriquest PLUS I	Uriquest PLUS Vet	Combur
Bilirrubina	Negativo	+	PNA	++
Urobilinogênio	0,1 (Normal)	Normal	PNA	Normal
Corpos cetônicos	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Ácido ascórbico	+ (20mg/dl)	++	PNA	PNA
Glicose	Negativo	Normal	Normal	Negativo
Proteína (34,2mg/dL)	++ (100 mg/dl)	30 mg/dl	30 mg/dl	+ (30 mg/dl)
Sangue	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
рН	8	9	9	8,5
Nitrito	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Leucócitos	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Densidade (1,056)	1,000	1,010	PNA	1,020

Tabela 5. Resultados dos parâmetros obtidos no exame físico e químico de urina do cão número 16

Parâmetros	Uri-test 11	Uriquest PLUS I	Uriquest PLUS Vet	Combur
Bilirrubina	Negativo	Negativo	PNA	Negativo
Urobilinogênio	0,1 (Normal)	Normal	PNA	Normal
Corpos cetônicos	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Ácido ascórbico	+ (20mg/dl)	+	PNA	PNA
Glicose	Negativo	Normal	Normal	Negativo
Proteína (20,2mg/dL)	Negativo	Negativo	Negativo	Normal
Sangue	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
pH	5,5	6	6	6
Nitrito	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Leucócitos	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Densidade (1,076)	1,015	1,010	PNA	1,015

Nas tabelas, no parâmetro proteína urinária, os valores entre parêntese significam a quantidade de proteína, pela técnica do vermelho de pirogalol, por espectrofotometria.

Quanto à densidade, os valores obtidos pela técnica de refratometria estão colocados entre parêntese, ao lado do mesmo parâmetro, para aquele animal, em cada tabela.

Estão apresentadas cinco tabelas com os resultados que representam as alterações mais significativas entre as tiras reagentes selecionadas para a comparação no presente estudo, dentro os 18 exames de urina realizados no experimento.

Discussão

Os animais 9 (Tab. 1) e 14 (Tab. 2) se destacam devido a grande diferença entre os resultados, principalmente nos parâmetros da presença de sangue e proteína. Portanto, resultados como estes merecem atenção especial quanto ao diagnóstico e realização de um novo exame para confirmação dos resultados, porque de acordo com Lees et al. (2005) a proteinúria e albuminúria como ocorreu no animal 9 têm inúmeras causas possíveis e devem ser avaliados de forma adequada para determinar as suas implicações para o paciente. A avaliação deve indicar a origem pré-renal, renal ou pós-renal, persistência e magnitude da proteinúria, normalmente indica a presença da doença renal crônica.

A quantidade de proteína no animal 4 e 8 foi de 25,1mg/dL e as tiras não perceberam este valor, pois de acordo com os fabricantes, as tiras reagem quando há mais de 30 mg/dL de proteína, portanto o valor foi negativo, mas no 5 a proteína também foi de 25,0 mg/dL, e as tiras mostraram 1+ equivalente de 30mg/dL. O animal 6 apresentou 42,5 mg/dL e foi negativo em todas as tiras reagentes. No animal 10 a proteinúria mostrou 31,2 mg/dL, e confere com as tiras que mostraram 1+ equivalente de 30mg/dL, o que corrobora com as informações de Garcia-Navarro, (2005) que as proteínas normalmente estão ausentes na urina, entretanto podem ser encontradas em pequenas quantidades em decorrência de exercício físico e estresse, no caso de proteinúria de origem prérenal. Para Lima et al. (2001) a urina normal, formada e excretada pelo sistema renal e trato urinário saudável, não contêm proteína ou contém apenas vestígios.

Quanto o animal 9 o valor da proteína foi de 148,4mg/dL e na Uri-test 11 mostrou 3+++ equivalente a 300 mg/dL enquanto a tira Combur mostrou 3+++, mas equivalente a 500 mg/dL. Para Gonçalves et al. (2007) a presença de quantidades elevadas de proteína na urina pode indicar doença renal, e ocorre antes de quaisquer outros sintomas clínicos e Zanella (2006) também descreve que a normoalbuminúria ocorre com valores < 20 mg/mL, microalbuminúria com valores de 20 a 199 mg/mL e a macroalbuminúria com valores ≥ 200 mg/mL, em amostras isoladas, portanto os cães 4, 5, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16 e 18 (12/18) estariam microalbuminúricos, porque a proteína urinária variou de 20,0 mg/mL a 148,4mg/dL, informação importante para investigar a causa. Os demais animais apresentaram valores < 20 mg/mL, portanto normoalbuminúricos.

Os parâmetros de densidade, pH, bilirrubina e proteína, respectivamente, mostraram maior discrepâncias nos resultados em comparação aos outros parâmetros presentes nas tiras entre as marcas. Sendo assim, observa-se que entre todas as marcas nos 18 cães os resultados para densidade foram mais discrepantes, e entre os cães 15 e 18 os resultados para pH não apresentaram semelhança entre si, entre os cães 9 e 18 os resultados para valores de proteína e bilirrubina foram os que apresentaram maior discrepância entre as marcas.

Quando comparado com os valores obtidos para a densidade urinária (DU) pela técnica da refratometria, o valor da DU por refratometria não coincidiu com nenhuma das tiras reagentes, e certamente é uma mensuração importante, porque é uma estimativa dos solutos eliminados do organismo e presentes na amostra urinária diariamente (Garcia-Navarro, 2005 e Trhall et al. 2007) a DU informa sobre a capacidade regulatória dos rins, ou seja, a capacidade de concentração e diluição tubular, uma das importantes funções dos rins. Como informa Silveira (1988), a DU é importante, nos processos renais que atingem os túbulos, de maneira difusa, o que pode prejudicar a concentração da urina e promover alterações o equilíbrio iônico e ácido básico.

As tiras reagentes indicadas para cães não apresentam todos os parâmetros necessário para análise e Garcia-Navarro (2005) complementou que o método de colorimetria das tiras reagentes apresenta alguns inconvenientes, com valores imprecisos para animais, porque não é sensível às alterações de densidade quando tem glicose, por exemplo.

Ao observar a (Tab. 4 e 5), da urina dos cães 18 e 16, as tirar reagentes mostram densidade de 1.000 até 1.015 para cães com função renal adequada, este exemplo mostra que é um parâmetro

que não pode ser analisado apenas com as tiras reagentes, pois, a densidade de 1.008 a 1.012 é considerada como isostenúrica, isto é, igual à densidade do plasma e indica que os rins não estão com capacidade para concentrar urina, para Kerr, (2003) os rins podem excretar urina com uma variação ampla da densidade urinária, dependendo das alterações diárias de alimentação, ingesta de água e que a densidade permanece entre 1.015 a 1.045 no cão saudável.

As tiras reagentes de urinálise indicam seus resultados por meio das cores dos produtos reagentes, que se baseia para comparação final informada por seus fabricantes. Tais discordâncias nos resultados, baseados em cores, podem ter ocorrido por corantes presentes na alimentação, presença normal de ácido ascórbico na urina de cães e concorda com Colombeli, Falkenberg (2006), pois a detecção de ácido ascórbico na urina não é utilizada como diagnóstico porque não é indicativo de doença, mas sua dosagem pode interferir na detecção de sangue/hemoglobina e glicose e pode promover resultados alterados e interferir em reações químicas e na concentração urinária mais elevada nos cães que em humanos. Costa et al. (2012) confirmam que nas concentrações iguais e acima de 50 mg/dl, a interferência do ácido ascórbico se fez presente, sendo que o fato foi caracterizado pelos resultados falso negativos para detecção da glicose urinária

As tiras reagentes utilizadas na pesquisa de elementos químicos no exame de urina são constituídas por um suporte plástico contendo áreas impregnadas com reagentes químicos. Uma reação de cor se desenvolve quando as áreas de química seca entram em contato com a urina. Como pode ser observado, no principio de reações das tiras dos diferentes fabricantes são desenvolvidas com formulações distintas para um mesmo parâmetro, fato que é comentado por Cezar et al. (2012) que quanto às legendas das dosagens sem-quantitativas, grande parte das marcas não inclui essas informações na bula do produto; entre elas se observou que os parâmetros de glicose, bilirrubina, cetonas e sangue não possuíam a mesma correspondência de concentração e legenda entre as marcas, como no cão 18 quanto à presença de bilirrubina, o cão 18 foi nas tiras reagentes Uri-test 11 apresentou resultado negativo; na Uriquest PLUS I o resultado foi a presença de +, nas tiras Uriquest PLUS Vet é um parametro não analisado (PNA) e nas tiras Combur apresentou ++ como resultado, isto é uma sistuação que em conjunto com outros resultados pode dificultar a análise.

Das 18 urinas examinadas apenas a urina de 5,6% dos cães (1/8), o de número 7 (Tab. 3) apresentou menor discrepância entre as tiras reagentes, na espectofotometria para valores de proteína urinária e na refratometria para confirmação dos valores de densidade, o que mostra que não é aconselhável o uso de tiras reagentes para uso em humanos, em cães, para os parâmetros pH, densidade, proteína e bilirrubina, pela importância no diagnóstico de possíveis doenças renais ou extra renais. Finco (1997) ressaltou que alterações no aspecto urinário e cor da urina podem indicar ocorrências como formação de cálculos ou até mesmo a lesão renal crônica, como por exemplo, em casos de proteinúria e densidade diminuída, como na isostenúria ou hipoestenúria.

As concentrações dos componentes químicos das urinas de cães são diferentes das urinas humanas para as quais as tiras foram fabricadas, principalmente pelo tipo de alimentação, horário para colheita que é muito variada e pela presença fisiológica e constante de ácido ascórbico presente em todas as urinas dos cães do presente estudo (Tab. 1 a 5). Ao analisar a tira reagente para urina de animais são apresentadas apenas sete dos 11 parâmetros que aparecem como reagentes não analisados (PNA) e são eles, bilirrubina, urobilinogênio, ácido ascórbico e densidade.

O presente trabalho concorda com Cezar et al. (2012) quando reportaram ser fundamental a necessidade de padronização dos aspectos envolvidos nesse tipo exame, bem como as informações contidas nas bulas quanto à definição dos reais interferentes, e em quais concentrações eles passam a oferecer risco à leitura dos resultados. Este trabalho também acredita que se torna necessária a equiparação entre as legendas e simbologias utilizadas, permitindo a igualdade da interpretação dos resultados independentes do local, analista ou marcas de reagentes utilizados na análise. Evitandose, assim, possíveis diagnósticos incorretos.

Conclusão

Este trabalho conclui que não é recomendado o uso de tiras reagentes para uso em humanos, em urina de cães, principalmente em relação aos parâmetros densidade e proteína.

Há necessidade de padronização das reações e das informações contidas nas bulas para reduzir interpretações diferentes na leitura dos resultados.

Referências

CEZAR, G.O.; SANTOS, V.D. dos.; FUNCHAL, C. Avaliação da compatibilidade entre bulas de diferentes marcas de tiras reagentes de urina. **Rev. Uniara**, v.15, n.1, julho 2012.

COLOMBELI, A.S.S.; FALKENBERG, M. Comparação de bulas de duas marcas de tiras reagentes utilizadas no exame químico de urina. **J Bras Patol Med Lab**, v. 42, n. 2, p. 85-93, 2006.

COSTA, J.M.F.; MENDES, M.E.; SUMITA, N.M. Avaliação da interferência do ácido ascórbico na detecção da glicosúria. **J Bras Patol Med Lab**, v. 48, n. 1, p. 11-14, 2012.

FINCO, D.R. Kidney Function. In: KANEKO, J.J. et al. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 15. ed. San Diego: Academic Press, 1997.

GARCIA-NAVARRO, C. E. K. **Manual de urinálise veterinária**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2005.

GONÇALVES, J.B.P.; MIRANDA, M.C.; VALCARENGHI, D.; BUENO, E.C. Analise comparativa de metodologias para dosagem de proteinúria de 24 horas. **RBAC**., v. 39, n.1, p.67-9, 2007

KERR, M.G. **Exames laboratoriais em medicina veterinária:** bioquímica clínica e hematologia. São Paulo: Roca, 2003.

KIEL, D.P.; MOSKOWITZ, M.A: The urinalysis: A critical appraisal. **Med Clin North Am**, v. 71, n. 4, p. 607-624, 1987.

LEES, G.; BROWN, S.; ELLIOT, J.; GRAUER, G.F.; VADEN, S.L.. Assessment and management of proteinuria in dogs and cats. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 19, p. 377-385, 2005.

LIMA, O. A. et al. **Métodos de laboratório aplicados à clínica:** Técnica e interpretação. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

SILVEIRA, J.M. **Patologia Clínica Veterinária**. Teoria e Interpretação. Editora Guanabara: Rio de Janeiro, 1988.

SODRE, F.L.; COSTA, J.C.B.; LIMA, J.C.C. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. **J. Bras. Patol. Méd. Lab.**, v. 43, p. 329-337, 2007.

TRHALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. São Paulo: Roca, 2007.

ZANELLA, M.T. Microalbuminúria: fator de risco cardiovascular e renal subestimado na prática clínica - Revisão. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v. 50, n. 2, p. 313-321, 2006.