

Avaliação da eficácia de corantes citológicos frente à sedimentoscopia urinária

Evaluation of the effectiveness of cytological dye in the urinary sedimentoscopy

Ana Cássia Saldanha de Souza Bernardino¹

Allan Demétrius Leite de Oliveira²

Resumo

Objetivo: Trata-se de um estudo descritivo-analítico, realizado com cinquenta amostras urinárias de pacientes que se submeteram ao exame de urina em um laboratório da cidade de Juazeiro do Norte, CE. **Métodos:** Para cada amostra foram utilizados seis tubos. As amostras foram avaliadas seguindo duas metodologias distintas. Uma metodologia padronizada, com o uso ou não de corantes (azul de toluidina, Sternheimer-Malbin, Leishman e Giensa), e outra metodologia não padronizada quanto à quantidade de sedimento, ausência de corantes e de lamínulas, com o intuito de verificar a eficácia de diferentes corantes e confirmar a importância de se seguir padrões durante as análises laboratoriais de urina. **Resultados e Conclusão:** Os resultados apresentados sugerem que a utilização de padrões analíticos, bem como o uso de corantes em análises microscópicas de urina, pode ser uma opção eficaz e segura para os laboratórios de análises.

Palavras-chave

Urinálise; Sedimentoscopia; Controle de qualidade

INTRODUÇÃO

A urina é um material biológico de fácil obtenção e uma excelente fonte de investigação, sendo utilizada com frequência no desvendo de situações clínicas que implicam suspeita de doença, pois a mesma contém informações fundamentais a fim de diagnosticar, prevenir e estudar diversas alterações orgânicas.⁽¹⁾

Existem inúmeros exames e técnicas distintas para diagnóstico. Na História da medicina laboratorial, os métodos para análises urinárias eram feitos apenas pela cor, odor e presença ou ausência de formigas. Após um longo período de estudos, pesquisadores deram início à uroscopia e, mais tarde, à realização de testes químicos e exames dos sedimentos urinários; só então foi possível entender algumas patologias que acometem o rim e diagnosticá-las, assim como métodos para quantificá-las e qualificá-las.⁽²⁾

A avaliação do exame de urina é um dos pilares para decisões diagnósticas e terapêuticas frente à doença renal, sendo considerado exame de triagem em laboratórios, pelo fato de o mesmo possuir um amplo leque de possibilidades avaliativas, disponibilizando uma considerável acurácia de substâncias presentes na mesma, além de possuir um excelente custo-benefício.⁽³⁾

A análise de uma amostra urinária depende de vários fatores, como acondicionamento, processamento e, principalmente, a avaliação do sedimento por parte do profissional do laboratório. O uso de corantes em citologia urinária apresenta-se como uma boa alternativa para a diferenciação de certos elementos, como células e cilindros,⁽⁴⁾ já que alguns sedimentos presentes nas amostras encontram-se quase invisíveis na microscopia, passando muitas vezes despercebidos por muitos analistas, aumentando, deste modo, o índice de resultados falso-negativos e diminuindo a garantia de resultados laboratoriais.⁽⁵⁾

Assim sendo, com o intuito de garantir resultados fidedignos e uma melhora na qualidade da visualização de possíveis sedimentos, técnicas de coloração estão sendo empregadas e foram criadas para uma posterior segurança na análise microscópica, garantindo não só a representatividade da amostra como também o diferencial e a competência do profissional.⁽⁶⁾

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia do uso de diferentes corantes em sedimento urinário, comparando os dados da sedimentoscopia quando na realização de coloração e na ausência da mesma, averiguando a real necessidade da utilização de corantes em amostras urinárias, além de observar até que ponto a despadronização

¹Graduação em Biomedicina, Faculdade Leão Sampaio - Juazeiro do Norte, CE, Brasil.

²Mestre, Faculdade Leão Sampaio, Juazeiro do Norte, CE, Brasil.

Instituição: Faculdade Doutor Leão Sampaio - Juazeiro do Norte, CE, Brasil.

Artigo recebido em 24/05/2013

Artigo aprovado em 24/02/2016

total das análises interfere no resultado final do laudo urinário.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo-analítico, comparativo e de caráter quantitativo.

O estudo foi realizado de março a maio de 2012 com amostras urinárias fornecidas por um laboratório do município de Juazeiro do Norte, Ceará, de pacientes que se submeteram à análise urinária no laboratório em questão.

Foram analisadas cinquenta amostras urinárias colhidas de jato médio, utilizando-se para cada amostra seis tubos contendo 10 mL de urina em cada um. Os tubos foram centrifugados durante cinco minutos a 3.000 RPM (rotações por minuto) e, posteriormente, o sobrenadante foi desprezado, seguindo as normas da ABNT (Associação Brasileira para Normas Técnicas) para liberação de laudos urinários. Em dois desses tubos não se utilizou coloração e aos demais foram acrescentados 40 µL dos respectivos corantes (Leishman, Azul de Toluidina, Sternheimer-Malbin e o May Grunwald Giemsa), analisando-se o sedimento após cinco minutos de exposição ao corante.

As duas amostras analisadas sem coloração foram avaliadas seguindo duas metodologias distintas: a primeira seguindo as normas de padronização para análises urinárias de acordo com a ABNT, e a segunda sem o uso dos corantes e despadronizadas, com o intuito de verificar a relevância e importância dos laboratórios seguirem padrões durante as análises laboratoriais. Para as amostras padronizadas transferiu-se uma alíquota de 20 µL para a lâmina e, sobre a amostra, uma lamínula 22 x 22 para posterior análise microscópica em objetiva de 10x e 40x.

As análises estatísticas dos dados foram desenvolvidas no programa SPSS 16 (licenciado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Juazeiro do Norte), realizando-se estatística descritiva e inferencial por meio do teste de Anova, seguido do teste de *Post Hoc* de Scheffé, adotando-se valor de significância $p < 0,05$. Na construção dos gráficos e tabelas foi utilizado o Microsoft Excel 2007®.

A pesquisa foi autorizada pela direção clínica do laboratório em questão por meio de uma carta de anuência.

RESULTADOS

Os resultados foram apresentados em tabelas e gráfico. A Tabela 1 apresenta os resultados encontrados quanto à presença de células uroteliais e transicionais.

Todas as amostras apresentaram células uroteliais (pavimentosas) como sedimento. Pode-se perceber que não houve diferença estatisticamente significativa em relação à quantidade de células uroteliais encontradas nos tubos que

Tabela 1 - Resultados das contagens de células uroteliais e células transicionais com e sem o uso dos corantes

Corantes	Células uroteliais (n=50)		Células transicionais (n=17)	
	Mín-Máx	Média±DP	Mín-Máx	Média±DP
Sem corante padronizado	1-9	3,48±1,69 ^a	1-3	1,4±0,63
Azul de Toluidina	2-8	4,32±1,67 ^b	1-3	1,93±0,46 ^a
Sternheimer-Malbin	2-9	4,94±1,72	1-3	2,00±0,52 ^b
Leishman	2-8	4,58±1,64 ^c	1-3	2,06±0,44 ^c
Giemsa	2-9	4,96±1,70	1-3	2,06±0,57 ^d
Sem corante despadronizada	1-20	6,24±4,68 ^{abc}	1-4	2,20±1,30 ^{abcd}
Valor de F		6,865**		6,688**

Média±DP= Média ± Desvio Padrão - **Diferenças estatisticamente significativas considerando $p < 0,01$ - Letras iguais indicam diferenças entre os pares de valores considerando $p < 0,05$.

foram tratados com corantes e também no tubo com sedimento descolorado (padronizada); no entanto, observou-se uma diferença estatisticamente relevante em relação àqueles tubos despadronizados, ou seja, os tubos que não seguiam a recomendação da ABNT. Os tubos sem o uso dos corantes (padronizadas) obtiveram uma média um pouco abaixo em relação aos com corantes, apresentando, no entanto, desvio padrão similar.

Em relação à quantidade de células transicionais (epitélio da bexiga e ureteres), em 17 amostras das cinquenta analisadas observou-se a presença das mesmas (Tabela 1). No entanto, não foi observada diferença estatisticamente significativa nos tubos que foram tratadas com corantes. No caso dos tubos despadronizados e sem coloração, conforme a Tabela 1, houve diferença estatística significativa em relação aos tubos utilizados com coloração.

As amostras que apresentaram leucócitos, hemácias, macrófagos e cristais de oxalato de cálcio não apresentaram diferença estatística significativa (Tabelas 2 e 3).

Três amostras analisadas foram identificadas com os respectivos cristais (fosfato triplo, ácido úrico, medicamentoso) e apenas uma com cilindro hialino. Conforme a Figura 1, para a amostra de urina que apresentou cristal de fosfato triplo, encontrou-se o mesmo número para os tubos padronizados com o uso dos corantes (dois por campo); para os tubos padronizados e despadronizados sem o uso dos corantes, obtiveram-se valores idênticos (um por campo).

A amostra que apresentou cristal de ácido úrico obteve valores iguais para todos os tubos (um por campo), com exceção para as despadronizadas, onde se observaram quantidades superiores (três por campo). A amostra que apresentou cristal medicamentoso, com o uso dos corantes Azul de Toluidina, Sternheimer-Malbin e Giemsa, apresentou valores iguais (dois por campo); o tubo com o corante

Tabela 2 - Resultados das contagens de leucócitos e hemácias com e sem o uso dos corantes

Corantes	Leucócitos (n=49)		Hemácias (n=26)	
	Mín-Máx	Média±DP	Mín-Máx	Média±DP
Sem corante padronizado	1-9	2,90±1,60	1-10	2,32±2,10
Azul de Toluidina	1-9	3,63±1,75	1-10	2,72±1,97
Sternheimer-Malbin	1-9	3,55±1,70	1-10	2,92±2,00
Leishman	1-8	3,51±1,47	1-9	2,46±1,86
Giemsa	1-9	3,47±1,53	1-10	2,65±1,92
Sem corante despadronizada	1-14	3,65±3,28	1-14	3,39±3,74
Valor de F		0,903		0,301

Média+DP= Média + Desvio Padrão

Tabela 3 - Resultados das contagens de macrófago e cristal de oxalato de cálcio, com e sem o uso dos corantes

Corantes	Macrófagos (n=2)		Cristal e oxalato de cálcio (n=8)	
	Mín-Máx	Média±DP	Mín-Máx	Média±DP
Sem corante padronizado	0-1	0,50+0,71	2-10	2-10
Azul de Toluidina	1-2	1,50+0,71	2-9	2-9
Sternheimer-Malbin	1-1	1,00+0,00	1-9	1-9
Leishman	1-2	1,50+0,71	1-9	1-9
Giemsa	1-2	1,50+0,71	1-9	1-9
Sem corante despadronizada	0-0	0,00+0,00	1-17	1-17
Valor de F		2,400		0,386

Média+DP= Média + Desvio Padrão

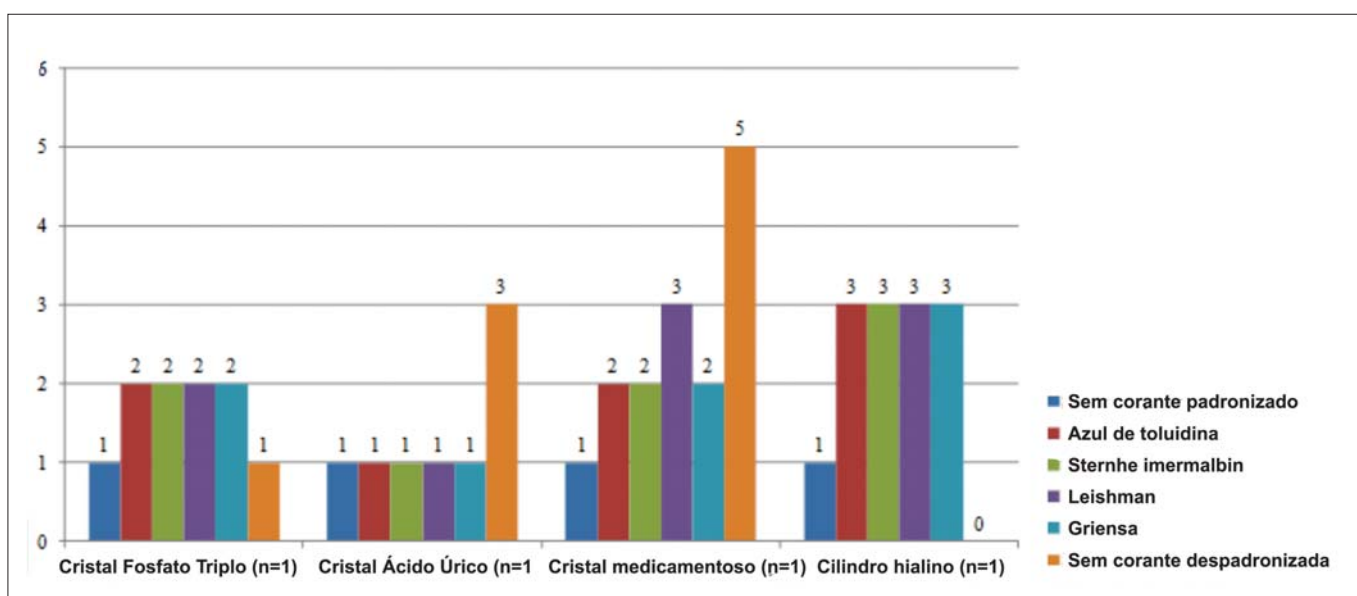


Figura 1. Resultados da contagem de amostras que apresentaram cristais fosfato triplo, ácido úrico, medicamentoso e cilindro hialino.

Leishman alcançou valor superior a este (três por campo); o tubo sem corante despadronizado alcançou valor ainda superior (cinco por campo) e o tubo sem corante padronizada o menor valor destes (um por campo).

Os tubos que foram submetidos aos corantes (amostra com cilindro hialino) apresentaram valores idênticos num total de três por campo. No tubo padronizado sem corante foi visualizado um único cilindro e no tubo despadronizado sem corantes não se observou nenhuma estrutura cilíndrica.

DISCUSSÃO

A urina fornece informações sobre muitas das principais funções metabólicas do organismo, por meio de diversos testes laboratoriais. Trata-se de uma amostra biológica, onde sua coleta é rápida e indolor, porém a preserva-

ção é difícil, desfazendo assim suas características organolépticas com um tempo, sendo imprescindível sua análise após a coleta. A mesma deve ser coletada em um frasco limpo e rosqueável, onde sua análise deve obedecer a um tempo menor que duas horas, a fim de não ocorrer interferências por alcalinização, possível proliferação bacteriana, ou outros fatores que possam alterar a morfologia das células.⁽⁶⁻⁸⁾

Trata-se de um método barato e com a vantagem de poder detectar diversas alterações orgânicas, principalmente quando se refere ao sistema renal. Desta forma, sabendo que a análise do sedimento é de suma importância para o sumário de urina, existe a preocupação em observar diferentes corantes que são utilizados em citologia urinária, a fim de avaliar a sua real eficácia para uma melhor visualização e identificação de estruturas em sedimento.^(9,10)

O estudo procurou mostrar uma possível eficácia em seguir parâmetros diagnósticos em relação ao tempo de padronização, quantidade de urina a ser examinada, uso de corantes citológicos e lamínula. Em parte, a causa mais comumente responsabilizada como a maior causadora de resultados falso-negativos está associada aos profissionais de laboratório não seguirem padrões durante as análises e também pela inexperiência do profissional em questão.⁽¹¹⁾

Os profissionais de laboratório devem estar sempre atentos aos achados na microscopia e no manuseio da amostra, como a homogeneização da mesma para que possíveis partículas presentes na amostra não venham a sedimentar-se, como também a padronização da velocidade e tempo de centrifugação, para que os mesmos não sejam desintegrados. Os achados laboratoriais devem ser contados por campo, sendo um total de, no mínimo, dez campos. Estes parâmetros garantem não só uma boa acurácia do exame como também a autenticidade do resultado, servindo como um fator de representatividade, referência e controle de qualidade.^(8,10)

O impacto dos cuidados profissionais no laboratório tem sido apontada como uma das mais eficientes manobras para se aprimorar um sistema de controle de qualidade.⁽⁵⁾ Por esta razão, esta pesquisa procurou explorar a real necessidade de os laboratórios seguirem padrões em suas análises, com o intuito de evitar discrepâncias em relação ao resultado final, independente do laboratório onde a amostra foi avaliada.

Conforme estudos já realizados, a citação e a descrição de alterações vistas em um sumário de urina possuem grande influência para o médico, pois é através do laudo descrito que o mesmo irá diagnosticar pistas importantes sobre doenças sistêmicas, principalmente as doenças dos rins, e prescrever o medicamento correto a ser encaminhado, fazendo a diferença e mantendo a boa qualidade no exame de urina em exames laboratoriais.^(8,12)

As colorações são utilizadas em microscopia óptica para aumentar o contraste visual entre os elementos observados.⁽¹³⁾ Em um estudo comparativo entre diferentes corantes em citologia, pesquisadores retratam a necessidade da utilização de corantes na área citológica, isto porque muitas vezes a identificação dos sedimentos torna-se dificultosa mesmo para técnicos experientes; contudo, são utilizados corantes que auxiliem o pesquisador na identificação correta dos mesmos, observando-se a sua real necessidade em rotinas laboratoriais.⁽¹⁴⁾

Conforme alguns estudos realizados, em relação ao uso de corantes na área citológica, houve concordância com os resultados aqui apresentados. Observou-se uma diferença estatística significativa das amostras urinárias quando em relação às despadronizadas sem o uso dos corantes, com todas as outras amostras, divergindo entre amostras que apresentaram células uroteliais e as que

apresentaram células transitórias. Sabendo-se da importância que estas influenciam no direcionamento do médico, quanto à suspeita de carcinoma renal (quando alteradas morfológicamente ou em grande número), necessitando, desta forma, a pesquisa e diferenciação nas análises clínicas.⁽³⁾

A relação diagnóstica dos métodos citológicos tem sido apontada como uma das mais eficientes manobras para se aprimorar um sistema de garantia de qualidade. A prática e a discussão sistematizadas de casos mostrou a eficiência em padronizar parâmetros diagnósticos, sobretudo em relação ao uso de um corante, o que facilita a identificação de células, possibilitando uma boa visualização, detectando processos como discariose celular, o que, na ausência do mesmo, isso não poderia ser possível.⁽¹⁴⁻¹⁷⁾

Estudos realizados comprovam que o uso de corantes em amostras a serem analisadas não só facilita a identificação das estruturas como também diminui a multiplicação de bactérias e fungos, prevenindo a conservação das estruturas e mantendo-as como satisfatórias.^(12,15,17)

A utilização de coloração em citologia urinária segue recomendações da ABNT e o estudo em questão utilizou quatro diferentes corantes, sendo que dois destes (Leishman e Giemsa) são utilizados em esfregaços hematológicos e os outros dois (Azul de Toluidina e Sternhaimer-Malbin) em amostras urinárias. Todos os corantes, de acordo com estudos, mostraram ser eficazes, diferenciando bem as estruturas, conservando as amostras e possuindo um excelente custo-benefício.^(7,15)

Em relação às análises que não seguem a padronização recomendada pela ABNT, é possível que o profissional encontre dificuldades na visualização dos sedimentos, sua identificação e também um aumento considerável de bactérias e aglomerações em decorrência de uma má conservação, tornando-a insatisfatória.⁽¹⁶⁾ No entanto, de acordo com o estudo, não foi evidenciada uma diferença estatisticamente significativa quando comparados os tubos tratados com coloração com aqueles sem corante (padronizado).

Pode-se observar que estes resultados sugerem que o sucesso na implantação de ações que levem à melhoria e garantia da qualidade do diagnóstico laboratorial está relacionado com o envolvimento de todos os profissionais da área da saúde, elaborando e otimizando os procedimentos de execução e de inspeção, treinando e qualificando técnicos, calibrando os instrumentos, identificando expectativas e avaliando o grau de satisfação dos clientes. Como também a conscientização dos laboratórios e profissionais que o fazem quanto ao seguimento de novas técnicas que representem melhoria dos serviços, como por exemplo, o uso de um corante eficaz em sedimento urinário para minimizar a margem de erros, mesma quantidade de amostra sobre a lâmina e lâmina sob lamínula.

Para tanto, vale ressaltar que são necessárias mais pesquisas em relação à análise de sedimento urinário e a real eficácia da coloração em citologia urinária, a fim de que a empregabilidade destas técnicas possa surtir importantes efeitos práticos na rotina laboratorial, tanto do ponto de vista prático (procedimentos analíticos das amostras urinárias) como também em relação ao custo dos mesmos para os laboratórios de análises clínicas.

Abstract

Objective: This is a descriptive-analytical study carried out with 50 urine samples from patients who underwent urinalysis in a laboratory in the city of Juazeiro, CE. **Methods:** Six tubes were used for each sample. The samples were evaluated following two different methodologies. A standardized methodology using or no dyes (toluidine blue, Sternheimer-Malbin, Leishman and Giensa), and other non-standardized methodology in relation to the amount of sediment, absence of dyes and coverslips, in order to verify the effectiveness of different dyes and to confirm the importance of following standards during urine laboratory tests. **Results and Conclusion:** The results suggest that the use of analytical standards as well as the use of dyes in urine microscopic analyses can be an effective and safe option for clinical analysis laboratories.

Keywords

Urinalysis; Sedimentoscopia; Quality control

13. Begliomini H. Carcinoma superficial multifocal do pênis: Ênfase ao teste do azul de toluidina. Rev. Col. Bras. Cir. 2001 May/June;28(3): 235-7.
14. Raposo RS, Lúcia Silva LDM. Comparação qualitativa de diferentes técnicas de coloração para a citologia vaginal de cabras da raça Saanen. Ciência Animal. Fortaleza. 1999;9(2):81-5.
15. Azul de toluidina 1%: Somente para diagnóstico in vitro. QEEL - Química Especializada Erich Ltda, Nov. 2010. Disponível em: <http://www.queelquimica.com.br/laudo/AzuldeToluidina1.pdf>
16. Loreto CD, Maeda MYS, Utagawa MI, Filho AL, Alves VAF. Garantia de qualidade em citopatologia: aspectos da correlação citohistopatológica. Rev Ass Med Brasil. 1997;43(3):195-8.
17. Rossoni RD, Junqueira JC, Souza RC, Pereira CA, Jorge AOC. Comparação da eficácia fotodinâmica do azul de metileno, azul de toluidina e verde de malaquita contra candida albicans. Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal, Faculdade de Odontologia de São José dos Campos. XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação - Universidade do Vale do Paraíba.

Correspondência

Ana Cássia Saldanha de Souza Bernardino

Universidade Leão Sampaio

Avenida Maria Letícia Leite Pereira, s/n - Lagoa Seca

63040-405 – Juazeiro do Norte, CE

Telefone: (88) 2101-1000

E-mail: alorra.com@hotmail.com

REFERÊNCIAS

1. Costaval JA, Massote AP, Cerqueira CMM, Costaval AP, Auler A, Martins GJ. Qual o valor da sedimentoscopia em urinas com características físico-químicas normais? J Bras Patol Med Lab. Rio de Janeiro. 2001;37(4):261-5.
2. Henry JB. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 2ª edição, Rio de Janeiro, Ed. Manoel Ltda, 1999.
3. Prates AB, Amaral FB, Vacaro MZ, Gross JL, Camargo J, Silveiro SP. Avaliação da filtração glomerular através da medida da cistatina C sérica. J Bras Nefrol. 2007;29(1):48-55.
4. Gartner LP, Hiatt JL. Tratado de histologia em cores. 1ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1999.
5. Ródio RC, Mylius LC, Buffon A, Manfredini V. Avaliação do padrão citológico e microbiológico detectado pela coloração de Papanicolaou. São Paulo, edição 102, p. 108-118, 2010.
6. Vasconcellos LS, Penido MGG, Vidigal PG. Importância do dismorfismo eritrocitário na investigação da origem da hematuria. J. Bras. Patol. Med. Lab. 2005;41(2):83-94.
7. ABNT - NBR 15 268 Laboratório Clínico - Requisitos e Recomendações para o Exame de Urina, 2007.
8. Arap MAA, Coelho RF. Hematuria. Medicina Net Voxel Informática Ltda, 2009.
9. Castillo CAL, Sánchez OB, Casanova PR, Manso LB, Garay JCS. Eficacia del azul de toluidina y lugol en el diagnóstico precoz del cáncer bucal. AMC v.14 n.4 Camagüey jul.-ago. 2010. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552010000400014&lng=es.
10. Chew DJ, Dibartola SP. Interpretation of Canine and Feline Urinalysis. St Louis: Ralston Purina Company, 1998.
11. Machado MHT, Gonçalves ED, Largura MA, Gonçalves A, Andrade MP, Largura A. Automação do exame de urina: comparação do Urisys 2400 com a rotina manual (Microscopia do Sedimento Urinário). RBAC 2003;35(4):165-7.
12. Silva CHPM, Lins AP, Souza DR, Cruz CSO, Bergamasch GC. Desenvolvimento e utilização de conservante químico em amostras de urina para análises microbiológicas (Urocultura) e rotina (E.A.S.). RBAC. 2005;37(3):137-47.