



MAYARA HIDALGO MAGRI MARTINEZ

**PROPOSTA DE ALGORITMO PARA TRIAGEM E  
INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL DA INFECÇÃO DO TRATO  
URINÁRIO**

**CAMPINAS  
2012**





**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**

**MAYARA HIDALGO MAGRI MARTINEZ**

**PROPOSTA DE ALGORITMO PARA TRIAGEM E  
INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL DA INFECÇÃO DO TRATO  
URINÁRIO**

**Orientadora: Profa. Dra. Célia Regina Garlipp**

**Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos Emilio Levy**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas para obtenção de título de Mestra em Ciências Médicas, área de concentração em Ciências Biomédicas.

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA  
DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA MAYARA  
HIDALGO MAGRI MARTINEZ E ORIENTADA PELA  
PROFA. DRA. CÉLIA REGINA GARLIPP.**

-----  
Assinatura da Orientadora

**CAMPINAS  
2012**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR  
MARISTELLA SOARES DOS SANTOS – CRB8/8402  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
UNICAMP

M366p      Martinez, Mayara Hidalgo Magri, 1984-  
Proposta de algoritmo para triagem e investigação  
laboratorial da infecção do trato urinário / Mayara Hidalgo  
Magri Martinez. -- Campinas, SP : [s.n.], 2012.

Orientador : Célia Regina Garlipp.  
Coorientador : Carlos Emilio Levy.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de  
Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Triagem. 2. Infecção do trato urinário. 3. Urinálise.  
I. Garlipp, Celia Regina, 1953-. II. Levy, Carlos Emilio,  
1949-. III. Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em inglês:** Screening for urinary tract infection by automated urinalysis.

**Palavras-chave em inglês:**

Screening

Urinary tract infection

Automated urinalysis

**Área de concentração:** Ciências Biomédicas

**Titulação:** Mestra em Ciências Médicas

**Banca examinadora:**

Célia Regina Garlipp [Orientador]

Adagmar Andriolo

Angelica Zaninelli Schreiber

**Data da defesa:** 14-12-2012

**Programa de Pós-Graduação:** Ciências Médicas

---

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE  
MESTRADO**

MAYARA HIDALGO MAGRI MARTINEZ (RA: 097143)

---

Orientadora PROFA. DRA. CELIA REGINA GARLIPP

Co-Orientador PROF. DR. CARLOS EMILIO LEVY

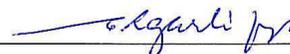
---

---

**Membros:**

---

1. PROFA. DRA. CELIA REGINA GARLIPP



2. PROF. DR. ADAGMAR ANDRIOLO



3. PROFA. DRA. ANGELICA ZANINELLI SCHREIBER



---

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da  
Universidade Estadual de Campinas

---

**Data: 14 de dezembro de 2012**

---



*Dedico este trabalho*

*Aos meus queridos e amados pais, Luiz Antônio e Cristina, pelo  
amor e confiança.*

*Ao meu marido, Celso, pela cumplicidade, pela paciência e  
por tornar tudo possível.*



## AGRADECIMENTOS

---

*A Deus, por tornar meus sonhos realidade.*

*Á minha orientadora Professora Dra. Célia Regina Garlipp, pela confiança, pelo apoio, pela amizade, pelos ensinamentos, tendo uma contribuição extremamente importante e positiva na minha vida acadêmica.*

*Á Dra Paula Virginia Bottini, pelos ensinamentos, confiança, oportunidades, atenção, pela extrema ajuda para tornar tudo possível e pela amizade.*

*Ao meu co-orientador Prof. Dr. Carlos Emilio Levy, por abrir as portas do seu laboratório para a realização de parte dos experimentos.*

*Aos Professores do Departamento de Patologia Clínica da UNICAMP pelos ensinamentos.*

*Aos funcionários do Departamento de Patologia Clínica e do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da UNICAMP.*

*Aos funcionários do Serviço de Arquivo Médico do Hospital de Clínicas da UNICAMP, pela grande ajuda e atenção.*

*Á toda a equipe do Laboratório de Líquidos Biológicos e de Microbiologia, pela paciência, pela ajuda, ensinamentos e pela amizade.*

*Ás amigas Aline, Kelly, Eliane, Maria Rita e Dra Angela pelos momentos de estudo, de risos e acima de tudo pela amizade.*

*Á CAPES pelo financiamento.*

*A todos que de alguma forma colaboraram para a elaboração deste trabalho.*



## RESUMO

---

Infecção do trato urinário (ITU) é muito comum na prática clínica, acometendo pessoas de ambos os sexos em todas as faixas etárias. Para seu diagnóstico é importante definir rapidamente a presença de bacteriúria e piúria bem como a etiologia da doença através da urocultura. A urocultura é o teste microbiológico mais comum na prática laboratorial, embora seja um procedimento demorado e de custo relativamente elevado. Nosso objetivo foi avaliar a aplicação de um sistema automatizado de análise da urina (LabUMat/UriSed) como método de triagem para a investigação de ITU através da comparação de seus resultados com os das uroculturas. Analisamos amostras de urina de pacientes adultos e crianças de ambos os sexos provenientes de ambulatórios e enfermarias do Hospital de Clínicas da UNICAMP encaminhados às Seções de Líquidos Biológicos e Microbiologia da Divisão de Patologia Clínica para análise físico-química, sedimento e urocultura. Foram estabelecidos valores de cortes baseados na comparação dos resultados das uroculturas com os parâmetros urinários: leucócito-esterase, nitrito, leucócitos, bactérias e leveduras, sendo que a positividade de pelo menos um destes parâmetros classificava a amostra para uma triagem positiva para ITU. O estudo foi conduzido em três etapas: Na primeira etapa, a análise de 2126 amostras de urinas permitiu adotar um primeiro valor de corte para os parâmetros analisados: contagem de bactérias  $>11/\text{campo}$ ; contagem de leucócitos  $>5/\text{campo}$ , presença de leveduras além de nitrito e leucócito-esterase positivos. Esses valores foram comparados com os resultados da urocultura em meio CLED e testados na rotina laboratorial. Em uma segunda etapa, com a finalidade de aprimorar o valor de corte dos parâmetros e aumentar o valor preditivo positivo sem comprometer o valor preditivo negativo, estabeleceu-se um novo valor de corte. Para tanto, foram analisadas 2075 amostras de urinas e com os seguintes valores de corte estabelecidos: contagem de bactérias  $\geq 12,5/\text{campo}$ ; contagem de leucócitos  $>5/\text{campo}$ , presença de leveduras e nitrito bem como leucócito-esterase positivo  $\geq 2+$ . Esses valores foram comparados com os resultados das uroculturas em meio CLED e testados na rotina laboratorial. A fim de refinar e validar o teste de

triagem para urocultura foram analisados, em uma terceira etapa, 1379 amostras de urina. Nesta etapa os valores de corte dos parâmetros foram: contagem de bactérias  $>12,5/\text{campo}$ , contagem de leucócitos  $>5/\text{campo}$ , presença de leveduras e leucócito – esterase positivos  $\geq 2+$ . Nesta etapa as amostras cujos parâmetros urinários avaliados estavam abaixo do valor de corte, foram consideradas negativas para ITU e semeadas em meio CLED. As amostras em que pelo menos um dos parâmetros estudados estava acima do valor de corte, foram consideradas positivas, sendo semeadas em meio Chromagar a fim de se identificar presuntivamente os patógenos. O teste mostrou sensibilidade de 97%, valor preditivo negativo de 99%, valor preditivo positivo de 27%, especificidade de 59% e acurácia de 64%. Em todas as etapas observou-se uma potencial redução de 50% nas sementeiras de uroculturas. Os dados sugerem que o sistema automatizado LabUMat / UriSed é uma boa ferramenta para a triagem de ITU, especialmente se considerarmos os dados clínicos dos pacientes.

**Palavras – chave:** triagem, infecção do trato urinário, urinálise.

## ABSTRACT

---

Urinary tract infection (UTI) is very common in clinical practice, affecting people of both genders in all age groups. For the laboratory diagnosis of UTI is of great importance the definition of significant bacteriuria and pyuria and a bacterial culture of a urine sample to establish the etiology of the disease. The quantitative urine culture is the commonest microbiology test in Clinical Pathology Laboratory practice, although it is a very time-consuming and expensive procedure. Our aim was to evaluate the performance of the LabUMat with UriSed System as a screening method for the investigation of UTI comparing its results with the outcome of urine culture. We studied urine samples from children and adults of both genders from outpatients and hospitalized patients from Clinical Hospital / UNICAMP referred to Body Fluids and Microbiology Laboratories at Division of Clinical Pathology for physicochemical analysis, sediment observation and urine culture. We established cut-off values based on the comparison of the outcome of urine cultures with urinary parameters: leukocyte esterase, nitrite and quantitative determination of bacteriuria, leukocyturia and presence of yeasts. A positivity of at least one parameter classified the sample as a positive screening of UTI. This study was conducted in three stages: In the first stage, the analysis of 2,126 urine samples allowed to adopt the first cut-off value for the parameters analyzed: quantification of bacteriuria ( $>11$  elements/hpf), quantification of leukocyturia ( $>5$  cells/hpf), presence of yeasts besides nitrite and leukocyte esterase positive. These values were compared with the outcome of uroculture in CLED agar medium culture and tested in the laboratory routine. In the second stage, in order to improve cut-off values of urinary parameters and increase the positive predictive value without compromising the negative predictive value, it was established a new cut-off value. We analyzed 2,075 urine samples with the following established cut-off values: quantification of bacteriuria ( $\geq 12.5$  elements/hpf) and leukocyturia ( $> 5$  cells/hpf), presence of yeasts, nitrite and leukocyte esterase positive ( $\geq 2+$ ). These values were compared with the outcome of uroculture and tested in the laboratory routine. In order to refine and

validate the screening test for uroculture were analyzed, in a third stage, 1,379 urine samples. In this stage the cutoff values of the parameters were: quantification of bacteriuria ( $>12.5$  elements/hpf) and leukocyturia ( $> 5$  cells/hpf), presence of yeasts and leukocyte esterase positive ( $\geq 2+$ ). In this stage the urinary samples whose evaluated parameters were below the cut-off value were considered negative for UTI and were plated in CLED agar medium culture. Samples which at least one of the parameters evaluated was above the cut-off value, were considered positive, and were plated in Chromagar commercial medium, in order to presumptively identify pathogens. The test showed sensitivity of 97%, negative predictive value of 99%, positive predictive value of 27%, specificity of 59% and accuracy of 64%. In all stages we observed a potential 50% reduction in sowing urocultures. The data suggest that the LabUMat with UriSed System is a good tool for screening for UTI, especially if we consider patients' clinical data.

**Keywords:** screening, urinary tract infection, automated urinalysis.

## LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1: Tela de trabalho após a análise de um exame de urina.....	53
Figura 2: Classificação da partícula leucócito pelo módulo UriSed.....	54
Figura 3: Triagem positiva – amostras encaminhadas para urocultura .....	63
Figura 4: Contagem de colônias em meio CLED .....	63
Figura 5: Curva ROC da etapa 1 .....	66
Figura 6: Gráfico Boxplot – Contagem de bactérias da Etapa 1 .....	67
Figura 7: Gráfico Boxplot – Contagem de leucócitos da Etapa 1 .....	67
Figura 8: Curva ROC da etapa 2 .....	73
Figura 9: Gráfico Boxplot – Contagem de bactérias da Etapa 2 .....	74
Figura 10: Gráfico Boxplot – Contagem de leucócitos da Etapa 2 .....	74
Figura 11: Contagem de colônias em meio Chromagar .....	77
Figura 12: Curva ROC da etapa 3 .....	82
Figura 13: Gráfico Boxplot – Contagem de bactérias da Etapa 3 .....	83
Figura 14: Gráfico Boxplot – Contagem de leucócitos da Etapa 3 .....	83



## LISTA DE TABELAS E QUADROS

---

Quadro 1: Resultados de um teste laboratorial e interpretação em relação à condição do paciente.....	33
Quadro 2: Cálculo da Sensibilidade e da Especificidade.....	34
Tabela 1: Estudo de Carreamento .....	59
Tabela 2: Precisão do UriSed intra-ensaio em relação aos parâmetro hemácias, leucócitos e bactérias.....	59
Tabela 3: Reprodutibilidade do UriSed inter-ensaio em relação aos parâmetros hemácias, leucócitos e bactérias.....	60
Tabela 4: Comparação da Microscopia Óptica com o equipamento LabUMat/UriSed .....	61
Tabela 5: Resultados positivos da urocultura comparados com a avaliação do LabUMat/UriSed na Etapa 1.....	64
Tabela 6: Correlação da Triagem do LabUMat/UriSed com urocultura – Etapa 1 .....	65
Tabela 7: Análise dos parâmetros urinários – Etapa 1 .....	68
Tabela 8: Correlação da Triagem do LabUMat/UriSed com urocultura – Etapa 2 .....	70
Tabela 9: Resultados positivos da urocultura comparados com a avaliação do LabUMat/UriSed na Etapa 2.....	72
Tabela 10: Análise dos parâmetros urinários – Etapa 2 .....	75
Tabela 11: Correlação da Triagem do LabUMat/UriSed com urocultura - Etapa 3 .....	78
Tabela 12: Análise comparativa das etapas do estudo.....	79
Tabela 13: Análise dos parâmetros isolados – Etapa 3.....	80
Tabela 14: Resultados positivos da urocultura comparados com a avaliação do LabUMat/UriSed na Etapa 3.....	81
Tabela 15: Análise dos parâmetros urinários – Etapa 3.....	84



# LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

---

% = por cento

< = menor.

≥ = maior ou igual.

> = maior.

μL = microlitro.

°C = grau Celsius.

**ANVISA** = Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

**CLED** = Cistina Lactose Eletrólito Deficiente

**CLIA** = *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (Alterações de Melhoria do Laboratório Clínico).

**CV** = coeficiente de variação.

**FCM** = Faculdade de Ciências Médicas.

**HC** = Hospital das Clínicas.

**IFCC** = *International Federation of Clinical Chemistry* (Federação Internacional de Química Clínica).

**IFW** = *Instrument Feed Water* (Água de alimentação do instrumento)

**ITU** = Infecção do Trato Urinário.

**IUPAC** = *International Union of Pure and Applied Chemistry* (União Internacional de Química Pura e Aplicada).

**mL** = mililitro



**RDC** = Resolução de Diretoria Colegiada.

**ROC** = *Receiver Operating Characteristics* (Características de Operação do Receptor).

**rpm**= rotações por minuto.

**SAM** = Serviço de Atendimento Médico.

**UFC** = Unidade Formadora de Colônia.

**UNICAMP** = Universidade Estadual de Campinas.

**VPN** = valor preditivo negativo.

**VPP** = valor preditivo positivo.

**WBC**= White blood cells (células brancas do sangue).



# SUMÁRIO

---

RESUMO.....	xxi
ABSTRACT.....	xxiii
LISTA DE FIGURAS.....	xv
LISTA DE TABELAS E QUADROS.....	xvii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xix
1. INTRODUÇÃO.....	25
1.1 História da Urinálise .....	25
1.2 Automação em Urinálise .....	28
1.3 Implantação da Automação.....	29
1.4 Infecção do Trato Urinário.....	34
1.4.1 Infecção urinária na criança.....	37
1.4.2 Infecção urinária na gestante.....	38
1.4.3 Infecção urinária no idoso .....	40
1.5 Tipos de coleta para amostras de urina .....	41
1.5.1 Transporte e conservação das amostras de urina.....	42
1.6 Meios de Cultura.....	43
2. JUSTIFICATIVA.....	45
3. OBJETIVOS.....	47
3.1 Objetivos Gerais .....	47
3.2 Objetivos Específicos .....	47
4. MATERIAS E MÉTODOS.....	48
4.1 Aspectos Éticos .....	48
4.2 Material.....	49
4.3 Método.....	50
4.3.1 Análise pelo equipamento LabUMat/UriSed .....	51
4.3.2 Validação do sistema automatizado LabUMat / UriSed.....	54
4.3.3 Análise Microbiológica.....	55
4.3.4 Análise Estatística .....	56
5. RESULTADOS .....	58
5.1 Validação do equipamento .....	58
5.2 Estabelecimento do algoritmo para triagem de ITU .....	61
6. DISCUSSÃO.....	86
7. CONCLUSÃO.....	94
8. REFERÊNCIAS .....	94
9. ANEXOS.....	106



# 1. INTRODUÇÃO

---

## 1.1 História da Urinálise

As primeiras referências para o estudo da urina podem ser encontradas nos desenhos dos homens das cavernas e em hieróglifos egípcios, como o Edwin Smith Surgical Papyrus e o papiro de Ebers (1). O papiro de Ebers é considerado o documento mais antigo sobre a medicina, datado de 1500 a.C., apresenta uma coleção de diversos textos médicos, onde há uma grande quantidade de informações a respeito de anatomia e de diagnósticos médicos, como por exemplo, a descrição do exame de urina.

As civilizações suméria e babilônica foram as primeiras a reconhecer que as características da urina poderiam ser alteradas com a presença de doenças. Os sânscritos, em 100 a.C., descreveram 20 diferentes tipos de urina. Culturas hindus estavam cientes de que as urinas de algumas pessoas possuíam um gosto adocicado, pois atraíam formigas (2).

No século IV a.C., o médico grego Hipócrates (460-355 a.C.) elaborou a hipótese de que a urina era proveniente do sangue e era filtrada pelos rins (2). A análise da urina foi desenvolvida a partir da “uroscopia”, ou observação de características físicas de amostras de urina. A primeira descrição da utilização da urina para fins de diagnóstico veio com as escritas de Hipócrates (3).

Hipócrates afirmou que a presença de bolhas ou espumas na superfície da urina poderia indicar uma doença renal de longo prazo. De fato, muitas vezes, este quadro é observado em pacientes com doença renal ou com infecção do trato urinário (2,3). Ele também associou a presença do sedimento

urinário e febre e observou que com o aumento do sedimento urinário a febre aumentava. O sedimento observado poderia ser devido à presença de glóbulos brancos e bactérias, caracterizando uma infecção do trato urinário. A presença de sangue na urina foi atribuída à ulceração renal ou da bexiga. Hematúria pode realmente ser devido às ulcerações, embora atualmente sabe-se que pode ser causada por outras condições (2).

Embora Hipócrates e outros pesquisadores não tivessem os procedimentos analíticos sofisticados atualmente disponíveis, eram capazes de obter informações diagnósticas a partir de observações fundamentais como cor, turbidez, odor, volume, viscosidade e mesmo doçura. Essas mesmas características ainda são observadas pelos laboratórios (1).

Bombastus Von Hohenheim, conhecido como Paracelso (1493-1541) insistia em não apenas olhar para a amostra de urina, ele queria obter informações da urina e desenvolveu novos métodos para verificar o que ela continha. Alguns desses métodos se mostraram úteis, como quando ele adicionou vinagre a algumas amostras de urina e verificou a precipitação de proteínas. Assim, iniciou-se o que denominamos atualmente de exame químico da urina (2,3).

A invenção do microscópio, no século XVII, levou ao exame do sedimento urinário e ao desenvolvimento, por Thomas Addis, de métodos para a quantificação dos elementos presentes no sedimento. Richard Bright introduziu o conceito de exame de urina como parte do exame médico de rotina do paciente, em 1827(1).

Helen Murray Free e seu marido Al Free eram pesquisadores químicos que trabalhavam no laboratório da empresa Miles, em Indiana – Estados Unidos. Em 1940 eles e sua equipe aprimoraram o teste de glicose para urina, o qual era feito pelas tiras Clinitest, tornando o exame mais sensível para o diagnóstico de diabetes, pois além de detectar a glicose, também detectava a presença de cetonas (Acetest ®) (4).

Murray assumiu que os analitos presentes na urina poderiam ser detectados em uma tira de papel contendo reagentes que produzissem alterações de cor. Em 1957, foi introduzida a tira Albustix ®, utilizada para o teste da presença de proteína na urina. O desenvolvimento de testes diagnósticos adicionais levou a outro avanço: combinar os reagentes para dois ou mais testes sobre uma mesma tira tendo uma maior conveniência para o utilizador (4).

Para a combinação de dois reagentes em uma tira era necessário a criação de uma barreira impermeável à água entre os reagentes no papel para evitar que os reagentes interagissem entre eles comprometendo os resultados. Uristix ®, lançado em 1957, combinava testes de glicose e proteína. Nos 20 anos que se seguiram, foram desenvolvidos e fabricados reagentes para medir cetonas, sangue, bilirrubina, urobilinogênio, proteína, nitrito, leucócitos urinários, e pH (4).

Em 1981, a empresa acrescentou o teste de gravidade específica na tira reagente de urina, criou-se então a tira reagente Multistix®. O teste da tira de urina tornou-se uma prática padrão para pacientes atendidos em consultórios

médicos, clínicas médicas e hospitais como um indicador inicial de doenças metabólicas, doenças renais e doenças hepáticas (4).

## **1.2 Automação em Urinálise**

O objetivo de um laboratório de urinálise é aumentar a produtividade e fornecer testes de qualidade ao mesmo tempo em que os custos sejam reduzidos e o tempo de trabalho seja mínimo. O desenvolvimento de leitoras de tiras reagentes buscou alcançar esses objetivos que, além de melhorar a discriminação da cor da área reagente, proporcionava aumento da produtividade e padronização dos resultados de urina (4). No começo dos anos 80, a automação no exame de sedimentoscopia da urina foi alcançada com o desenvolvimento dos primeiros analisadores microscópicos (5).

Atualmente, vários instrumentos automatizados estão disponíveis para padronizar o processamento das amostras e a análise das tiras reagentes, executar a análise do sedimento da urina e reportar os resultados com qualidade consistente e reduzido tempo de operação (4,5). Os instrumentos automatizados para análise química e para a análise microscópica da urina podem ser usados como instrumentos isolados ou conjugados formando um sistema automatizado de análise (5).

Outras características incluem capacidade de fazer a interface do computador com o Sistema de Informática do Laboratório; código de barras; entrada manual de resultados de cor; aspectos e resultados do exame microscópico para serem incluídos no relatório impresso; sinalização de

resultados anormais; armazenamento do resultado de pacientes e dos controles; calibração, limpeza e manutenção (4).

Os aparelhos automatizados para o exame de urina incluem (4,5):

- *Instrumentos semi-automatizados:* dependem de um operador para homogeneização da amostra, imersão da tira de teste e para a entrada dos resultados dos exames físicos e microscópicos.
- *Instrumentos bioquímicos totalmente automatizados:* adicionam urina à tira reagente.
- *Analisadores celulares automatizados de urina:* homogeneízam, aspiram, diluem e, se necessário, coram a urina para classificar as partículas do sedimento urinário.
- *Sistemas automatizados integrados:* realizam o exame de urina completo, incluindo todas as partes do exame de rotina, propriedades físicas, químicas e microscópicas.

### **1.3 Implantação da Automação**

O sucesso na implantação de uma nova tecnologia está ancorado em um planejamento minucioso, na aplicação clínica que resultará desta implantação, na condução correta da fase de avaliação do novo sistema analítico, na padronização para seu desenvolvimento, na capacitação dos responsáveis pela sua execução e na ampla divulgação da nova rotina implantada (6,7). O reconhecimento dos interferentes e das limitações de cada

método (falso-positivos e falso-negativos) também é muito importante para o sucesso da implantação da automação laboratorial.

A automação é definida pela IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada), como os esforços para substituir a manipulação humana no desempenho de um dado processo, por dispositivos mecânicos ou instrumentais, que sejam regulados por um sistema de informação capaz de fornecer uma resposta ao aparelho, em termos de automonitoramento ou autoajuste (7).

O desenvolvimento da robótica e da informática trouxe uma evolução ao laboratório clínico sem precedentes. O processo de automação dos laboratórios clínicos permitiu agregar qualidade dos resultados, aumento da produtividade, queda significativa dos custos operacionais e diminuição substancial do tempo de atendimento total (TAT) ou *Turn Around Time* na língua inglesa. Este corresponde ao intervalo de tempo que vai desde a coleta, passando pela fase de processamento da amostra, até a liberação do resultado (6).

Este avanço está sendo aplicado, por exemplo, ao exame de urina tipo I (elementos anormais), indispensável no diagnóstico e monitoramento de doenças renais e urológicas. A análise do sedimento urinário já conta com estações de trabalho contendo microscopia acoplada aos analisadores de imagens, com recursos sofisticados de computação, digitalizando e analisando as imagens de forma objetiva, com uma acurada análise estatística dos dados (7).

A validação de uma nova tecnologia para análises laboratoriais consiste na realização de uma série de experimentos, com a finalidade de documentar o desempenho do método em relação à exatidão, precisão, linearidade, limite de detecção e de quantificação. O intervalo analítico de medidas, estudo de interferentes e a capacitação do profissional no novo sistema, antes de sua implantação na rotina (6).

A análise do desempenho obtida em uma validação permite dimensionar os erros presentes, para determinar com segurança se estes afetam ou não os resultados. Em última análise, permite concluir se a nova metodologia funciona da forma esperada e proporciona o resultado adequado (6). O protocolo de validação inclui estudos de reprodutibilidade, repetibilidade e carreamento.

Em 1984, a Federação Internacional de Química Clínica (IFCC) definiu carreamento (*carryover*) como a influência que uma amostra tem sobre a seguinte (7). Em alguns casos a existência de carreamento não afeta os resultados dos pacientes e também não traz conseqüências clínicas, entretanto, sua presença pode resultar em um erro aleatório, produzindo resultados falsos positivos ou negativos com repercussões clínicas adversas aos pacientes, representando um erro analítico. Para garantir que esta fonte de erro esteja dentro dos limites nos sistemas analíticos, deve-se cumprir um protocolo de inspeções e verificações periódicas de carreamento (6,7). Em 1988, O Congresso Americano aprovou legislação que estabelece padrões de qualidade para todos os testes de laboratório para garantir a precisão, confiabilidade e pontualidade dos resultados dos pacientes, independentemente de onde o teste foi realizado (CLIA88 - *Clinical Laboratory*

*Improvement Amendments*). De acordo com este documento, o erro permitido é de até três desvios padrões (6).

A medida da variabilidade de um resultado de uma amostra pode ser calculada pelo coeficiente de variação (CV), por meio da relação entre o valor do desvio padrão e da média aritmética. Se o coeficiente de variação for menor ou igual a 15% a amostra apresenta uma baixa dispersão (homogênea e estável); se ficar entre 15 e 30% a amostra apresenta uma média dispersão e maior que 30% a amostra apresenta uma alta dispersão (heterogênea) (6).

A precisão e a confiabilidade (repetitividade) dos ensaios são asseguradas pela determinação do CV intra-ensaio que corresponde à realização de 20 determinações (replicatas) de uma mesma amostra na mesma corrida analítica. O CV inter-ensaio (reprodutibilidade) corresponde à variação de valores obtidos em uma mesma amostra em dosagens realizadas em 20 dias diferentes (6).

Um conceito importante diz respeito ao valor preditivo positivo e negativo de um teste. O valor preditivo positivo de um resultado laboratorial é definido como sendo a probabilidade de que um resultado positivo seja verdadeiro, ou seja, representa a doença. Já o valor preditivo negativo refere-se à probabilidade de que um resultado negativo seja verdadeiro (6). Para o cálculo deve-se considerar a sensibilidade e a especificidade do teste com a prevalência da doença no grupo estudado.

O desempenho de um teste é freqüentemente descrito utilizando os termos sensibilidade e especificidade. Idealmente um teste deveria ser 100% sensível e 100% específico, este seria um teste que não teria erros.

Infelizmente esta situação ideal não é possível, pois não existe até o presente momento uma reação que resulte sempre positivo nos casos de doença e sempre negativo nos indivíduos que não têm a doença (6,8).

Considerando que o resultado de um teste somente possa ser expresso, os conceitos de sensibilidade e especificidade podem ser facilmente entendidos a partir de uma relação entre os resultados obtidos e o estado de saúde de um indivíduo portador ou não portador de uma doença, como pode ser observado no Quadro 1 (6).

*Quadro 1: Resultados de um teste laboratorial e interpretação em relação à condição do paciente (6).*

<b>Resultado do teste</b>	<b>Condição do paciente doente</b>	<b>Condição do paciente não doente</b>
Positivo	Verdadeiro Positivo (VP)	Falso Positivo (FP)
Negativo	Falso Negativo (FN)	Verdadeiro Negativo (VN)

Em geral há antagonismo entre sensibilidade e especificidade, pois o aumento da sensibilidade pode aumentar a ação de interferentes induzindo maior frequência de resultados falsos - positivos. Na prática laboratorial buscase um meio-termo onde os testes laboratoriais tenham suficiente sensibilidade, sem muita perda de especificidade. O quadro 2 mostra o cálculo da sensibilidade e da especificidade de um teste (6).

Quadro 2: Cálculo da Sensibilidade e da Especificidade (6)

<b>Característica do teste</b>	<b>Fórmula</b>	<b>Percentual</b>
Sensibilidade	$S = VP / (VP + FN)$	$S\% = S \times 100$
Especificidade	$E = VN / (VN + FP)$	$E\% = E \times 100$

S =sensibilidade; VP = verdadeiro positivo; FN = Falso-negativo; E=especificidade; N=verdadeiro negativo; FP = falso-positivo; % = porcentagem.

## 1.4 Infecção do Trato Urinário

Infecções urinárias podem ser definidas como infecções das estruturas do aparelho urinário: rins, ureteres, bexiga ou uretra; que ocorrem, em geral, em ou como consequência da presença ou colonização de bactérias veiculadas pela urina (9). Essa infecção pode implicar em um comprometimento da bexiga (cistite ou infecção baixa), dos rins (pielonefrite ou infecção alta) ou ambos. Podem ser classificadas como complicadas e não complicadas: uma infecção considerada complicada é quando o aparelho urinário sofre alterações estruturais ou funcionais, este tipo de infecção é observado em pielonefrites, pois em geral resultam da ascensão de micro-organismos do trato urinário baixo e estão freqüentemente associadas com a presença de cálculos renais; habitualmente as cistites são consideradas como infecções não complicadas (10,11).

As infecções urinárias são normalmente causadas por bactérias da microbiota intestinal que colonizam o trato urinário, essas bactérias são encontradas na urina quando se rompe o equilíbrio entre sua virulência e a defesa do organismo. Ocasionalmente essas bactérias podem atingir a corrente sanguínea e causar septicemia (10).

As infecções urinárias constituem uma das mais freqüentes infecções bacterianas no ser humano sendo uma das principais causas de consulta na prática médica, perdendo apenas para as infecções respiratórias (11,12). São extremamente comuns, tanto em infecções hospitalares quanto comunitárias, ocorrendo em todas as idades do neonato ao idoso (13,14).

Os agentes etiológicos mais freqüentes são: *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.* e *Enterococcus faecalis*, sendo que somente *Escherichia coli* é o patógeno responsável por 70% a 85% das infecções do trato urinário (11). Porém, *Staphylococcus coagulase negativa* e leveduras podem se comportar como patógenos oportunistas quando estão diminuídas as defesas do organismo (15).

A infecção do trato urinário baixo (cistite), quando sintomática, exterioriza-se clinicamente pela presença habitual de disúria, urgência miccional, polaciúria, nictúria e dor suprapúbica, febre neste caso não é comum. Por outro lado, a infecção do trato urinário alto (pielonefrite), que habitualmente se inicia com um quadro de cistite, é acompanhada de febre, geralmente superior a 38<sup>0</sup>C, calafrios e dor lombar, uni ou bilateral. Em ambas as situações, a urina pode se apresentar turva (sugerindo presença de piúria) e/ou avermelhada (sugerindo presença de sangue) (11).

Alguns fatores mostraram favorecer o desenvolvimento de ITU complicada: diabetes, neoplasia prostática, hipertensão e longos períodos de permanência em Unidades de Terapia Intensiva (11,15). Alguns autores compilaram outros fatores de complicação como sondas de nefrostomia, cálculos urinários e bexiga neurogênica (16).

Para a Sociedade Brasileira de Infectologia e Brasileira de Urologia, o diagnóstico laboratorial das infecções urinárias se dá através do exame físico-químico, do sedimento da urina e por urocultura (11). No que diz respeito ao exame físico-químico o teste da leucócito-esterase, que é uma enzima presente nos granulócitos, é utilizado para detectar presença de piúria com sensibilidade de 74 a 96% e especificidade de 94 a 98% (15). O teste de nitrito é um teste de triagem rápida para identificar bacteriúria com 39% de sensibilidade e 93% de especificidade. Uma investigação combinada de nitrito com presença microscópica de bacteriúria e/ou piúria faz com que a sensibilidade e a especificidade para diagnóstico laboratorial de infecção urinária, sejam de 71% - 95% e 54% - 86%, respectivamente (17).

Outros estudos mostram que a acurácia do teste de nitrito pode ser afetada por um baixo nível de infecção (organismos produzindo uma pequena quantidade de nitrito) ou o tipo de micro-organismo infectante (organismos que não reduzem nitrato para nitrito) (18).

A presença na urina de células vermelhas ou brancas pode ajudar a diferenciar a localização da infecção. Através da análise do sedimento urinário, observa-se a presença de piúria/leucocitúria, que é definida como a presença de leucócitos na urina em processos inflamatórios ou infecciosos do sistema urinário. Esta condição está presente na maioria dos pacientes com uretrites, cistites e pielonefrites (15,19). Em determinadas situações há somente a presença de leucócitos no sedimento urinário com resultado de urocultura negativa. Isto é observado nos seguintes casos: tuberculose do trato urinário, infecção por clamídia, calculose, febre em crianças, nefrites túbulo-intersticiais, glomerulonefrites proliferativas, rejeição de enxerto renal e processos

inflamatórios para-vesicais (19). A presença de hematúria pode ser observada nas cistites e pielonefrites, e raramente é observada em uretrites (15).

### **1.4.1 Infecção urinária na criança**

A infecção do trato urinário (ITU) é entre a população pediátrica, uma das causas mais freqüentes de doença aguda (20), com prevalência de 5% em crianças febris, e constitui a segunda causa de internação hospitalar nesta faixa etária (21).

Na realidade, deve-se considerar a possibilidade da presença de ITU em todas as crianças com quadro de febre na ausência de um foco infeccioso identificado (22). Em crianças febris com idades compreendidas entre 2 meses e 2 anos, a prevalência de ITU é por volta de 5% (20). Nos primeiros 2 a 3 meses de vida acomete preferencialmente o sexo masculino (22). Após este período as meninas são acometidas por ITU com uma frequência 10 a 20 vezes maior que os meninos (23). Estima-se que 8% das meninas e 2% dos meninos apresentarão, no mínimo, um episódio de ITU.

São fatores de risco para infecção urinária recorrente a presença de má formação urinária e dano renal. Panaretto et al 1999, avaliaram a freqüência de recorrência de ITU em uma população de 261 crianças, com idade inferior a 5 anos, com seguimento de um ano após o diagnóstico de primo-infecção e encontraram 46 episódios de recorrência em 34 crianças sendo que recorrência múltipla ocorreu em 14 destas (24).

Outros estudos avaliaram a associação entre a espécie bacteriana isolada na primo-infecção urinária na infância, em uma urina obtida por punção suprapúbica ou cateterização uretral, e a presença de anormalidades em estudos subseqüentes de imagem. As infecções urinárias foram causadas em cerca de 80% por *Escherichia coli* e o refluxo vesico-uretral (RVU) foi diagnosticado em 30% dessas infecções. Nos pacientes com primo-infecção urinária, causada por *Klebsiella spp.* ou *Enterococcus spp.*, a freqüência de diagnóstico de RVU foi praticamente o dobro, e a necessidade de procedimentos cirúrgicos foi quatro vezes maior do que no grupo com infecções causadas por *Escherichia coli* (25).

Um estudo realizado no serviço de Nefrologia da Santa Casa de São Paulo observou que, das 372 crianças com suspeita de ITU, o diagnóstico foi confirmado em apenas 60% dos pacientes. A análise de 66 casos de "falsa ITU" mostrou que a coleta inadequada de urina para cultura foi a principal causa de erro no diagnóstico (59% dos casos), seguido pela presença de leucócitos com resultados negativos de urocultura (47%). A coleta de urina por jato médio ou saco coletor, em meninas com leucorréia, foi responsável pela contaminação em 23% dos casos de "falsa ITU". A coleta domiciliar de urina, realizada pela própria mãe, também foi importante fator de contaminação da urina e conseqüente "falsa ITU" (26).

#### **1.4.2 Infecção urinária na gestante**

A infecção do trato urinário tem maior probabilidade de ocorrer em mulheres devido às condições anatômicas, em virtude de a sua uretra ser mais

curta que a do homem e mais próxima da área vulvar e perianal, tornando a contaminação mais provável (12,27). Aproximadamente 30% das mulheres apresentarão pelo menos um episódio de ITU no decorrer de suas vidas. Existem outros fatores que aumentam esse risco: episódios prévios de cistite, ato sexual, uso de certas geléias espermicidas, gestação, número de gestações, diabetes e higiene deficiente (11).

Em gestantes, a infecção urinária é ainda mais preocupante quando assintomática, pois justamente por passar despercebida, esta condição pode levar ao parto prematuro do bebê e a hospitalização da gestante. Acomete cerca de 30% a 40% das mulheres grávidas (no primeiro trimestre), que sem tratamento, poderão desenvolver pielonefrites (25% a 57% dos casos) com risco de parto prematuro, e muitas vezes aborto. Além disso, 1% a 2% das grávidas desenvolverão bacteriúria mais tarde durante o curso da gravidez (28).

Nota-se, também, principalmente nas gestantes portadoras de refluxo vesico-ureteral com cicatrizes renais pregressas, maior tendência a surtos de pielonefrite. Existe ainda maior risco de doença hipertensiva específica da gestação (DHGE) e de nascimento de recém-nascidos prematuros ou de baixo peso, os quais apresentarão risco até quatro vezes maior que o habitual de ITU, no período neonatal. Demonstrou-se que esses lactentes, portadores de ITU neonatal, albergam no intestino grosso as mesmas bactérias patogênicas encontradas na microbiota materna (29).

### **1.4.3 Infecção urinária no idoso**

A proporção de pacientes idosos com mais de 65 anos é crescente e doenças relacionadas a esta faixa etária passaram a ter grande interesse médico-social. As infecções do trato urinário são as infecções bacterianas mais comuns em populações idosas e sua freqüência aumenta com a idade, sendo as mulheres as que apresentam maior taxa de hospitalizações por pielonefrites; é responsável também por altas taxas de morbimortalidade (30).

No homem idoso, além da doença prostática (obstrução do fluxo urinário com conseqüente esvaziamento vesical incompleto), a ITU pode ser decorrente de estreitamento uretral e outras anormalidades anatômicas. Na mulher idosa, além da menopausa (ausência de estrógeno facilita a colonização por bactérias, pois este promove o acúmulo de glicogênio pelas células epiteliais, o que favorece o crescimento de lactobacilos que reduzem o pH vaginal tornando-o hostil para bactérias gram-negativas como as enterobactérias). Alterações anátomofuncionais da bexiga relacionadas ou não à multiparidade, como cistocele, o próprio acúmulo de infecções recorrentes, acabam por também aumentar a incidência de ITU nesta faixa etária (23).

É observado também um aumento da incidência se for considerado o tempo de internação prolongado, comum nessa faixa etária, o qual pode associar-se à necessidade de procedimentos invasivos, tais como sondagem vesical de demora, a alta prevalência de incontinência fecal e incontinência urinária (30). O uso de fraldas pode levar a uma colonização polimicrobiana, e em vários casos, ocorre ITU com patógenos não usuais associados à uropatógenos (31).

## 1.5 Tipos de coleta para amostras de urina

A urina na bexiga é um líquido estéril, porém a contaminação ocorre durante a micção através do contato da urina com a microbiota presente na uretra, períneo e vagina. Portanto é muito importante fornecer instruções claras aos pacientes tornando a coleta de amostra mais adequada (32).

A coleta pode ser orientada (após receber as orientações, o paciente é capaz de realizá-la sem necessidade de supervisão direta), supervisionada (envolve a participação de pessoal treinado para acompanhar / auxiliar / realizar a coleta) ou assistida (que requer participação ativa de pessoal treinado / habilitado como é o caso das coletas através de saco coletor, sondagens e punção suprapúbica) (32).

O tipo de coleta mais comumente realizado para amostras de urina e recomendada para exames de rotina é a coleta de micção espontânea (jato médio). Recomenda-se que homens e mulheres façam a higienização da região periuretral antes da coleta da amostra de urina (19, 32, 33).

Especialmente em crianças, a sondagem vesical é muitas vezes necessária para a coleta de urina. A técnica deve ser realizada por pessoas treinadas (profissionais de enfermagem) e com métodos assépticos para evitar o risco de introdução de micro-organismos na urina (32,33).

A punção suprapúbica é um procedimento médico, sendo considerado o método “gold standard” para coleta de amostras de urina (15, 19, 33). Este método é recomendado para o diagnóstico correto de ITU em recém-nascidos e crianças pequenas, quando o resultado de cultura de urina obtido por outros

métodos são difíceis de interpretar ou quando há a suspeita de infecção causada por bactérias anaeróbicas (32).

A coleta por saco coletor é realizada principalmente para amostras de crianças pequenas, quando se quer descartar ITU, antes de usar métodos mais invasivos. Culturas negativas fornecem informações de diagnóstico útil, mas a análise de um significativo crescimento (contaminação ou resultados falsos-positivos) deve ser confirmado com aspirado suprapúbico ou cateterismo (15,19,32).

Pacientes com urostomias necessitam de procedimentos especiais para coleta de urina. A urostomia é a criação cirúrgica de uma abertura artificial (estoma) dos condutos urinários na parede abdominal. As urostomias cutâneas são as mais comuns e incluem as cistostomias / vesicostomias (comunicação entre a bexiga e o meio exterior), ureterostomias (comunicação entre o ureter e o meio exterior) e nefrostomia (comunicação entre a pelve ou cálice renal e o meio exterior). Nestes casos a urina pode ser coletada através sondagem da própria urostomia ou com uso de sacos coletores caso haja diurese espontânea (19,32).

### **1.5.1 Transporte e conservação das amostras de urina**

O transporte das amostras de urina deve ser realizado o mais rápido possível, se não puder ser enviado nas primeiras 2 horas após a coleta, a amostra é recolhida e armazenada a 4°C por até 24 horas, e nunca deve ser congelada (15,32).

Se as amostras não puderem ser armazenadas em geladeiras e o transporte não acontecer em até 2 horas, pode ser utilizado um tubo de transporte com conservante contendo 0,5mL de ácido bórico ou ácido bórico sódico liofilizado (15, 19, 32). Os tubos devem ser preenchidos com pelo menos 3mL de urina para evitar um efeito inibidor sobre os micro-organismos. A partir do momento que as amostras foram processadas, elas podem permanecer refrigeradas por até 48 horas, caso seja necessária posterior confirmação (32).

## 1.6 Meios de Cultura

A urocultura é o cultivo de urina para verificar a presença de micro-organismos, mais particularmente bactérias, localizados na urina, uretra e nos rins. Bacteriúria é considerada por muitos clínicos como sendo um marcador definitivo para ITU. Estudos feitos nos anos 50 observaram que uma contagem de  $10^5$  UFC por mL de urina era indicativo de ITU (18,19). A valorização dos sintomas de ITU deve prevalecer e, portanto nos casos sintomáticos, contagens de  $10^4$  UFC/mL ou até menores, podem sugerir ITU (19,35).

Os meios de cultura rotineiramente utilizados para auxiliar no diagnóstico dos uropatógenos podem ser divididos:

- *Meios seletivos*: Meios de cultura que possibilitam o crescimento de enterobactérias ( ágar sangue e meio MacConkey) (19, 32, 33);
- *Meios diferenciais*: Meios adaptados para identificação de micro-organismos causadores de ITU (meio CLED) (19, 32, 33);

- *Meios diferenciais não seletivos*: Meios de cultura que contém vários substratos permitindo a identificação presuntiva de muitos uropatógenos através da mudança de pigmentação de cada colônia ou da coloração do ágar (meio Chromagar). Isso se deve a degradação de enzimas bacterianas específicas. Sua efetividade é satisfatória se compararmos com o meio CLED, além disso, tem a vantagem de detectar facilmente colônias mistas (19, 32, 34).

Tem sido possível observar, na maioria dos laboratórios clínicos, que uroculturas com crescimento polimicrobiano são tratadas como contaminações. É evidente que a contaminação de amostras ainda é algo muito comum, até pela falta de informação dada ao paciente em qualquer serviço, seja hospitalar ou ambulatorial. Apesar de as infecções urinárias polimicrobianas não serem muito comuns, porém não são raras, especialmente quando se trata de pacientes em situações específicas, como por exemplo, pielonefrite, prostatite e cateterismo urinário, nas quais a incidência aumenta consideravelmente (36).

## 2. JUSTIFICATIVA

---

A infecção do trato urinário pode acometer pessoas de ambos os sexos e em qualquer faixa etária, mas alguns indivíduos possuem maior suscetibilidade a essa patologia: crianças e idosos, podendo também associar-se com o período gestacional (11, 15, 16, 19, 32). É considerada a segunda maior causa de consultas médicas no mundo, sendo que só nos Estados Unidos é responsável por cerca de 5,5 a 7 milhões de consultas médicas anuais, resultando em um custo de aproximadamente 1 bilhão de dólares por ano (37).

Também no Brasil, o número de pacientes com infecção do trato urinário é bastante relevante onde um número significativo de consultas clínicas deve-se a esta infecção. A ocorrência do patógeno causador de ITU pode variar e o perfil de suscetibilidade requer monitoramento para fornecer informações para novas orientações de opções terapêuticas (38). Uma das principais preocupações quanto ao uso de medicamentos está relacionada à utilização indiscriminada de antimicrobianos. O aumento da resistência bacteriana a vários agentes antimicrobianos acarreta dificuldades no controle de infecções e contribui para o aumento dos custos do sistema de saúde e dos próprios hospitais. Na maioria dos casos, os profissionais da saúde prescrevem antimicrobianos antes do resultado da urocultura, simplesmente com base nos dados epidemiológicos que citam a *Escherichia coli* como o principal agente etiológico de ITU (39,40).

A urocultura é considerada o padrão ouro do diagnóstico de ITU e importante para guiar a terapia antibiótica. Dada a sua importância no diagnóstico etiológico da ITU, é o teste microbiológico mais comum na prática laboratorial, embora seja um procedimento demorado e de custo relativamente elevado. Vários testes de triagem foram concebidos para o diagnóstico rápido da ITU. Para que tenham impacto clínico, as triagens rápidas de urina devem proporcionar resultados imediatos a fim de melhorar o atendimento aos pacientes, fornecendo um diagnóstico presuntivo e reduzindo o uso empírico de antibióticos.

## **3. OBJETIVOS**

---

### **3.1 Objetivos Gerais**

O objetivo do estudo foi avaliar a aplicação do sistema automatizado LabUMat/UriSed como método de triagem para a investigação de infecção no trato urinário.

### **3.2 Objetivos Específicos**

1. Validar um método automatizado baseado em análise digital de imagens para realização da análise dos elementos figurados presentes no sedimento urinário;

1.1. Comparar os resultados da metodologia automatizada com os resultados da metodologia manual (microscopia óptica).

1.2. Calcular o coeficiente de variação intra e inter-ensaio do equipamento LabUMat/UriSed.

2. Validar a aplicação da urinálise automatizada como método de triagem para infecção do trato urinário;

2.1. Selecionar um conjunto de parâmetros urinários e estabelecer valores de corte significativos para infecção do trato urinário;

2.2. Comparar os parâmetros selecionados com os resultados das uroculturas.

## 4. MATERIAS E MÉTODOS

---

### 4.1 Aspectos Éticos

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, com protocolo número 402/2010 (CAAE: 0302.0.146.000-10) (Anexo 1).

Como este estudo teve o objetivo de avaliar o desempenho de um sistema integrado de automação urinária ( exames físico-químico e sedimento) baseado na captura e reconhecimento de imagens não foram solicitados procedimentos e/ou amostras adicionais para nenhum paciente, como também não houve nenhum contato dos pesquisadores com qualquer paciente. O material utilizado foi aquele enviado para realização da análise laboratorial solicitada pelo médico responsável pelo paciente. Vale ressaltar que todas as técnicas descritas no projeto fazem parte da rotina do diagnóstico laboratorial de infecção urinária, não tendo sido necessária a realização de nenhuma metodologia adicional. Após a emissão do laudo final dos exames as amostras foram descartadas de acordo com a RDC 306/04 (41) e a RDC 302/05 (42), resoluções da ANVISA, que dispõem sobre Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde e Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos, respectivamente. O descarte de material biológico de acordo com essas RDCs já é um procedimento de rotina dentro dos Laboratórios da Divisão de Patologia Clínica do HC/UNICAMP.

Os dados sobre uma possível patologia de base dos pacientes analisados foram obtidos através de prontuários consultados no SAM. Todos os dados observados foram mantidos sob sigilo absoluto.

### ***DISPENSA DO TERMO DE CONSENTIMENTO***

Como a pesquisa não envolvia o contato direto com os pacientes tampouco modificações de tratamento, diagnósticos e/ou a necessidade de procedimentos adicionais para os sujeitos envolvidos, solicitou-se ao Comitê de Ética e Pesquisa da FCM - UNICAMP a dispensa da apresentação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

## **4.2 Material**

### ***DESENHO DO ESTUDO:***

O estudo foi realizado no período de agosto de 2010 a julho de 2012:

- validação do equipamento LabUMat/UriSed;
- escolha dos parâmetros urinários para estabelecer um algoritmo para triagem de ITU;
- selecionar as amostras de pacientes;
- análise automatizada da urina;
- semeadura das amostras em meio CLED;
- comparação dos resultados (Padrão Ouro e Automação);
- proposta de um algoritmo para triagem de ITU.

Para a validação do equipamento automatizado LabUMat / UriSed foram avaliadas 400 amostras de urina de pacientes (262 amostras do sexo feminino e 138 amostras do sexo masculino) de ambulatórios e enfermarias do Hospital de Clínicas da UNICAMP. A idade variou de 2 a 91 anos (mediana = 41 anos).

Para o estabelecimento do algoritmo para triagem de infecção do trato urinário foram analisadas 5.580 amostras de urina (jato médio após assepsia) de pacientes adultos e crianças com uma ampla faixa etária, de ambos os sexos, provenientes de ambulatórios e enfermarias do Hospital de Clínicas da UNICAMP. As amostras de urina foram encaminhadas à Divisão de Patologia Clínica do HC/UNICAMP para as análises: físico-química, do sedimento urinário (realizadas na seção de Líquidos Biológicos) e urocultura (realizada na seção de Microbiologia Clínica).

***Critérios de Inclusão:***

Amostras de urina com solicitações médicas para os exames de Urina I e Urocultura.

***Critérios de Exclusão:***

Materiais insuficientes para análise e pacientes sem solicitação médica para o exame de urocultura.

### **4.3 Método**

O trabalho consistiu na comparação de resultados das análises de rotina realizadas no sistema LabUMat/UriSed (sistema automatizado para análise de

urina) com os resultados das uroculturas cujas amostras de urina foram semeadas de forma quantitativa em meio CLED.

Comparou-se os parâmetros nitrito (reação de Griess), leucócito-esterase (atividade de esterase de granulócitos), contagem de leucócitos, contagem de bactérias e contagem de leveduras com os resultados das uroculturas a fim de se estabelecer um algoritmo que permitisse um diagnóstico presuntivo de ITU. O estudo foi realizado em 3 etapas distintas a fim aumentar a sensibilidade e o valor preditivo negativo do algoritmo. Os dados clínicos dos pacientes foram obtidos através dos seus prontuários arquivados no Serviço de Arquivo Médico (SAM) do Hospital de Clínicas da UNICAMP.

#### **4.3.1 Análise pelo equipamento LabUMat/UriSed**

Todas as amostras foram testadas utilizando o sistema automatizado LabUMat / UriSed (77 Elektronika Kft, Budapeste, Hungria) que consiste de dois analisadores integrados: LabUMat e UriSed.

LabUMat é um analisador automatizado de tiras reagentes de fácil operação. O operador insere as tiras do fabricante no equipamento (LabStrip U11Plus) em uma bandeja do prendedor de tiras e coloca o suporte com tubos de teste com amostras de urinas na unidade de agitação do suporte. O restante do processo é realizado pelo instrumento. As tiras caminham na esteira movimentada por cilindros. Após a introdução na amostra e avaliação, elas são jogadas no cesto de lixo na parte lateral interna do instrumento. O LabUMat trabalha pelo método de fotometria de reflexão. O interior do leitor de tiras é iluminado com luz branca e a luz refletida da tira é detectada por um sensor de cor. Uma imagem digitalizada é processada por um programa interno que

localiza as amostras e então com base na informação da onda de luz refletida, são calculados os valores de parâmetros de componentes da urina, como resultado da avaliação. Este analisador pode armazenar até 10.000 registros (43, 44, 47).

O UriSed é um analisador automático para análise de sedimento urinário, que possui um software de processamento de imagem com identificação e classificação de até 15 diferentes partículas. As partículas detectadas na urina são: Hemácias (RBC), Leucócitos (WBC), Cilindro Hialino (HYA), Cilindro Patológico (PAT), Células de Epitélio Escamoso (EPI), Pequenas Células Redondas (SRC), Bactérias (BAC), Leveduras (YEA), Cristais (CRY), Monohidrato de Oxalato de Cálcio (CaOxm), Dihidrato de Oxalato de Cálcio (CaOxd), Ácido Úrico (URI), Fosfato Triplo (TRI), Muco (MUC) e Espermatozóides (SPMR). Outras partículas podem ser identificadas pelo usuário, pois as imagens obtidas são muito próximas as de um microscópio. Através de uma pipeta o UriSed homogeneiza a amostra (volume mínimo de 2,0mL de urina) e aspira 0,2mL que são transferidos para as cuvetas descartáveis. Tanto a parte externa quanto a parte interna da pipeta são lavadas com água tipo IFW (*Instrument Feed Water*). As cuvetas que contêm as amostras de urina em seu interior são transferidas para uma centrífuga localizada no interior do equipamento, onde são centrifugadas em 2000 rpm por 10 segundos. A cuveta contendo a amostra é colocada na posição de microscopia, a câmera interna ajusta o foco e a imagem é obtida. A cuveta é movida para a próxima posição de microscopia e paralelamente a câmera é novamente focada, isso ocorre em número pré-definido de vezes, obtendo-se 15 imagens. A avaliação das imagens é baseada em tecnologia de rede neural, comparando-as com o banco de imagens presentes no

instrumento. Após este procedimento as imagens são arquivadas e avaliadas por um software específico sendo exibidos as imagens e os resultados, expressos em número de elementos por campo. Os dados são enviados para um computador acoplado ao sistema e a cuveta utilizada é descartada (43, 45, 46, 47).

A figura 1 mostra um exemplo de uma tela de trabalho após a análise da urina realizada pelos módulos LabUMat e UriSed em conjunto.

Urised - Automatic Urine Sediment Analyzer v1.6

SAMPLE LIST: 180 samples with filter

SELECTED SAMPLE

DATE : 8/31/2010 12:41:25 PM  
 ID : 114/31  
 NAME :  
 COMMENT :  
 DILUTION : 1.0

cell	category	p/HPF	N°	PAD	Arbitr
RBC	-	2.50	1.67	SG.	1.030
WBC	++++	110.00	73.33	PH	6
CRY	-	0.20	0.13	LEV	++
CRY	-	0.00	0.00	MIT	+
CaOxd	-	0.00	0.00	PRO	neg
TRI	-	0.20	0.13	GLU	norm
URI	-	0.00	0.00	KET	neg
AMO	-	0.00	0.00	UBG	norm
HYA	-	0.00	0.00	BLI	neg
PAT	-	0.00	0.00	BLD	+++
EPI	++	2.81	1.87	ASC	neg
YEA	-	0.00	0.00		
BAC	+++	112.69	75.13		
MUC	++	62.40	41.60		

IMAGE LIST: 15 Images

Image	Crowded	Checked	Modified	Valid
114/31/01	no	yes	no	<input checked="" type="checkbox"/>
114/31/02	no	yes	no	<input checked="" type="checkbox"/>
114/31/03	no	yes	no	<input checked="" type="checkbox"/>
114/31/04	no	yes	no	<input checked="" type="checkbox"/>
114/31/05	no	yes	no	<input checked="" type="checkbox"/>
114/31/06	no	yes	no	<input checked="" type="checkbox"/>
114/31/07	no	yes	no	<input checked="" type="checkbox"/>
114/31/08	no	yes	no	<input checked="" type="checkbox"/>
114/31/09	no	yes	no	<input checked="" type="checkbox"/>
114/31/10	no	yes	no	<input checked="" type="checkbox"/>
114/31/11	no	yes	no	<input checked="" type="checkbox"/>

SELECT ALL DELETE MODIFY FILTER ON GALLERY FULL EVAL COMMENT WORKLIST EXPORT TRANSFER PRINT EXIT

Online Labumat Offline Operator Classes: 13 Recognition threads: waiting 0 Waste bin: 169 8/31/2010 2:15:03 PM

Figura 1: Tela de trabalho após a análise de um exame de urina (46).

A figura 2 mostra como é exibida a análise do sedimento urinário pelo módulo UriSed através do processamento de imagens, com a identificação e

classificação de partículas encontradas na urina. Neste caso, a imagem mostra a classificação da partícula leucócito (WBC). Esta classificação automática pode ser revista e editada manualmente pelo analista.

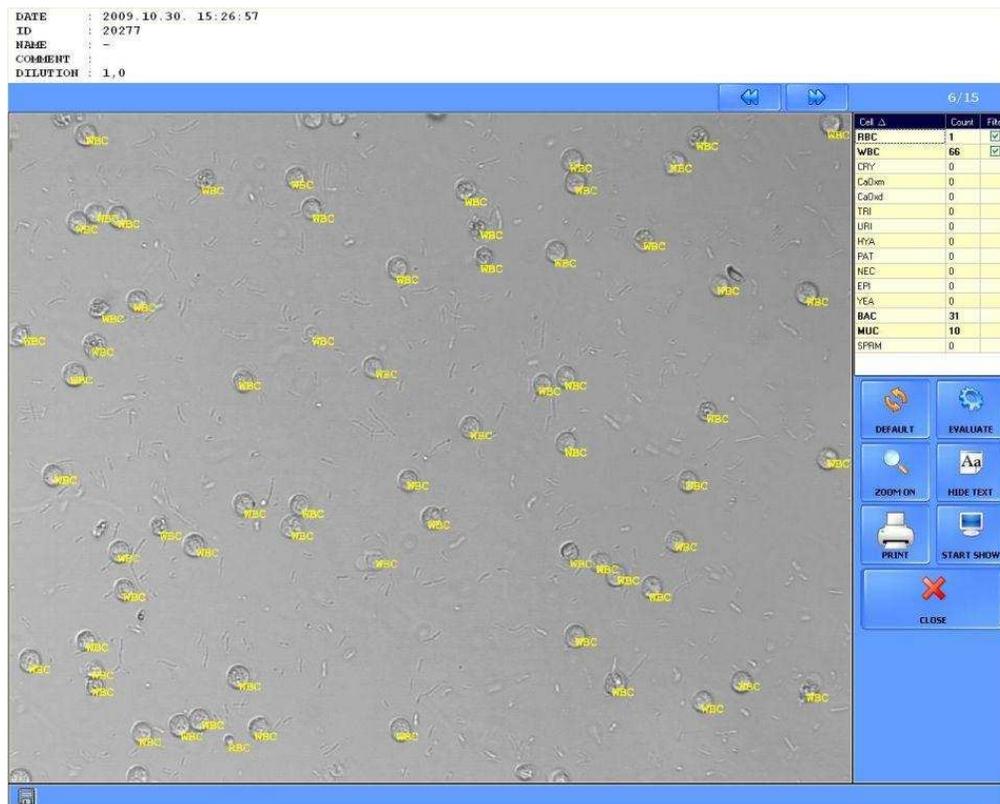


Figura 2: Classificação da partícula leucócito pelo módulo UriSed (46).

### 4.3.2 Validação do sistema automatizado LabUMat / UriSed

Como o estudo foi baseado na avaliação de um método automatizado (LabUMat / UriSed) para a triagem de urocultura, se fez necessário, primeiramente, validar o mesmo. A validação teve como finalidade documentar o desempenho do equipamento em relação à exatidão, precisão e intervalo analítico e permitiu concluir que este equipamento funciona da forma esperada

proporcionando resultados adequados. Para tanto foram realizados estudos de carregamento, precisão, reprodutibilidade (anexos 2, 3 e 4) e comparação com a microscopia ótica comum.

### **4.3.3 Análise Microbiológica**

A escolha dos meios de cultura para a análise da urina, bem como o modelo de semeadura, a incubação da amostra em estufa e a análise do crescimento bacteriano foram realizados de acordo com os critérios estabelecidos pelo Cumitech 2 - Diagnóstico Laboratorial das Infecções do Trato Urinário (15,16), pelo Termo da ANVISA: Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos (48) e pelas normas da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas – Laboratório Clínico) (49). Foram utilizados meios de cultura apropriados para os patógenos habitualmente pesquisados na urina.

A cultura quantitativa de amostras de urina consistiu na inoculação de 10 $\mu$ L de urina sobre o meio de cultura comercial CLED em placa de Petri utilizando uma alça calibrada. Após a semeadura, as placas contendo a amostra de urina, foram incubadas em estufa por 24 horas à 37<sup>0</sup>C. O número de colônias foi contado e multiplicado por 10<sup>2</sup> para calcular o número de organismos por mililitro de urina. Neste estudo, um crescimento maior ou igual a 10<sup>3</sup> UFC/mL foi considerado como significativo. De acordo com o Cumitech bacteriúria significativa corresponde a uma contagem de bactérias  $\geq 10^4$  UFC/mL para testes de triagem para ITU. Devido às características peculiares dos pacientes analisados, neste estudo optamos por utilizar uma contagem de bactérias inferior ao padronizado.

Para uma análise presuntiva dos uropatógenos, utilizou-se em uma terceira etapa do estudo, o meio comercial Chromagar. Este meio já foi padronizado para a utilização do diagnóstico de infecção do trato urinário e o modo de semeadura e interpretação do crescimento bacteriano em meio Chromagar, é o mesmo do meio de cultura comercial CLED (19, 32,34, 50).

Os testes de suscetibilidade e de identificação das bactérias em cultura positiva foram realizados pelo sistema Vitek II (BiolabMerieux).

#### **4.3.4 Análise Estatística**

Nas três etapas do projeto, foi utilizada a curva ROC (curva de Características de Operação do Receptor) para a análise dos parâmetros urinários a fim de se identificar presuntivamente a ITU. Através do cálculo da área da curva ROC foi possível compreender os parâmetros que possuíam melhor desempenho em cada etapa. O padrão ouro utilizado no estudo foi a urocultura em meio CLED.

Foi utilizado o Teste t de Student para comparar os resultados dos parâmetros urinários com os resultados da urocultura em meio CLED. O valor de  $p < 0,05$  foi aceito como clinicamente significativo para os parâmetros analisados.

Outro importante recurso utilizado foi o gráfico Boxplot capaz de demonstrar a diferença na distribuição dos valores obtidos entre as amostras negativas e positivas. A diferença na distribuição dos valores classificados como positivos e negativos evidencia a correlação existente entre os parâmetros do algoritmo e o padrão ouro.

De forma complementar ao uso da curva ROC, foram calculados os valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia (tabela 2x2, qui-quadrado). Foi possível notar que o ajuste dos valores de corte afetou positivamente o desempenho do algoritmo.

A análise estatística utilizou os softwares SPSS® versão 17 e Microsoft Office Excel®.

## 5. RESULTADOS

---

### 5.1 Validação do equipamento

A primeira etapa da validação consistiu no estudo de carreamento (*carryover*) com o objetivo de verificar a possível contaminação entre amostras de concentrações diferentes no sistema automatizado LabUMat / UriSed. Vale lembrar que o carreamento pode ser responsável por um erro aleatório.

O teste de carreamento foi realizado e interpretado de acordo com as normas da CLIA (6). Os anexos 2 e 3 mostram o protocolo do teste de carreamento executado na Seção de Líquidos Biológicos da Divisão de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da UNICAMP.

O cálculo é feito a partir das médias das concentrações de todas as amostras baixas analisadas após uma amostra baixa (B-B) e a média das concentrações de amostras baixas após uma amostra alta (A-B). De acordo com as normas da CLIA, o erro permitido é de até 3 desvios padrões das concentrações B-B (6).

A tabela 1 mostra o teste de carreamento realizado no equipamento LabUMat / UriSed para verificar uma possível contaminação entre as análises das amostras. Os parâmetros analisados foram: hemácias, leucócitos, leveduras e bactérias. É possível observar que o teste foi aprovado para todos os parâmetros, ou seja, não há carreamento de partículas entre amostras. Esse resultado era esperado, pois o equipamento utiliza para sua análise cuvetas individuais.

**Tabela 1: Estudo de Carreamento**

<b>PARÂMETROS AVALIADOS</b>				
	<b>Hemácias</b>	<b>Leucócitos</b>	<b>Leveduras</b>	<b>Bactérias</b>
Carreamento	-0,1	-1,24	-0,02	-0,24
Limite de aceitação	0,822	2,868	0,915	1,272

Foi realizado o teste de coeficiente de variação cujo objetivo foi verificar a medida de dispersão, ou seja, verificar se há imprecisão dos dados fornecidos pelo sistema automatizado LabUMat / UriSed. O teste de coeficiente de variação foi realizado e interpretado de acordo com as normas laboratoriais para testes de triagem (6). Os anexos 4 e 5 mostram, respectivamente, os protocolos dos testes de coeficiente de variação intra-ensaio e inter-ensaio. Esses testes foram executados na Seção de Líquidos Biológicos da Divisão de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas da UNICAMP.

A tabela 2 mostra o teste de coeficiente intra-ensaio para os parâmetros hemácias, leucócitos e bactérias para contagens baixas e altas.

**Tabela 2: Precisão do UriSed intra-ensaio em relação aos parâmetros hemácias, leucócitos e bactérias**

<b>Valores obtidos</b>	<b>Parâmetros</b>					
	<b>Hemácias *</b>		<b>Leucócitos *</b>		<b>Bactérias*</b>	
	<b>baixo</b>	<b>alto</b>	<b>baixo</b>	<b>alto</b>	<b>baixo</b>	<b>alto</b>
<b>Média</b>	25,7	189,2	11,7	64,7	23,2	87,2
<b>DP</b>	2	5,9	1,2	6,9	2,3	13
<b>CV (%)</b>	8	3	10	11	10	15
<b>Mínimo</b>	20,6	182	9	56,4	17,4	62,5
<b>Máximo</b>	28,8	202,9	13,7	82,9	28,8	117,8

\*contagem/campo, DP = Desvio-padrão, CV = coeficiente de variação.

De acordo com as normas laboratoriais (6), é possível observar que todos os parâmetros propostos para a análise apresentaram um coeficiente intra-ensaio aceitáveis, ou seja, demonstra uma baixa dispersão bem como uma elevada precisão do sistema analítico para a dosagem desses parâmetros.

A tabela 3 mostra o teste de coeficiente inter-ensaio para os parâmetros hemácias, leucócitos e bactérias para contagens baixas e altas.

**Tabela 3: Reprodutibilidade do UriSed inter-ensaio em relação aos parâmetros hemácias, leucócitos e bactérias**

Valores obtidos	Parâmetros					
	Hemácias *		Leucócitos *		Bactérias*	
	baixo	alto	baixo	alto	baixo	alto
<b>Média</b>	9,9	95,8	16,1	79,9	49,2	169,8
<b>DP</b>	2	7,7	2,4	10,6	8	26,2
<b>CV (%)</b>	20	8	15	13	16	15
<b>Mínimo</b>	7	79,6	12,6	56,8	32,3	135,3
<b>Máximo</b>	13,5	110	20,2	96,6	64,7	249,5

\*contagem/campo, DP = Desvio-padrão, CV = coeficiente de variação.

De acordo com as normas laboratoriais (6), é possível observar que todos os parâmetros apresentaram um coeficiente inter-ensaio aceitáveis, ou seja, há uma reprodutibilidade aceitável do sistema analítico para a dosagem desses parâmetros.

Foi realizada uma comparação entre a microscopia urinária manual e a microscopia urinária realizada no sistema automatizado LabUMat / UriSed. A tabela 4 mostra os valores de alguns parâmetros: hemácias, leucócitos, cilindros, cristais e bactérias em relação aos valores de concordância, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo.

**Tabela 4: Comparação da Microscopia Óptica com o equipamento LabUMat / UriSed**

	<b>Hemácias</b>	<b>Leucócitos</b>	<b>Cilindros</b>	<b>Cristais</b>	<b>Bactérias</b>
<b>Sensibilidade (%)</b>	74.6	72.0	25.8	100.0	69.4
<b>Especificidade (%)</b>	98.8	97.6	98.8	100.0	85.0
<b>VPP (%)</b>	94.0	93.5	81.0	100.0	68.8
<b>VPN (%)</b>	95.9	92.0	87.0	100.0	86.2
<b>Concordância (%)</b>	95.0	91.2	86.6	100.0	80.1
<b><math>\chi^2</math></b>	269.812	242.585	245.834	397.000	120.247
<b>p</b>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

VPP= valor preditivo positivo; VPN = valor preditivo negativo.

É possível observar alta correlação para a contagem de hemácias e leucócitos, em ambos os métodos. Há uma baixa sensibilidade observada na análise dos cilindros, isso pode ser devido à diferença da contagem entre microscópio (realizada em todos os campos entre lâmina e lamínula) e a contagem padrão do módulo UriSed (realizada em 15 campos). Por outro lado, o analisador detectou todos os cristais mais comuns que aparecem na rotina do exame de urina.

## **5.2 Estabelecimento do algoritmo para triagem de ITU**

Para o estabelecimento de algoritmo para a triagem de ITU, foram analisados os seguintes parâmetros urinários: nitrito, leucócito-esterase, contagem de leucócitos, contagem de bactérias e presença de leveduras. A

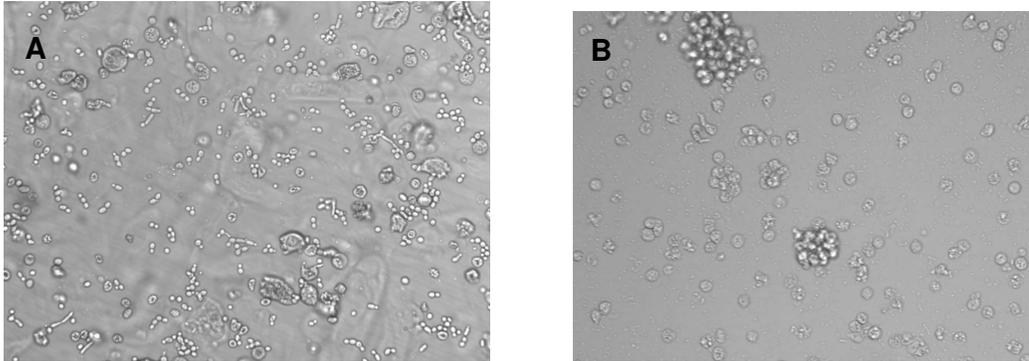
escolha dos parâmetros foi feita baseada em estudos similares que utilizaram os mesmos parâmetros como teste de triagem para o exame de urina (51, 52, 53, 54, 55).

### **1ª etapa:**

Após o processo inicial de validação do sistema analítico, foram estudadas retrospectivamente 2126 amostras de urina (jato médio após assepsia) de pacientes com idades de 1 a 93 anos (média: 42,5 anos, desvio padrão: 20,5 anos e mediana: 43 anos). Foram analisadas 1372 amostras de urina de pacientes do sexo feminino e 754 amostras de urina do sexo masculino. Os pacientes do estudo eram provenientes de ambulatórios (n=1798) e enfermarias (n=328) do Hospital de Clínicas da UNICAMP. As amostras de urina foram submetidas à análise físico-química e do sedimento através do equipamento automatizado (LabUMat/UriSed) e à cultura quantitativa em meio CLED.

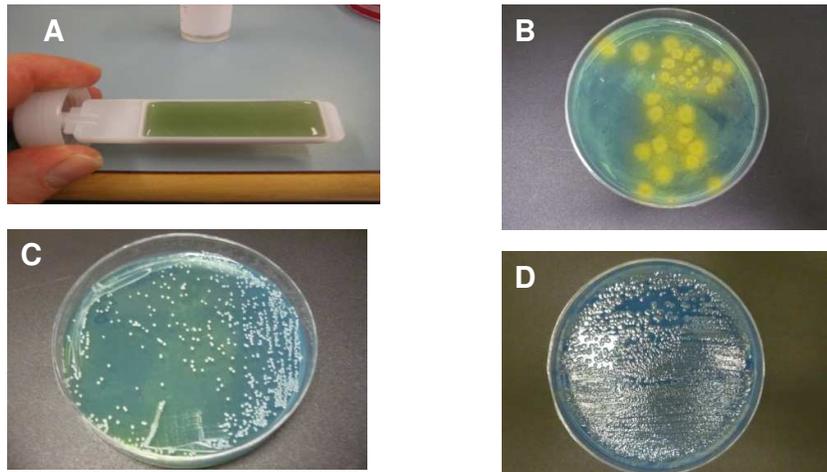
Nesta primeira etapa, para um diagnóstico presuntivo de ITU, foram considerados os seguintes parâmetros urinários: contagem de bactérias >11/campo, contagem de leucócitos >5/campo, presença de leveduras além de nitrito e leucócito-esterase positivos. A positividade de pelo menos um destes critérios classificava a amostra como “triagem positiva”.

Na figura 3, é possível observar o perfil das amostras encaminhadas para urocultura na Seção de Microbiologia Clínica. As imagens correspondem às amostras de urina obtidas pelo módulo UriSed e consideradas positivas para a triagem de ITU.



*Figura 3: Triagem positiva – amostras encaminhadas para urocultura: (A= presença de leveduras e leucócitos; B = presença de bactérias e leucócitos).*

A contagem de colônias foi feita na superfície do meio CLED, as amostras consideradas positivas apresentavam uma quantificação  $\geq 10^3$  UFC/mL de urina em cultura pura. A figura 4 mostra a contagem de colônias realizadas na superfície do meio CLED.



*Figura 4: Contagem de colônias em meio CLED*

*A:  $< 10^2$  UFC/ml (negativo); B:  $10^3$  UFC/ml; C:  $10^4$  UFC / ml; D:  $> 10^5$  UFC/ml.*

A incidência de uroculturas positivas nesta etapa foi de 15% (n = 318). A tabela 5 mostra todos os micro-organismos isolados das amostras de urina submetidas à análise automatizada. É possível observar, separadamente, os micro-organismos isolados em amostras classificadas como positivas e negativas pelo equipamento automatizado LabUMat/UriSed.

Tabela 5: Resultados positivos da urocultura comparados com a avaliação do LabUMat/UriSed na Etapa 1.

AVALIAÇÃO LABUMAT/ URISED (n = 318)				
MICRO-ORGANISMOS ISOLADOS EM CULTURA	POSITIVOS (n = 287)		NEGATIVOS (n = 31)	
	N	%	N	%
<b>GRAM POSITIVOS</b>				
<i>Enterococcus spp.</i>	4	1,4	1	3,2
<i>Staphylococcus spp.</i>	7	2,4	1	3,2
<i>Streptococcus spp.</i>	1	0,3	-	-
<b>GRAM NEGATIVOS</b>				
<i>Acinetobacter spp.</i>	6	2,1	1	3,2
<i>Citrobacter spp.</i>	6	2,1	1	3,2
<i>Escherichia coli</i>	155	54	9	29
<i>Enterobacter spp.</i>	6	2,1	2	6,4
<i>Klebsiella spp.</i>	34	12	2	6,4
<i>Morganella spp.</i>	-	-	1	3,2
<i>Proteus spp.</i>	11	4	2	6,4
<i>Pseudomonas spp.</i>	10	3,5	3	9,7
<b>FUNGOS</b>				
<i>Candida spp.</i>	2	0,7	-	-
<i>Trichosporon sp.</i>	2	0,7	-	-
<b>OUTROS</b>				
múltiplos micro-organismos*	43	15	8	26

\*provável contaminação

A combinação dos diversos critérios de triagem mostrou uma sensibilidade de 90%, um valor preditivo negativo de 97%, especificidade de 55%, valor preditivo positivo de 26% e uma acurácia de 60%. Trinta e uma amostras consideradas negativas pelo LabUMat/UriSed tiveram resultados positivos nas uroculturas. Estes casos foram verificados detalhadamente através da consulta dos prontuários dos pacientes no SAM do HC da UNICAMP. Em 50% (n=15) destes casos, os resultados não foram clinicamente relevantes (amostras com contaminação bacteriana peri-uretral ou pacientes assintomáticos não submetidos a tratamento posterior).

A tabela 6 mostra a correlação dos resultados da triagem feita pelo equipamento LabUMat/UriSed com os resultados da cultura de urina em meio CLED.

*Tabela 6: Correlação da Triagem do LabUMat/UriSed com urocultura – Etapa 1.*

<b>LABUMAT / URISED</b>	<b>UROCULTURA POSITIVA</b>	<b>UROCULTURA NEGATIVA</b>	<b>TOTAL</b>
<b>POSITIVO (*)</b>	287 (26%)	816 (74%)	1103
<b>NEGATIVO</b>	31 (3%)	992 (97%)	1023
<b>TOTAL</b>	318 (15%)	1808 (85%)	2126

(\*) leucocitúria >5/campo e/ou bacteriúria >11/campo e/ou presença de leucócito-esterase e/ou nitrito e/ou leveduras.

Foi utilizada a curva ROC para a análise do desempenho de cada parâmetro urinário com relação à sensibilidade e especificidade. A figura 5 mostra a curva dos parâmetros na primeira etapa.

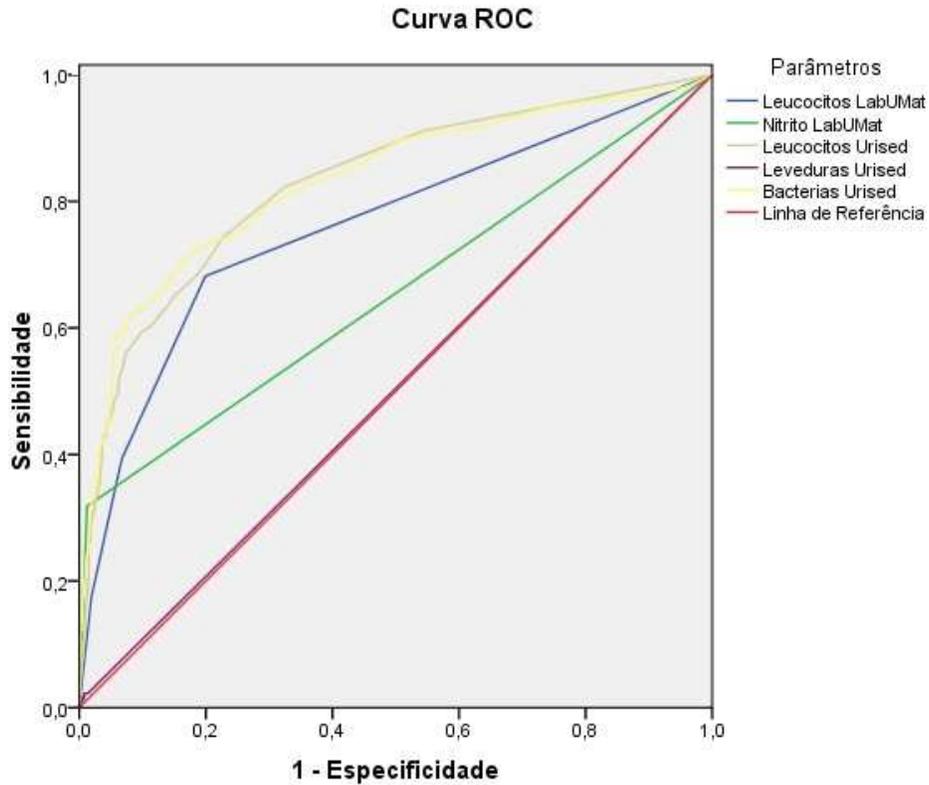


Figura 5: Curva ROC da etapa 1

A curva ROC da etapa 1 mostra um bom desempenho para os parâmetros contagem de bactérias (Bactérias UriSed) e contagem de leucócitos (Leucócitos UriSed). Quanto mais afastada a curva dos parâmetros estiver da linha de referência (linha vermelha), melhor será seu desempenho para o teste de triagem para urocultura.

A distribuição dos valores dos parâmetros contagem de bactérias e contagem de leucócitos foi analisada através do gráfico Boxplot e podem ser observadas, respectivamente, na figura 6 e figura 7.

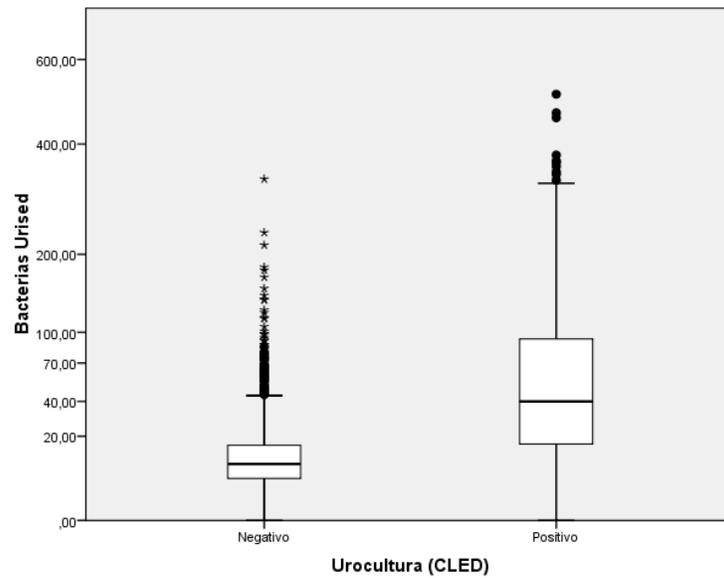


Figura 6: Gráfico Boxplot – Contagem de bactérias da Etapa 1: Contagem de bactérias (Bactérias UriSed) utilizando o módulo UriSed versus quantificação em UFC/mL de urina em urocultura (meio CLED).

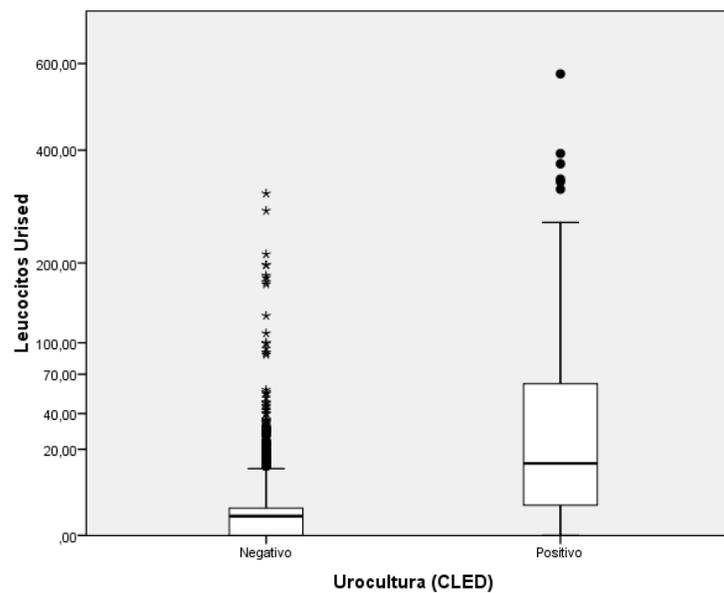


Figura 7: Gráfico Boxplot – Contagem de leucócitos da Etapa 1: Contagem de leucócitos (Leucócitos UriSed) utilizando o módulo UriSed versus quantificação em UFC/mL de urina em urocultura (meio CLED) .

A distribuição dos valores dos parâmetros urinários (contagem de bactérias e contagem de leucócitos) em comparação com os resultados da urocultura em meio CLED mostrou que há uma correlação entre os parâmetros e o padrão ouro.

A tabela 7 mostra os valores da média e do desvio padrão de cada parâmetro urinário utilizado para a análise total da população na etapa 1. Além disso, é possível observar a análise desses parâmetros na população classificada como negativa e positiva para a contagem quantitativa em meio CLED.

*Tabela 7: Análise dos parâmetros urinários – Etapa 1.*

PARÂMETROS	UROCULTURA EM MEIO CLED			p
	TOTAL (n=2126)	NEGATIVO (n=1808)	POSITIVO (n=318)	
<b>Bactérias UriSed</b>	22±43	14±19	70±88	0,0000017
<b>Leveduras UriSed</b>	0,28±7	0,08±1	1,4±18	0,00014
<b>Leucócitos UriSed</b>	10±36	4,12±18	44±73	0,0000013
<b>Nitrito LabUMat</b>	0,05±0,22	0,01±0,1	0,29±0,45	0,12
<b>Leucócitos LabUMat</b>	0,41±0,78	0,26±0,62	1,22±1,09	0,15

Dados = Média ± DP

Foi utilizado o Teste t de Student para comparar cada parâmetro urinário com o padrão ouro (urocultura em meio CLED): houve diferenças significativas ( $p=0,0000017$ ) em Bactérias UriSed, ( $p=0,00014$ ) em Leveduras UriSed e ( $p=0,0000013$ ) em Leucócitos UriSed. Nos demais parâmetros não houve diferença significativa: Nitrito LabUMat ( $p=0,12$ ) e Leucócitos LabUMat ( $p=0,15$ ).

## **2ª etapa**

Após a análise da primeira etapa, deu-se seqüência ao cronograma estabelecido quando foram analisadas prospectivamente amostras de urinas de pacientes provenientes de ambulatórios e enfermarias do HC da UNICAMP. O intuito desta nova análise era testar na rotina laboratorial os valores de corte inicialmente estabelecidos da etapa anterior. Foram analisadas 2075 amostras de urina (jato médio após assepsia) de pacientes com idades de 1 mês a 94 anos (média: 42,2 anos, desvio padrão: 20,3 anos e mediana: 42 anos). Destas, 1359 amostras de urina de pacientes eram do sexo feminino e 716 amostras de urina eram do sexo masculino. Os pacientes do estudo eram provenientes de ambulatórios ( $n = 1790$ ) e enfermarias ( $n= 285$ ) do Hospital de Clínicas da UNICAMP. Todas as amostras foram submetidas à análise físico-química e do sedimento através do equipamento automatizado (LabUMat/UriSed) e à cultura quantitativa em meio CLED.

Após as análises procedeu-se a modificação de alguns parâmetros inicialmente estabelecidos para triagem de urocultura. Assim, nesta segunda etapa, para um diagnóstico presuntivo de ITU, foram considerados os seguintes parâmetros urinários: contagem de bactérias  $\geq 12,5$ /campo,

contagem de leucócitos > 5/campo, presença de leveduras além de nitrito e leucócito-esterase positivos (++/+++). A positividade de pelo menos um destes critérios classificava a amostra como “triagem positiva”. As amostras que foram consideradas positivas em uroculturas apresentaram uma quantificação maior ou igual a 10<sup>3</sup> UFC/ml de urina em cultura pura.

Foi observado que uma mudança no valor de contagem de bactérias aumentaria a sensibilidade do teste bem como o valor preditivo negativo aumentando também a especificidade do teste de triagem. Não foi observada a presença de 1+ de leucócito-esterase isoladamente.

A combinação dos diversos critérios de triagem mostrou uma sensibilidade de 95%, um valor preditivo negativo de 98%, especificidade de 64%, valor preditivo positivo de 33% e uma acurácia de 69%.

A tabela 8 mostra a correlação dos resultados da triagem feita pelo equipamento LabUMat/UriSed com os resultados da cultura de urina em meio CLED na segunda etapa.

*Tabela 8: Correlação da Triagem do LabUMat/UriSed com urocultura – Etapa 2.*

<b>LABUMAT / URISED</b>	<b>UROCULTURA POSITIVA</b>	<b>UROCULTURA NEGATIVA</b>	<b>TOTAL</b>
<b>POSITIVO (*)</b>	310 (33%)	616 (67%)	926
<b>NEGATIVO</b>	28 (2%)	1121 (98%)	1149
<b>TOTAL</b>	338 (16%)	1737 (84%)	2075

(\*)leucocitúria >5/campo e/ou bacteriúria ≥12,5/campo e/ou presença de leucócito esterase (≥2+) e/ou nitrito e/ou de leveduras.

Foi observada uma alta porcentagem de uroculturas negativas (84%) e uma baixa porcentagem de uroculturas positivas (16%). Vinte e oito amostras foram consideradas negativas pelo LabUMat/UriSed e tiveram resultados positivos nas uroculturas, porém analisando detalhadamente estes casos, verificou-se que dezesseis destes pacientes (57%) não foram tratados para ITU (amostras com contaminação bacteriana peri-uretral ou pacientes assintomáticos não submetidos a tratamento posterior). Estes casos foram verificados detalhadamente através da consulta dos prontuários dos pacientes no SAM do HC da UNICAMP.

A tabela 9 mostra todos os micro-organismos isolados das amostras de urina submetidas à análise automatizada. É possível observar, separadamente, os micro-organismos isolados em amostras classificadas como positivas e negativas pelo equipamento automatizado LabUMat/UriSed.

Tabela 9: Resultados positivos da urocultura comparados com a avaliação do LabUMat/UriSed na Etapa 2.

MICRO-ORGANISMOS ISOLADOS EM CULTURA	AVALIAÇÃO LABUMAT/ URISED (n = 338)			
	POSITIVOS (n = 310)		NEGATIVOS (n = 28)	
	N	%	N	%
<b>GRAM POSITIVOS</b>				
<i>Enterococcus spp.</i>	16	5	-	-
<i>Staphylococcus spp.</i>	16	5	1	3,6
<b>GRAM NEGATIVOS</b>				
<i>Acinetobacter spp.</i>	8	3	-	-
<i>Citrobacter spp.</i>	3	1	2	7,1
<i>Escherichia coli.</i>	148	48	12	43
<i>Enterobacter spp.</i>	5	2	-	-
<i>Klebsiella spp.</i>	32	10	2	7,1
<i>Morganella spp.</i>	3	1	-	-
<i>Proteus spp.</i>	7	2,3	4	14,3
<i>Pseudomonas spp.</i>	10	3,2	2	7,1
<b>FUNGOS</b>				
<i>Candida spp.</i>	8	3	-	-
<b>OUTROS</b>				
múltiplos micro-organismos*	54	17	5	18

\*provável contaminação

Foi utilizada a curva ROC para a análise do desempenho de cada parâmetro urinário com relação à sensibilidade e especificidade. A figura 8 mostra a curva dos parâmetros na segunda etapa.

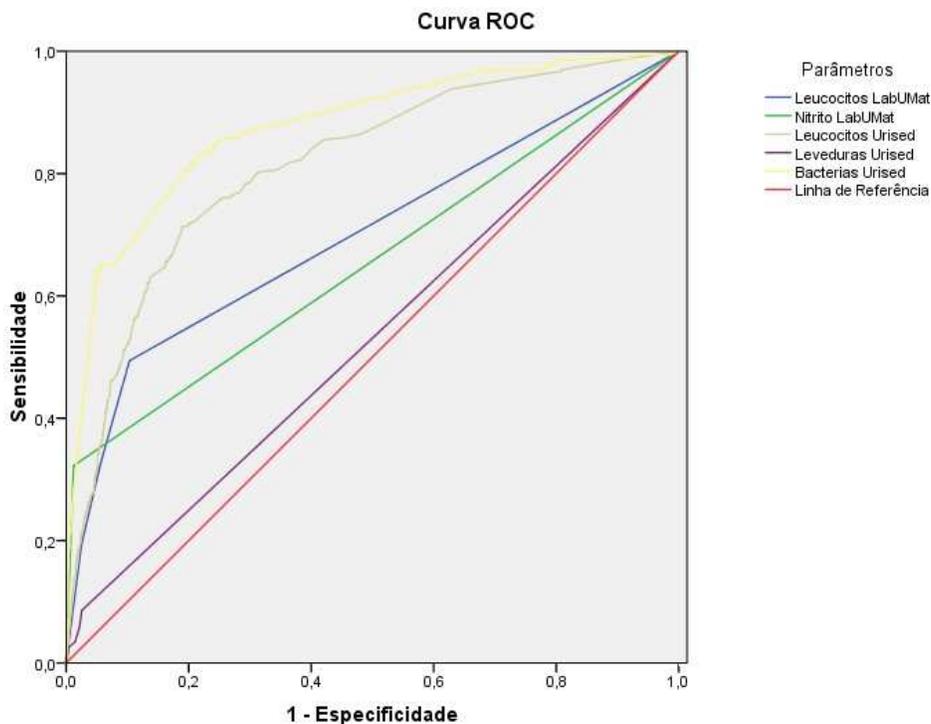
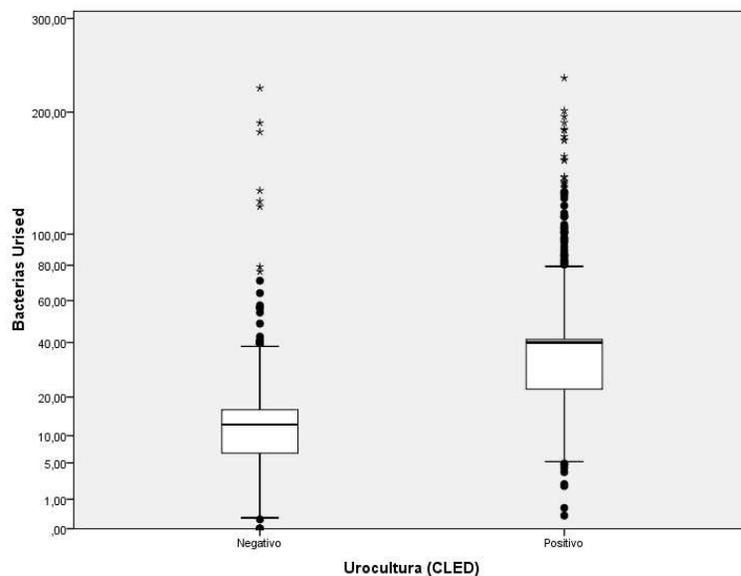


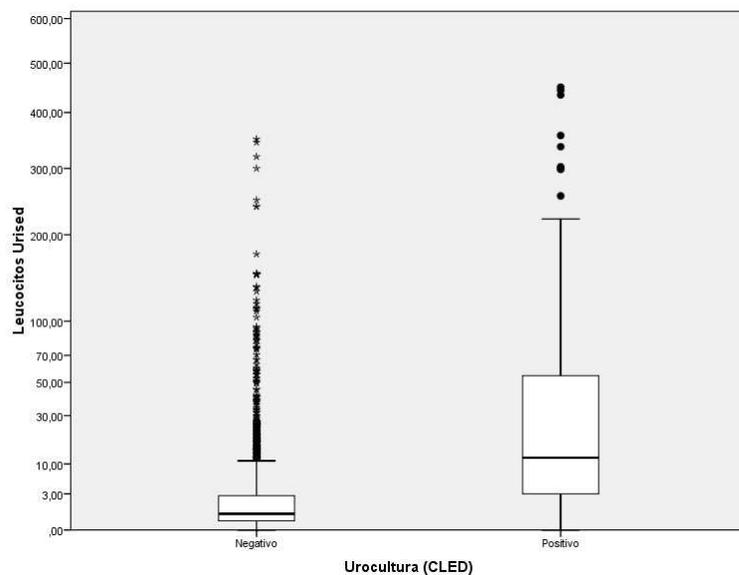
Figura 8: Curva ROC da etapa 2

A curva ROC da etapa 2 mostra um bom desempenho para os parâmetros contagem de bactérias (Bactérias UriSed) e contagem de leucócitos (Leucócitos UriSed). Quanto mais afastada a curva dos parâmetros estiver da linha de referência (linha vermelha), melhor será seu desempenho para a identificação presuntiva de ITU. Se compararmos a curva ROC da etapa 1 com a curva ROC da etapa 2, esta mostra uma maior sensibilidade para o teste de triagem para urocultura.

A distribuição dos valores dos parâmetros contagem de bactérias e contagem de leucócitos foi analisada através do gráfico Boxplot e podem ser observados, respectivamente, na figura 9 e figura 10.



*Figura 9: Gráfico Boxplot – Contagem de bactérias da Etapa 2: Contagem de bactérias (Bactérias UriSed) utilizando o módulo UriSed versus quantificação em UFC/mL de urina em urocultura (meio CLED).*



*Figura 10: Gráfico Boxplot – Contagem de leucócitos da Etapa 2: Contagem de leucócitos (Leucócitos UriSed) utilizando o módulo UriSed versus quantificação em UFC/mL de urina em urocultura (meio CLED).*

A distribuição dos valores dos parâmetros urinários (contagem de bactérias e contagem de leucócitos) em comparação com os resultados da urocultura em meio CLED mostrou que há uma correlação entre os parâmetros e o padrão ouro. Porém ao observarmos o perfil da distribuição do parâmetro Bactérias UriSed na etapa 2 em relação ao perfil do mesmo parâmetro na etapa 1, nota-se que os valores considerados positivos para urocultura, concentram-se próximos a mediana e ao segundo quartil. O perfil da distribuição do parâmetro Leucócito UriSed manteve-se semelhante ao da primeira etapa.

A tabela 10 mostra os valores da média e do desvio padrão de cada parâmetro urinário utilizado para a análise total da população na etapa 2. Além disso, é possível observar a análise desses parâmetros na população classificada como negativa e positiva para a contagem quantitativa em meio CLED.

*Tabela 10: Análise dos parâmetros urinários – Etapa 2.*

PARÂMETROS	UROCULTURA EM MEIO CLED			p
	TOTAL (n=2075)	NEGATIVO (n=1737)	POSITIVO (n=338)	
<b>Bactérias UriSed</b>	19±23	14±13	47±39	0,00000038
<b>Leveduras UriSed</b>	0,33±6,88	0,05±1	2±17	0,00008
<b>Leucócitos UriSed</b>	13±40	7±26	44±72	0,00000017
<b>Nitrito LabUMat</b>	0,06±0,24	0,01±0,11	0,32±0,47	0,11
<b>Leucócitos LabUMat</b>	0,32±0,79	0,18±0,6	1±1,2	0,09

Dados = Média ± DP

Utilizou-se o Teste t de Student para comparar cada parâmetro urinário com o padrão ouro (urocultura em meio CLED): houve diferenças significativas ( $p=0,00000038$ ) em Bactérias UriSed, ( $p=0,00008$ ) em Leveduras UriSed e ( $p=0,00000017$ ) em Leucócitos UriSed. Nos demais parâmetros não houve diferença significativa: Nitrito LabUMat ( $p=0,11$ ) e Leucócitos LabUMat ( $p=0,09$ ).

### **3ª etapa**

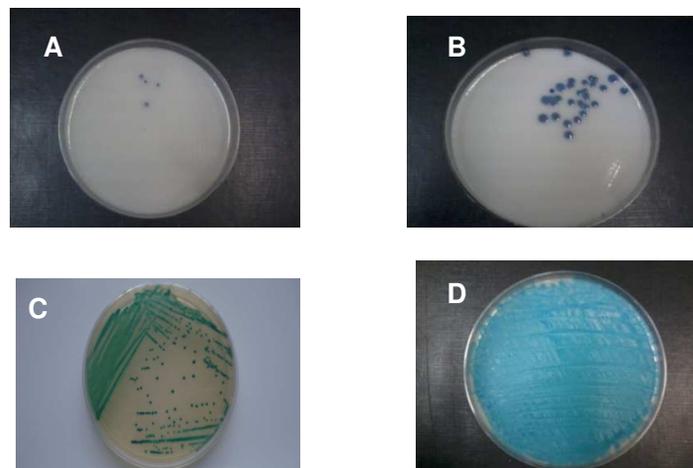
Nesta terceira etapa do estudo, estabeleceu-se um novo valor de corte para tentar minimizar os resultados falso-negativos e falso-positivos encontrados nas etapas anteriores. Foram analisadas 1379 amostras de urina (jato médio após assepsia) de pacientes com idades de 2 meses a 90 anos (média: 42,1 anos, desvio-padrão: 19,9 anos e mediana: 41 anos). Sendo que 1006 amostras de urina eram pacientes do sexo feminino e 373 amostras de urina de pacientes eram do sexo masculino. Os pacientes do estudo eram provenientes de ambulatórios ( $n = 1252$ ) e enfermarias ( $n= 127$ ) do Hospital de Clínicas da UNICAMP. Todas as amostras foram submetidas à análise físico-química e do sedimento através do equipamento automatizado (LabUMat/UriSed) e à cultura quantitativa em meio CLED.

Após as análises da segunda etapa procedeu-se uma nova modificação em alguns parâmetros inicialmente estabelecidos para triagem de urocultura. Assim, nesta nova etapa, para um diagnóstico presuntivo de ITU, foram considerados os seguintes parâmetros urinários: contagem de bactérias  $> 12,5/\text{campo}$ , contagem de leucócitos  $>5/\text{campo}$ , e presença de leveduras e leucócito-esterase positivos (++)/(+++). A positividade

de pelo menos um destes critérios classificava a amostra como “triagem positiva”. O parâmetro nitrito isoladamente não apresentou relevância para a triagem, sendo então desconsiderado seu uso.

As amostras consideradas positivas para a triagem, segundo os novos valores de corte para os parâmetros estabelecidos, foram semeadas em meio Chromagar, somente para a finalidade de se identificar presuntivamente os uropatógenos. Porém os resultados foram comparados com as mesmas amostras semeadas em meio CLED, na rotina laboratorial da Seção de Microbiologia Clínica do HC da UNICAMP. As amostras consideradas negativas, segundo os novos valores de corte foram semeadas em meio CLED.

A contagem de colônias e a identificação presuntiva dos uropatógenos foram feitas na superfície do meio chromagar. As amostras consideradas positivas apresentavam uma quantificação  $\geq 10^3$  UFC/mL de urina em cultura pura. A figura 11 mostra a contagem de colônias realizadas na superfície do meio Chromagar.



*Figura 11: Contagem de colônias em meio Chromagar*

*A:  $< 10^2$  UFC/ml (negativo); B:  $10^3$  UFC/ml; C:  $10^4$  UFC / ml; D:  $> 10^5$  UFC/ml.*

De um total de 1379 amostras analisadas, somente 665 destas (48%) foram classificadas como positivas para uma triagem de ITU, assim, observou-se uma redução de 52% do total das sementeiras.

A combinação dos diversos critérios de triagem mostrou um aumento da sensibilidade (97%) e um aumento do valor preditivo negativo (99%). O valor preditivo positivo foi de 27%, a especificidade foi de 59% e a acurácia foi de 64%. A tabela 11 mostra a correlação dos resultados da triagem feita pelo equipamento LabUMat/UriSed com os resultados da cultura de urina em meio Chromagar (comparação com as mesmas amostras semeadas em CLED pela rotina laboratorial) na terceira etapa.

*Tabela 11: Correlação da Triagem do LabUMat/UriSed com urocultura – Etapa 3.*

<b>LABUMAT / URISED</b>	<b>UROCULTURA POSITIVA</b>	<b>UROCULTURA NEGATIVA</b>	<b>TOTAL</b>
<b>POSITIVO (*)</b>	179 (27%)	486 (73%)	665
<b>NEGATIVO</b>	5 (1%)	709 (99%)	714
<b>TOTAL</b>	184 (13%)	1195 (87%)	1379

(\*) leucocitúria >5/campo e/ou bacteriúria >12,5/campo e/ou presença de leveduras e/ou leucócito-esterase positivos (++/+++).

Cinco amostras foram consideradas negativas pelo LabUMat/UriSed e tiveram resultados positivos nas uroculturas. Analisando detalhadamente estes casos através da consulta dos prontuários dos pacientes no SAM do HC da UNICAMP, observou-se que das cinco amostras classificadas como falso-negativas, apenas um paciente não fez tratamento para ITU. Os outros pacientes apresentaram má formação do trato urinário e foram tratados.

A tabela 12 mostra a análise comparativa das três etapas do estudo para os valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia.

*Tabela 12: Análise comparativa das etapas do estudo*

<b>Parâmetros</b>	<b>Etapa 1</b>	<b>Etapa 2</b>	<b>Etapa 3</b>
<b>Sensibilidade (%)</b>	90	95	97
<b>Especificidade (%)</b>	55	64	59
<b>VPP (%)</b>	26	33	27
<b>VPN (%)</b>	97	98	99
<b>Acurácia (%)</b>	60	69	64

VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo.

Ao longo das três etapas os valores de corte foram refinados no intuito de aumentar a sensibilidade e o valor preditivo negativo, além de diminuir a taxa de resultados falso-negativos.

A tabela 13 mostra os parâmetros urinários isolados da etapa 3 com relação aos valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo negativo e valor preditivo positivo.

*Tabela 13: Análise dos parâmetros isolados – Etapa 3*

<b>Parâmetros</b>	<b>Sensibilidade (%)</b>	<b>Especificidade (%)</b>	<b>VPP (%)</b>	<b>VPN (%)</b>
<b>Leucócito-esterase</b>	34	96	55	90
<b>Leveduras</b>	31	94	45	90
<b>Leucócitos</b>	63	89	47	94
<b>Bactérias</b>	96	60	27	99

VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo.

Os parâmetros leucócito-esterase e levedura, isoladamente, possuem uma baixa sensibilidade, porém em associação com outros parâmetros, ocorre um ganho considerável de sensibilidade evitando a ocorrência de resultados falso-negativos.

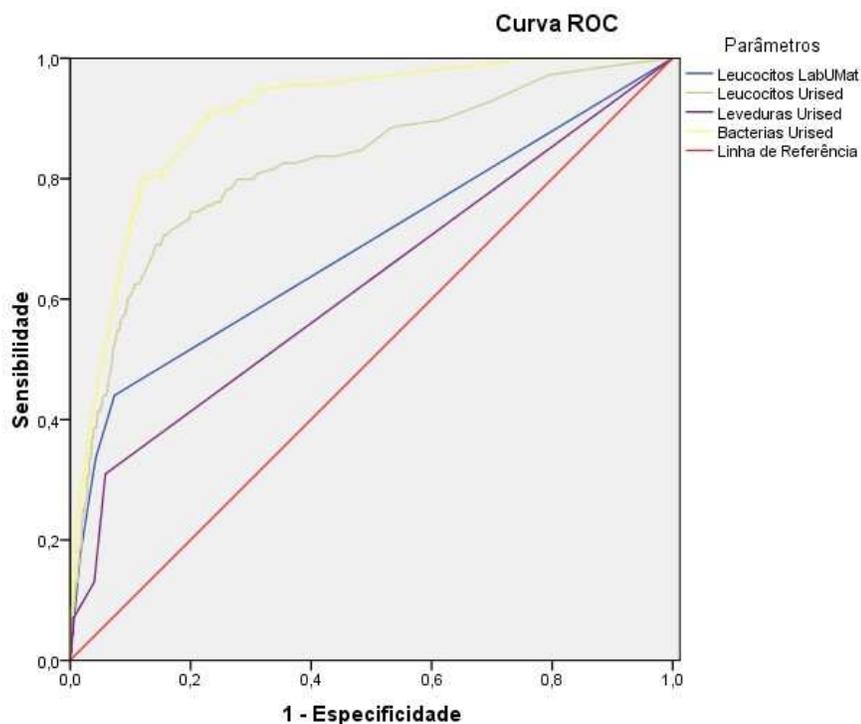
A tabela 14 mostra todos os micro-organismos isolados das amostras de urina submetidas à análise automatizada. É possível observar, separadamente, os micro-organismos isolados em amostras classificadas como positivas e negativas pelo equipamento automatizado LabUMat/UriSed.

Tabela 14: Resultados positivos da urocultura comparados com a avaliação do LabUMat/UriSed na Etapa 3.

MICRO-ORGANISMOS ISOLADOS EM CULTURA	AVALIAÇÃO LABUMAT / URISED (n = 184)			
	POSITIVOS (n = 179)		NEGATIVOS (n = 5)	
	N	%	N	%
<b>GRAM POSITIVOS</b>				
<i>Enterococcus spp.</i>	6	3,3	-	-
<i>Staphylococcus spp.</i>	5	3	-	-
<b>GRAM NEGATIVOS</b>				
<i>Acinetobacter spp.</i>	1	0,6	-	-
<i>Citrobacter spp.</i>	1	0,6	-	-
<i>Escherichia coli</i>	82	46	3	60
<i>Enterobacter spp.</i>	5	3	-	-
<i>Klebsiella spp.</i>	18	10	-	-
<i>Morganella spp.</i>	-	-	1	20
<i>Proteus spp.</i>	7	4	1	20
<i>Pseudomonas spp.</i>	3	1,7	-	-
<b>FUNGOS</b>				
<i>Candida spp.</i>	1	0,6	-	-
<b>OUTROS</b>				
múltiplos micro-organismos*	50	28	-	-

\* provável contaminação

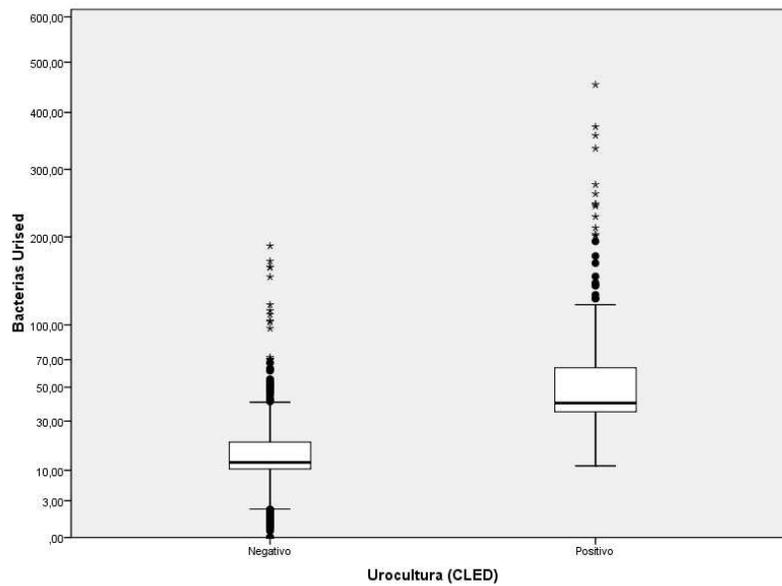
Foi utilizada a curva ROC para a análise do desempenho de cada parâmetro urinário com relação à sensibilidade e especificidade. A figura 12 mostra a curva dos parâmetros na terceira etapa.



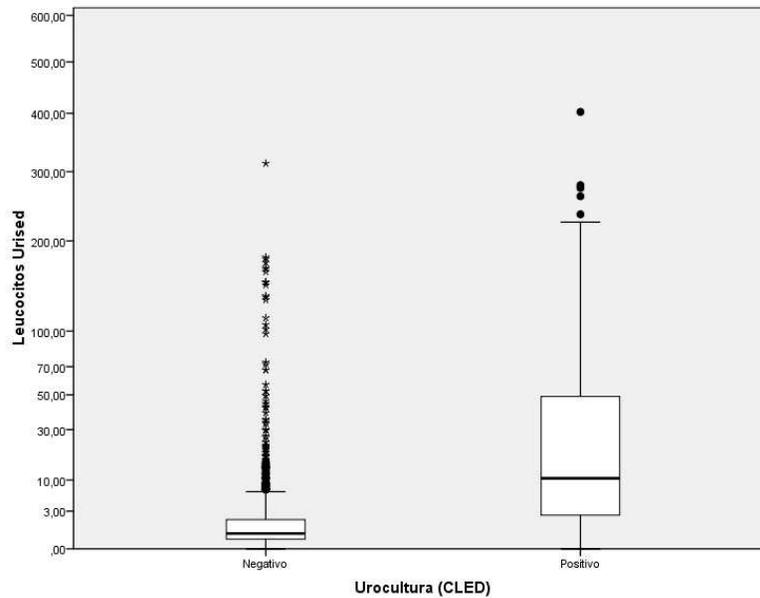
*Figura 12: Curva ROC da etapa 3*

Se compararmos a curva ROC da etapa 3 com as curvas ROC das etapas anteriores, nota-se um aumento da sensibilidade para os parâmetros contagem de bactérias (Bactérias UriSed) e contagem de leucócitos (Leucócitos UriSed). Este ganho de sensibilidade deve-se principalmente aos ajustes dos valores de corte no decorrer das etapas

Foi utilizado o gráfico Boxplot para analisar a distribuição dos valores dos parâmetros contagem de bactérias e contagem de leucócitos. A distribuição da contagem de bactérias e a distribuição da contagem de leucócitos podem ser observadas, respectivamente, na figura 13 e figura 14.



*Figura 13: Gráfico Boxplot – Contagem de bactérias da Etapa 3: Contagem de bactérias (Bactérias UriSed) utilizando o módulo UriSed versus quantificação em UFC/mL de urina em urocultura (meio CLED).*



*Figura 14: Gráfico Boxplot – Contagem de leucócitos da Etapa 3: Contagem de leucócitos (Leucócitos UriSed) utilizando o módulo UriSed versus quantificação em UFC/mL de urina em urocultura (meio CLED).*

A correlação entre os parâmetros urinários e o padrão ouro foi evidenciada através da análise da distribuição dos valores de contagem de bactérias e contagem de leucócitos.

Comparando-se o perfil de distribuição do parâmetro Bactérias UriSed na etapa 3 com as etapas anteriores nota-se que os valores considerados positivos para urocultura encontram-se próximos à mediana, somente variando a concentração das amostras entre o 2º quartil e o 3º quartil.

O perfil de distribuição do parâmetro Leucócito UriSed na etapa 3 foi semelhante às etapas anteriores, não havendo mudança relevante.

A tabela 15 mostra os valores da média e do desvio padrão de cada parâmetro urinário utilizado para a análise total da população na etapa 3. Também é possível observar a análise desses parâmetros na população classificada como negativa e positiva para a contagem quantitativa em meio CLED.

*Tabela 15: Análise dos parâmetros urinários – Etapa 3.*

PARÂMETROS	UROCULTURA EM MEIO CLED			p
	TOTAL (n=1379)	NEGATIVO (n=1195)	POSITIVO (n=184)	
<b>Bactérias UriSed</b>	23±34	17±16	65±70	0,0000011
<b>Leveduras UriSed</b>	0,27±6,11	0,05±1	2±17	0,00017
<b>Leucócitos UriSed</b>	10±34	5±21	43±68	0,0000016
<b>Nitrito LabUMat</b>	0,05±0,22	0,01±0,1	0,32±0,47	0,08
<b>Leucócitos LabUMat</b>	0,24±0,7	0,13±0,5	1±1,2	0,1

Dados = Média ± DP

Utilizou-se o Teste t de Student para comparar cada parâmetro urinário com o padrão ouro (urocultura em meio CLED): houve diferenças significativas ( $p=0,0000011$ ) em Bactérias UriSed, ( $p=0,00017$ ) em Leveduras UriSed e ( $p=0,0000016$ ) em Leucócitos UriSed. Nos demais parâmetros não houve diferença significativa: Nitrito LabUMat ( $p=0,08$ ) e Leucócitos LabUMat ( $p=0,09$ ).

## 6. DISCUSSÃO

---

Urinalise compreende as análises física, química e microscópica da urina, com o objetivo de detectar doença renal, do trato urinário ou sistêmica, que se manifesta através do sistema urinário. É um teste laboratorial amplamente utilizado na prática clínica, constituindo um dos indicadores mais importantes de saúde e doença (1).

Trata-se de um dos exames mais antigos de que se tem conhecimento, mas ainda carece de uma padronização universalmente aceita. Os componentes do exame de urina incluem a avaliação das características macroscópicas (cor e aspecto), físicas (pH e densidade ou gravidade específica), químicas (através de tiras reagentes), bioquímicas e microscópicas, além de testes confirmatórios quando necessário (5). Normalmente é realizado de forma manual, requerendo pessoal com treinamento específico, além de ser trabalhoso e demorado. Assim, têm sido feitas tentativas para reduzir a variabilidade inerente às análises manuais, melhorando a exatidão e precisão e economizando o tempo técnico através da introdução da automação do exame de urina (43,56).

A infecção do trato urinário (ITU) é a segunda infecção mais freqüente em todo o mundo, perdendo apenas para as infecções respiratórias (57). A ITU está entre as infecções mais comumente tratadas em centros de saúde e hospitais (58) e é a doença mais freqüentemente diagnosticada no laboratório de microbiologia clínica (59).

O padrão ouro para o diagnóstico de ITU é a cultura bacteriana, a qual é baseada na contagem e identificação de bactérias (60,61). A presença de micro-organismos sem outras alterações no exame de urina não é específica

para o diagnóstico de ITU, pois um alto nível de bacteriúria pode ser devido à colonização e a contaminação e não apenas à infecção (61,62). Alguns estudos mostram o uso de alguns parâmetros urinários para auxiliar na interpretação de um possível diagnóstico de ITU: leucócito-esterase, nitrito, presença de micro-organismos (leveduras, por exemplo) (59, 63, 64). Estes parâmetros foram utilizados nas três etapas do estudo, porém foi observado que o parâmetro nitrito, isoladamente, não apresentou relevância clínica para um diagnóstico presuntivo de ITU. Estudo conduzido por Devillé et al mostrou que o uso deste parâmetro é indiferente para um teste de triagem para ITU (65).

Apesar de estes parâmetros terem sido utilizados primeiramente para um teste de triagem, o exame de urina contém outros elementos que fornecem informações para auxiliar no diagnóstico de ITU, tais como leucócitos e bactérias (66). A microscopia do sedimento urinário tem sido adotada como um método preciso para a quantificação destes elementos (60,61). Assim métodos de triagem capazes de detectar e quantificar leucócitos e bactérias tem sido discutidos por alguns autores (56,59,61). Estes parâmetros foram utilizados em todas as etapas do projeto e foram fundamentais para aprimorar o teste de triagem para ITU ao longo das três etapas.

Apesar de a urocultura ser considerada o padrão ouro para o diagnóstico de ITU, é um procedimento trabalhoso e fornece resultados em 24 - 48 horas além de apresentar uma grande quantidade de resultados negativos (56, 60, 61). Foi observada, nas três etapas do projeto, uma alta porcentagem de uroculturas com resultados negativos variando de 83% a 86%. Estes resultados foram semelhantes aos observados por autores que documentaram que cerca

de 80% dos resultados de uroculturas eram negativos ou possuíam um crescimento quantitativo bacteriano insignificante (56, 60, 61, 67, 68, 69, 70).

Estudos mostram que através de um teste de triagem eficaz para o diagnóstico de ITU, seria possível fornecer um diagnóstico mais rápido e preciso para o médico solicitante com o potencial de reduzir o número de sementeiras desnecessárias. Eliminando a sementeira de amostras negativas, o laboratório, além de fornecer um resultado presuntivo ao paciente, poderia direcionar uma maior atenção às amostras positivas (58, 60, 61,66, 71, 72,73, 74).

Em muitos casos, quando há suspeita médica que um paciente apresente ITU, por avaliações de sintomas e sinais, os antibióticos são prescritos sem aguardar a confirmação do resultado da cultura, fazendo com que muitos pacientes recebam antibióticos desnecessariamente. Alguns autores relatam em seus trabalhos, que a utilização de um teste de triagem para ITU poderia reduzir a prescrição empírica de antibióticos (61, 72, 74, 75, 76).

Na literatura tem sido reportada a avaliação de métodos rápidos para triagem de ITU: métodos microscópicos baseados em observação de amostras coradas; métodos enzimáticos, tais como nitrito e leucócito-esterase, ensaios bioluminescentes, detecção de crescimento bacteriano por fotometria e por citometria de fluxo. Todos esses métodos são baseados na detecção da presença de bactérias e/ou leucócitos em amostras de urina (59,60). Nos últimos 10 anos, o uso de um analisador de citômetro de fluxo tem sido avaliado para identificar pacientes com suspeita de ITU através da quantificação de bactérias e leucócitos, triando essas amostras para uma posterior sementeira. Os resultados definidos para bacteriúria significativa têm

sido comparados ao método de referência para cultura de urina (58, 60, 77, 78,79, 80).

Alguns trabalhos têm utilizado, particularmente, o analisador automatizado de sedimento urinário (UriSed) como um auxiliar na triagem de ITU (43,72, 74). Vale ressaltar que este equipamento é comercializado em alguns países da Europa com o nome de sediMAX®.

Comparando nossos resultados com a cultura quantitativa de urina nas três etapas do estudo, observamos que o valor preditivo positivo (VPP) variou de 26% a 33%, valor preditivo negativo (VPN) de 97% a 99%, a sensibilidade de 90% a 97%, a especificidade de 59% a 64% e a acurácia de 60% a 69%, resultados estes semelhantes a outros estudos (56,72,81).

Vários estudos têm demonstrado que o desempenho do equipamento sediMAX® para a triagem de ITU é comparável a outros equipamentos automatizados baseados em citometria de fluxo, para a triagem de ITU (61, 81, 82). Akin et al (43) compararam o desempenho do sistema automatizado LabUMat/Urised com o equipamento iQ®200 (análise digital de imagens em fluxo contínuo) e também observaram uma correlação significativa entre os dois equipamentos. Okada et al (71) utilizando o equipamento UF-50 observaram um VPN de 90,7%, VPP de 62%, sensibilidade de 83,1% e especificidade de 76,4% enquanto que Manoni et al (85) utilizando o equipamento UF-1000i, obtiveram um VPN de 98%, VPP de 92%, sensibilidade de 94% e especificidade de 97%; Falbo et al (72) encontraram um VPN de 99,4%, VPP de 35%, sensibilidade de 98,3%, especificidade de 59% e acurácia de 66,2%; Karakukcu et al (74) encontraram um VPN de 100%, sensibilidade de 99,8% e especificidade de 52%.

Vale ressaltar que apenas os estudos realizados por Falbo et al (72) e Karakukcu et al (74) utilizaram integralmente a mesma metodologia empregada no nosso projeto. As diferenças observadas entre os resultados de sensibilidade podem ser devido aos diferentes métodos de detecção de bactérias, definições de bacteriúria significativa e populações de pacientes estudados.

Em termos de desempenho analítico, nossos dados mostraram que o módulo UriSed apresenta boa precisão e reprodutibilidade na identificação e quantificação dos diversos elementos figurados presentes na urina, sem carreamento significativo, conforme descrito por Zaman et al (83).

Um estudo realizado por Block et al (84) comparou o processamento de amostras de urina no equipamento sediMAX® com a microscopia manual. Foi observado que, para o método automatizado é necessário um volume inferior de urina (2mL) se comparado com a metodologia manual (12mL); o tempo de processamento do equipamento sediMAX® é mais rápido do que o método manual (80 amostras/hora e 10 amostras hora/funcionário, respectivamente) com coeficientes de variação intra e inter-ensaio entre 17% - 53% para a microscopia manual. Nosso estudo mostra que o UriSed é mais preciso e reprodutível que a microscopia manual com coeficientes de variação intra e inter-ensaio entre 3% - 20%.

Foram analisadas amostras de urina de pacientes de ambos os sexos, provenientes de ambulatórios e enfermarias do HC da UNICAMP. Nas três etapas do projeto foi observada uma maior prevalência de amostras do sexo feminino: a primeira etapa foi de 64%, segunda etapa foi de 65% e a terceira etapa foi de 73%. Estes dados mostram que a maior prevalência de ITU no

sexo feminino estava de acordo com o observado nos estudos de Pieretti et al (61) e Jolkkonen et al (85).

As amostras da primeira e segunda etapa foram semeadas em meio CLED. Este procedimento foi igual ao realizado por alguns autores para a análise de suas amostras de urina de maneira quantitativa (71, 74, 81, 86). As amostras da terceira etapa foram também paralelamente semeadas em meio Chromagar, meio este utilizado por outros autores: Pieretti et al (61), Kadkhoda et al (66), Falbo et al (72), Jolkkonen et al (85). Por outro lado, Kim et al (60) realizaram semeadura nos meios MacConkey e agar sangue.

O critério estabelecido no projeto para classificar uma amostra com uma contagem significativa de bactérias foi  $\geq 10^3$  UFC/mL em cultura pura. Kim et al (60) e Jolkknen et al (85) classificaram suas amostras, como positiva, com a mesma contagem estabelecida neste projeto. Alguns autores classificaram uma contagem  $\geq 10^4$  UFC/mL de urina em cultura pura como positiva (61,72). Okada et al (71) classificaram suas amostras, como positivas, a partir de uma contagem de  $> 10^4$  UFC/mL. Manoni et al e outros autores classificaram suas amostras, como positivas, a partir de uma contagem  $\geq 10^5$  UFC/mL (74, 82, 86). Kadkhoda et al (66) classificaram suas amostras, como positivas, a partir de uma contagem  $\geq 10^8$  UFC/L de urina (equivalente a  $\geq 10^5$  UFC/mL de urina).

Foi observada uma pequena porcentagem de resultados positivos para urocultura nas três etapas do projeto: 15% (primeira etapa), 16% (segunda etapa) e 13% (terceira etapa), semelhante à encontrada em outros estudos como os de Kim et al (60), Falbo et al (72) e Jolkkonen et al (85) (20%, 18,3% e 16,8%, respectivamente).

Nas amostras consideradas positivas para a triagem de urocultura, foi encontrada uma prevalência de bactérias gram-negativas (*Escherichia coli*,

*Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*) o que está de acordo a outros estudos (11, 15, 16,19).

Ao longo do estudo observou-se que as contagens de bactérias, leucócitos e leveduras foram consideradas parâmetros clinicamente relevantes para uma triagem de ITU ( $p < 0,005$ ). Outros trabalhos ressaltam a utilização e importância desses mesmos parâmetros para triagem de amostras com suspeita de ITU (56, 61, 60,66, 71, 72, 74, 79, 82, 85, 86).

Ao fazermos uma análise detalhada dos valores dos parâmetros urinários estabelecidos para sensibilidade, especificidade, VPP e VPN observamos que o parâmetro contagem de leucócitos, isoladamente, apresentou uma sensibilidade de 63% e uma especificidade de 89% e a contagem de bactérias, isoladamente, apresentou uma sensibilidade de 96% e uma especificidade de 60%. Porém ao analisarmos os dois parâmetros em conjunto observamos um aumento da sensibilidade (97%) à custa de uma diminuição da especificidade (59%). Este cenário foi semelhante ao observado por outros autores: Manoni et al (86) observaram para o parâmetro contagem de leucócitos, isoladamente, uma sensibilidade de 87% e uma especificidade de 79% e o parâmetro contagem de bactérias, isoladamente, uma sensibilidade de 97% e uma especificidade de 94%. A análise associada destes parâmetros mostrou uma sensibilidade de 99% e uma especificidade de 77%. Karakukcu et al (74) observaram que o parâmetro contagem de bactérias, isoladamente, mostrou uma sensibilidade de 96,5% e especificidade de 82,1%, porém quando analisado em conjunto com o parâmetro contagem de leucócitos a sensibilidade aumentou (99,8%) e a especificidade diminuiu (52%). Considera-se que para ser eficaz, um teste para triagem deve ter um alto VPN e uma

baixa taxa de amostras falso-negativas (71,72). A sensibilidade para um teste de triagem é mais importante do que a especificidade (86).

Em todas as etapas do projeto foi observada a ocorrência de resultados falso-negativos, porém através do refinamento dos parâmetros analisados (associação de múltiplos parâmetros e alterações nos valores de corte) obtivemos apenas cinco amostras classificadas como falso-negativas. Analisando detalhadamente estas amostras verificamos que um destes pacientes não fez tratamento para ITU; os demais casos foram considerados positivos e receberam antibioticoterapia. Esses pacientes eram considerados de alto risco para ITU por serem portadores de má-formação de trato genito-urinário. Outros trabalhos encontraram valores similares: Kim et al (60) (4 amostras falso-negativas); Pieretti et al (61) (10 amostras falso-negativas); Falbo et al (72) (3 amostras falso-negativas), van der Zwet et al (82) ( 2 amostras falso-negativas) e Jolkkonen et al (85) (5 amostras falso-negativas). Em todos estes casos, o perfil dos pacientes com resultados falso-negativos era semelhante, ou seja, os pacientes eram portadores de doenças urogenitais ou anormalidades congênitas.

## 7. CONCLUSÃO

---

Foi observada uma forte correlação dos resultados com a análise microscópica manual.

Houve uma boa correlação entre o método de urocultura clássico e a análise realizada pelo sistema automatizado LabUMat/UriSed. Pode-se concluir que este sistema é uma boa ferramenta para a triagem de ITU com altos valores de sensibilidade (97%) e valor preditivo negativo (99%).

Neste estudo, os valores de corte finais foram: contagem de bactérias >12,5/campo, contagem de leucócitos >5/campo além da possível presença de leveduras e leucócito-esterase  $\geq 2+$ . Este conjunto de critérios teoricamente permitiria uma redução de 52% do total das sementeiras (714 em 1379 amostras), principalmente quando associamos critérios clínicos.

O impacto de um teste eficaz de triagem para ITU baseia-se principalmente na possibilidade de fornecer resultados preliminares rapidamente, permitindo aos médicos decisão clínica mais segura e, nos casos de triagem negativa, redução do início de terapia antibiótica empírica, consequentemente diminuindo o risco do aumento da resistência à antibióticos.

Deve-se ter em mente que a implantação de um teste de triagem ITU necessita do convencimento do médico solicitante e, em termos éticos, não pode ser realizado se o mesmo não solicitou dessa forma. Como sugestão, o laboratório, em comum acordo com o corpo clínico, poderia criar uma nova análise “Triagem para ITU”, por exemplo, que funcionaria, sempre a pedido médico, como uma etapa intermediária entre o exame de urina e a urocultura.

## 8. REFERÊNCIAS

---

1. Strasinger AS, Di Lorenzo MS. Urinálise e Fluidos Corporais. 5ª edição. São Paulo: LMP; 2009. 329p.
2. Armstrong, JA. Urinalysis in Western culture: A brief history. International Society of Nephrology. 2007; 71: 384–7.
3. White, WI. A new look at role of urinalysis in the history of diagnostic medicine. Clinical Chemistry. 1991; 37 (1): 119-25.
4. Ginsberg J. The development of diagnostic test strips. American Chemical Society National Historic Chemical Landmarks. Development of Diagnostic Test Strips. [on line] 2010. [Acesso em 21 ago. 2012]. Disponível em:URL:[http://portal.acs.org/portal/PublicWebSite/education/whatischemistry/landmarks/diagnosticteststrips/CNBP\\_026825](http://portal.acs.org/portal/PublicWebSite/education/whatischemistry/landmarks/diagnosticteststrips/CNBP_026825).
5. Brunzel, NA. Fundamentals of Urine & Body Fluid Analysis. 3rd ed. Printed in the United States of America: Elsevier; 2012. 441p.
6. de Oliveira CA, Mendes ME. Gestão da Fase Analítica do Laboratório – como assegurar a qualidade na prática. 1ª edição. v. 1. Rio de Janeiro: Controllab; 2010. 146p.
7. de Oliveira, CA, Mendes ME. Gestão da Fase Analítica do Laboratório – como assegurar a qualidade na prática. 1ª edição. v. 2. Rio de Janeiro: Controllab; 2011. 184p.
8. Jones RG, Payne RB. Clinical Investigation and Statistics in Laboratory Medicine. ACB Venture Publications; 1997. 196p.
9. Santos SR, Amado CAB, Assef SM Infecções urinárias. Arquivos de Ciências da Saúde. 1999; 3 (1): 43-9.

10. Silva JCO, Farias TFF, Adrieri LS, Françolin AC, Svidzinsk TIE. Infecções urinárias de origem bacteriana diagnosticadas em Umuarama-PR. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2007; 39 (1): 59-61.
11. Lopes HV, Tavares W. Projeto Diretrizes - Infecção do Trato Urinário: Diagnóstico – Sociedade Brasileira de Infectologia e Sociedade Brasileira de Urologia, 4 jun. 2004.
12. Jacociunas LV, Picoli SU. Avaliação de Infecção Urinária em Gestantes no Primeiro Trimestre de Gravidez. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2007; 39(1): 55-7.
13. Hörner R, Kocourek GED, Domingues VO, Rigatti F, Bertoncheli CM, Paraguinski GL. Comparação de métodos de triagem para detecção de bacteriúria em amostras do bairro Maringá e do Hospital Universitário de Santa Maria. *Saúde, Santa Maria*. 2008; 34 (1-2): 16-21.
14. Santos RCV, Lunardelli A, Castaman TA, Nunes FB, Pires MGS, Oliveira JR et al. Prevalência e perfil de sensibilidade de microrganismos em infecções do trato urinário. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2003; 35 (1): 27-8.
15. McCarter YS, Burd EM, Hall GS, Zervos M. Coordinating Eds. *Cumitech 2C, Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections*. Coordinating ed., American Society for Microbiology, Washington DC, 2009.
16. Clarridge JE, Johnson JR, Pezzlo MT. Coordinating Eds. *Cumitech 2B: Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections*. American Society for Microbiology, Washington DC, 1998.
17. Bailey, BLJ. Urinalysis Predictive of urine culture results. *Journal of Family Practice*. 1995; 40 (1): 45-50.

18. Holloway J, Joshi N, O'Bryan T. Positive urine nitrite test: an accurate predictor of absence of pure enterococcal bacteriuria. *Southern Medical Journal*. 2000; 93 (7): 681-2.
19. BSOP. Investigation of urine. National Health Service (NHS). Health Protection Agency. BSOP 41. UK, 2009.
20. Downs, SM. Technical report: tract infection in febrile infants and young children. *Journal of Pediatrics*. 1999; 103 (4): 1-60.
21. Yorita K.L. Holman RC. Sevjar JJ. Steiner CA, Schonberger LB. Infectious disease hospitalizations among infants in the United States. *Journal of Pediatrics*. 2008; 121(2): 244-52.
22. Koch VH, Zuccolotto MC. Infecção do trato urinário. Em busca das evidências. *Jornal de Pediatria*. 2003; 59 (1): S97-S106.
23. Heilberg IP, Schor N. Abordagem Diagnóstica e Terapêutica na Infecção do Trato Urinário – ITU. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2003; 49(1): 109-16.
24. Panaretto K, Craig J, Howman-Giles RK Sureshkumar P, Roy L. Risk factors for recurrent urinary tract infection in preschool children. *Journal of Pediatrics and Child Health*. 1999; 35 (5): 454-9.
25. Honkinen O, Lehtonen OP, Ruuskanen O, Houvinen P, Mertsola J. Cohort study of bacterial species causing urinary tract infection and urinary tract abnormalities in children. *British Medical Journal*. 1999; 318 (7186):770-1.
26. Quedinho M, Medeiros EB, Toporovski J. Falsa ITU na infância: análise de 66 casos. *Anais do Congresso Paulista de Pediatria 7, São Paulo*; 1996.
27. Naber KG, Bauerfeind A, Dietlein G. Urinary pathogens and bacterial sensitivity in hospitalized urological patients based upon clinical aspects. *Scand Journal of Urology and Nephrology*. 1987; 104:47-57.

28. Silva, CHPM. Protocolos de Microbiologia Clínica – Urocultura. NewsLab. 2008; 88: 132-37.
29. Martinell J, Jodal U, Janson LG. Pregnancies in women with and without renal scarring after urinary infections in childhood. British Medical Journal. 1990; 300 (6728): 840-4.
30. Dallacorte RR, Schneider RH, Benjamin WW. Perfil das infecções do trato urinário em idosos hospitalizados na Unidade Geriátrica do Hospital São Lucas da PUC-RS. Scientia Medica. 2007; 17 (4): 197-204.
31. Vance, DB. Do you know if incontinent, bedridden nursing home do better overall with a catheter or with disposable underwear? What if they have sacral pressure sores? Annals of Long-Term Care. 2002; 10 (10): 50-3.
32. Domingo AA, Cacho J, Coira Nieto A, Jiménez JAL. Procedimentos em Microbiología Clínica – Recomendaciones de La Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 14a Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinário, 2010.
33. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica. 2ª ed. São Paulo: Sarvier; 2004. 340p.
34. Piccoli PP, Ricordi MS, Scarparo C. Comparative evaluation of two commercial chromogenic media for detection and presumptive identification of urinary tract pathogens. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Disease. 2002; 21(4): 283-9.
35. Wilson ML, Gaido L. Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. Journal of Clinical Infectious Diseases. 2004; 38 (8): 1150-8.
36. Sieman-Ingra Y, Kulka T, Schwartz D, Konforti N. The significance of polymicrobial growth in urine: contamination or true infection. Scandinavian Journal of Infectious Diseases. 1993; 25 (1): 85-91.

37. Stamm WE, Hooton TM, Johnson JR, Johnson C, Stapleton A, Roberts PL et al. Urinary tract infections: from pathogenesis to treatment. *Journal of Infectious Diseases*. 1989; 159 (3): 400-6.
38. Amadeu ARORM, Sucupira JS, Jesus RMM, Rocha MLP. Urinary tract infection: frequency analysis and susceptibility profile of *Escherichia coli*. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2009; 41(4): 275-7.
39. Castro MS, Pilger D, Ferreira MBC. Trends in antimicrobial utilization in a university hospital. *Revista de Saúde Pública*. 2002; 36 (5): 553-8.
40. Gordon KA, Jones RN. Susceptibility patterns of orally administered antimicrobials among urinary tract infection pathogens from hospitalized patients in North America: comparison report to Europe and Latin America. Results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2003; 45 (4): 295-301.
41. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC ANVISA nº 306/04 – Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA sobre Resíduos de Serviços de Saúde, 2004.
42. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC ANVISA nº 302/05 – Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA sobre Regulamento Técnico para Funcionamento de Laboratórios Clínicos, 2005.
43. Akin OK, Serdar MA, Cizmeci Z, Genc O, Aydin S. Comparison of LabUMat – with – UriSed and iQ® 200 fully automatic urine sediment analyzers with manual urine analysis. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2009; 53 (2): 139-44.
44. The art of medical diagnostics. [online] [Acesso em 30 ago. 2012]. Disponível em: URL: <http://www.e77.hu/en/products/urine-analyzers/labumat.html>.

45. Pintér E. Evaluation of UriSed automated urine sediment analyzer : short review. *Clinical Chemistry*. 1999; 45(6): 757 -70.
46. The art of medical diagnostics. [online] [Acesso em 30 ago. 2012]. Disponível em: URL: <http://www.e77.hu/en/products/urine-analyzers/urised.html>.
47. The art of medical diagnostics. [online] [Acesso em 30 ago. 2012]. Disponível em: URL: <http://www.e77.hu/en/products/urine-analyzers/labumat-a-urised.html>.
48. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Organização Pan-Americana de Saúde. Organização Mundial da Saúde. Termo de Cooperação nº 37 – Tecnologia em Serviços de Saúde: Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos, 2008.
49. Brasil. ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas – Laboratório Clínico – Requisitos e Recomendações para o Exame de Urina. Projeto 36:000.02-003. Rio de Janeiro, abr. 2005.
50. Hengstler KAR, Hammann R, Fahr AM. Evaluation of BBL CHROMagar Orientation medium for detection and presumptive identification of urinary tract pathogens. *Journal of Clinical Microbiology*. 1997; 35 (11): 2773-7.
51. Penna, HAO. Infecções Urinárias: Diagnóstico. *Jornal de Pediatria*. 1979; 1: 29-39.
52. St John A, Boyd JC, Lowes AJ, Price CP. The use of urinary dipstick tests to exclude urinary tract infection. A systematic review of the literature. *American Journal of Clinical Pathology*. 2006; 126 (3):428-36.
53. Foxman, B. The epidemiology of urinary tract infection. *Nature Reviews Urology*. 2010; 7: 653–60.

54. Taneja N, Chatterjee SS, Singh M, Sharma M, Sharma SK. Validity of Quantitative Unspun Urine Microscopy, Dipstick Test Leucocyte Esterase and Nitrite Tests in Rapidly Diagnosing Urinary Tract Infections. *Journal of the Association of Physicians of India*. 2010; 58: 485-7.
55. dos Santos JC, Weber LP, Perez LRR. Evaluation of Urinalysis Parameters to Predict Urinary-Tract Infection. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2007; 11(5): 479-81.
56. Okada H, Sakai Y, Kawabata G, Fujisawa M, Arakawa S, Hamaguchi Y et al. Automated Urinalysis. Evaluation of the Sysmex UF – 50. *American Journal of Clinical Pathology*. 2001; 115 (4):605-10.
57. Schifman R, Wieden M, Brooker J, Chery M. Bacteriuria screening by direct bioluminescence assay of ATP. *Journal of Clinical Microbiology*. 1984; 20(4): 644-8.
58. Evans R, Davidson MM, Sim LRW, Hay AJ. Testing by Sysmex UF-100 flow cytometer and with bacterial culture in a diagnostic laboratory: a comparison. *Journal of Clinical Pathology*. 2006; 59 (6): 661-2.
59. Pezzlo MT, Amsterdam D, Anhalt JP, Lawrence T, Stratton NJ, Vetter EA et al. Detection of bacteriuria and pyuria by URISCREEN, a rapid enzymatic screening test. *Journal of Clinical Microbiology*. 1992; 30 (3): 680-4.
60. Kim SY, Kim YJ, Lee SM, Hwang SH, Kim HH, Son HC et al. Evaluation of the Sysmex UF-100 Urine Cell Analyzer as a Screening Test to Reduce the Need for Urine Cultures for Community-Acquired Urinary Tract Infection. *American Journal of Clinical Pathology*. 2007; 128 (6):922-5.
61. Pieretti B, Brunati P, Pini B, Colzani C, Congedo P, Rocchi M et al. Diagnosis of Bacteriuria and Leukocyturia by Automated Flow Cytometry

Compared with Urine Culture. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010; 48 (11): 3990-6.

62. Wu T, Williams E, Koo S, MacLowry J. Evaluation of three bacteriuria screening methods in a clinical research hospital. *Journal of Clinical Microbiology*. 1985; 21 (5): 796-9.

63. Patel HD, Livsey AS, Swann RA, Bukhari SS. Can urine dipstick testing for urinary tract infection at point of care reduce laboratory workload? *Journal of Clinical Pathology*. 2005; 58 (9): 951-4.

64. St John A, Boyd JC, Lowes AJ, Price CP. The use of urinary dipstick tests to exclude urinary tract infection. *American Journal of Clinical Pathology*. 2006; 126 (3): 428-436.

65. Devillé WLJM, Yzermans JC, van Duijn NP, Bezemer PD, van der Windt DAWM, Bouter LM. The urine dipstick test useful to rule out infections. A meta-analysis of the accuracy. *BioMed Central Urology*. 2004; 4 (1):4. doi: 10.1186/1471-2490-4-4.

66. Kadkhoda K, Manickam K, DeGagne P, Sokolowski P, Pang P, Kontzie N et al. UF-1000i™ flow cytometry is an effective screening method for urine specimens. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2011; 69 (2):130-6.

67. Alvarez-Barrientos A, Arroyo J, Cantón R, Nombela C, Sánchez-Pérez M. Applications of flow cytometry to clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*. 2000; 13 (2):167–95.

68. Semeniuk H, Noonan J, Gill H, Church D. Evaluation of the Coral UTI Screen system for rapid automated screening of significant bacteriuria in a regional centralized laboratory. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2002; 44 (1):7–10.

69. Kellogg JA, Manzella JP, Shaffer SN, Schwartz BB. Clinical relevance of cultures versus screens for the detection of microbial pathogens in urine specimens. *American Journal of Medicine*. 1987; 83 (4): 739-45.
70. Ivancic V, Mastali M, Percy N, Gornbein J, Babbitt JT, Li Y et al. Rapid antimicrobial susceptibility determination of uropathogens in clinical urine specimens by use of ATP bioluminescence. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008; 46 (4):1213–9.
71. Okada H, Sakai Y, Miyazaki S, Arakawa S, Hamaguchi Y, Kamidono S. Detection of significant bacteriuria by automated urinalysis using flow cytometry. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000; 38 (8): 2870-2.
72. Falbo R, Sala R, Signorelli S, Venturi N, Signori S, Brambilla P. Bacteriuria screening by automated whole-field image-based microscopy reduces the number of urine cultures. *Journal of Clinical Microbiology*. 2012; 50 (4): 1427-9.
73. Broeren MA, Bahceci S, Vader HL, Arents NL. Screening for urinary tract infection with the Sysmex UF-1000i urine flow cytometer. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; 49 (3):1025–9.
74. Karakukcu C, Kayman T, Ozturk A, Torun YA. Analytic performance of bacteriuria and leukocyturia obtained by UriSed in culture positive urinary tract infections. *Clinical Laboratory*. 2012; 58(1-2): 107-11.
75. Mclsaac WJ, Low DE, Biringir A, Pimlott N, Evans M, Glazier R. The impact of empirical management of acute cystitis on unnecessary antibiotic use. *Archives of Internal Medicine*. 2002; 162 (5):600-5.
76. Marschal M, Wienke M, Hoering S, Autenrieth IB, Frick JS. Evaluation of 3 different rapid automated systems for diagnosis of urinary tract infections. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2012; 72 (2): 125–30.

77. Bem-Ezra J, Bork L, McPherson RA. Evaluation of the Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer. *Clinical Chemistry*. 1998; 44 (1): 92-5.
78. Hannemann-Pohl K, Kampf SC. Automation of urine sediment examination: a comparison of Sysmex UF-100 automated flow cytometer with routine manual diagnosis (microscopy, test strips and bacterial culture). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 1999; 37 (7): 753-64.
79. Okada H, Shirakawa T, Gotoh A, Kamiyama Y, Muto S, Ide Y et al. Enumeration of bacterial cell numbers and detection of significant bacteriuria by use of new flow cytometry-based device. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006; 44 (10): 3596-9.
80. Roggeman S, Zaman Z. Safely reducing manual urine microscopy analyzes by combining urine flow cytometer and strip results. *American Journal of Clinical Pathology*. 2001; 116: 872-8.
81. Van der Zwet WC, Hessels F, Canbolat F, Deckers MM. Evaluation of the Sysmex UF-1000i® urine flow cytometer in the diagnostic work-up of suspected urinary tract infection in a Dutch general hospital. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2010; 48 (12): 1765-71.
82. Gessoni G, Valverde S, Penzo L, Maturi P, Giacomini A, Antico F et al. Diagnosis of acute Urinary Tract Infections Using Sysmex UF-100. *Sysmex Journal International*. 2004; 14 (1): 18-22.
83. Zaman Z, Fogazzi GB, Garigali G, Croci MD, Bayer G, Kránicz T. Urine sediment analysis: Analytical and diagnostic performance of sediMAX - a new automated microscopy image-based urine sediment analyzer. *Clinica Chimica Acta*. 2010; 411(3-4): 147-54.
84. Block DR, Lieske JC. Automated urinalysis in the clinical lab. *Medical Laboratory Observer*. 2012; 44(10): 8 -10

85. Jolkkonen S, Paattiniemi EL, Kärpanoja P, Sarkkinen H. Screening of urine samples by flow cytometry reduces the need for culture. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010; 48 (9): 3117-21.
86. Manoni F, Fornasiero L, Ercolin M, Tinello A, Ferrian M, Hoffer P et al. Cutoff values for bacteria and leukocytes for urine flow cytometer Sysmex UF – 1000i in urinary tract infections. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2009; 65 (2): 103-7.

## 9. ANEXOS

### ANEXO 1

**Parecer do Comitê de Ética, protocolo número 402/2010 (CAAE: 0302.0.146.000-10)**



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

[www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html](http://www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html)

CEP, 25/05/10  
(Grupo III)

**PARECER CEP:** Nº 402/2010 (Este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto).  
**CAAE:** 0302.0.146.000-10

#### I - IDENTIFICAÇÃO:

**PROJETO: "PROPOSTA DE ALGORITMO PARA TRIAGEM E INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL DA INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO".**

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Mayara Hidalgo Magri Martinez

**INSTITUIÇÃO:** Hospital das Clínicas/UNICAMP

**APRESENTAÇÃO AO CEP:** 10/05/2010

**APRESENTAR RELATÓRIO EM:** 25/05/11 (O formulário encontra-se no *site* acima).

#### II - OBJETIVOS

Avaliar a aplicação do sistema automatizado LabUmat + Urised como método de triagem para a investigação de infecção no trato urinário. Avaliar a compatibilidade de resultados das análises de rotina realizadas no equipamento automatizado com os resultados quantitativos da urocultura. Estabelecer valores de corte para os parâmetros leucócito-esterase, nitrito, leucócitos, bactérias e leveduras e avaliar seu desempenho na triagem de uroculturas negativas ou positivas.

#### III - SUMÁRIO

No período de 12 meses serão avaliadas amostras de urina, encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica para análise de rotina de urina e de urocultura, de pacientes de ambos os sexos, adultos ou crianças, atendidos nos Ambulatórios ou enfermarias do HC/Unicamp. Não serão solicitados procedimentos e/ou amostras adicionais para nenhum paciente como também não haverá contato com qualquer paciente. O material a ser utilizado é aquele enviado pelo médico responsável pelo paciente e após emissão do laudo final dos exames, as amostras serão descartadas de acordo com as resoluções da Anvisa. Todas as técnicas descritas no projeto fazem parte da rotina do diagnóstico laboratorial. O LabUmat é um analisador automatizado de tiras reagentes e trabalha pelo método de fotometria de reflexão. Com base na informação da onda de luz refletida, são calculados os valores de parâmetros de componentes da urina como resultado da avaliação. O UriSed é um analisador automático para análise de sedimento urinário que possui um software de processamento de imagem com identificação e classificação de até 15 diferentes partículas.

#### IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Projeto apresenta introdução teórica adequada, com metodologia descrita de maneira objetiva e clara. Cronograma e orçamento estão descritos no projeto e adequados aos objetivos do projeto. Pelo motivo do pesquisador não ter contato com os pacientes, e por se tratar de

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP  
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126  
Caixa Postal 6111  
13083-887 Campinas - SP

FONE (019) 3521-8936  
FAX (019) 3521-7187  
cep@fcm.unicamp.br

- 1 -



material de coleta de rotina onde não serão solicitadas amostras adicionais, solicita-se a dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

#### V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, a dispensa do Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, bem como todos os anexos incluídos na pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

#### VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

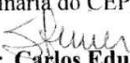
O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e).

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

#### VII – DATA DA REUNIÃO

Homologado na V Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 25 de maio de 2010.

  
**Prof. Dr. Carlos Eduardo Steiner**  
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
FCM / UNICAMP

## ANEXO 2

 <p>Hospital das Clínicas UNICAMP</p>	<h3>Divisão de Patologia Clínica</h3> <h2>VALIDAÇÃO DE SISTEMAS ANALÍTICOS QUANTITATIVOS</h2>	 <p>Patologia Clínica MEDICINA LABORATORIAL HC - UNICAMP</p>
--	---	---

### ESTUDO DE CARREAMENTO

SELECIONAR UMA AMOSTRA DE CONCENTRAÇÃO BAIXA (B) EM QUANTIDADE SUFICIENTE PARA 11 ALÍQUOTAS

SELECIONAR UMA AMOSTRA DE CONCENTRAÇÃO ALTA (A) EM QUANTIDADE SUFICIENTE PARA 10 ALÍQUOTAS

ANALISAR AS AMOSTRAS DE ACORDO COM A SEQUENCIA DESCRITA ABAIXO:

- B
- B
- B
- A
- A
- B
- A
- A
- B
- B
- B
- A
- A
- B
- A
- A
- B
- A
- A
- B

- CALCULAR A MÉDIA DAS ALÍQUOTAS DE CONCENTRAÇÃO BAIXA ANALISADAS APÓS UMA ALÍQUOTA DE CONCENTRAÇÃO BAIXA (= B-B) E A MÉDIA DAS ALÍQUOTAS DE CONCENTRAÇÃO BAIXA ANALISADAS APÓS UMA ALÍQUOTA DE CONCENTRAÇÃO ALTA = (A-B) CALCULAR O DP DAS LEITURAS B-B
- CALCULAR O CARREAMENTO = MÉDIA B-B - MÉDIA A-B
- CRITÉRIO DE ACEITAÇÃO – Até 3DP DAS LEITURAS B-B



**Divisão de Patologia Clínica**  
**VALIDAÇÃO DE SISTEMAS ANALÍTICOS**  
**QUANTITATIVOS**



**ESTUDO DE CARREAMENTO**

Equipamento \_\_\_\_\_ Analito \_\_\_\_\_ Operador/ Data \_\_\_\_\_

Reagente Fornecedor/Lote \_\_\_\_\_ Calibrador Fornecedor/Lote \_\_\_\_\_

Concentração Baixa \_\_\_\_\_ Concentração Alta \_\_\_\_\_

<b>ESTUDO DE CARREAMENTO</b>		
DOSAGEM	AMOSTRA	RESULTADOS
1	B	
2	B	
3	B	
4	A	
5	A	
6	B	
7	A	
8	A	
9	B	
10	B	
11	B	
12	B	
13	A	
14	A	
15	B	
16	A	
17	A	
18	B	
19	A	
20	A	
21	B	
MÉDIA ALÍQUOTAS B-B =		MÉDIA ALÍQUOTAS A-B =
CARREAMENTO = MÉDIA ALÍQUOTAS B-B - MÉDIA ALÍQUOTAS A-B		

## ANEXO 3

	<b>Divisão de Patologia Clínica</b>	
	<b>VALIDAÇÃO DE SISTEMAS ANALÍTICOS QUANTITATIVOS</b>	

### PRECISÃO – REPETIBILIDADE

Equipamento \_\_\_\_\_ Analito \_\_\_\_\_ Concentração \_\_\_\_\_

Reagente Fornecedor/Lote \_\_\_\_\_ Calibrador Fornecedor/Lote \_\_\_\_\_

CV% INTRA-CORRIDA Declarado pelo Fabricante \_\_\_ Erro Aleatório aceitável \_\_\_

<b>PRECISÃO: ESTUDO PRELIMINAR</b>		
<b>OPERADOR/ DATA</b>	<b>AMOSTRA NORMAL</b>	<b>AMOSTRA PATOLÓGICA</b>
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
<b>MÉDIA</b>		
<b>DP</b>		
<b>CV%</b>		

IDENTIFICADO OUTLIERS OU DISCREPANCIAS GROSSEIRAS? \_\_\_\_\_

CONTINUIDADE DO ESTUDO APROVADA? SIM  NÃO

APROVADO POR \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_\_

## ANEXO 4

### ESTUDO DE PRECISÃO: REPRODUTIBILIDADE

	<b>Divisão de Patologia Clínica</b>	
	<b>VALIDAÇÃO DE SISTEMAS ANALÍTICOS QUANTITATIVOS</b>	

Equipamento \_\_\_\_\_ Analito \_\_\_\_\_ Concentração \_\_\_\_\_

Reagente Fornecedor/Lote \_\_\_\_\_ Calibrador Fornecedor/Lote \_\_\_\_\_

CV%ENTRE-CORRIDA Declarado pelo Fabricante \_\_\_\_ Erro Aleatório aceitável \_\_\_\_

OPERADOR / DATA		AMOSTRA NORMAL	AMOSTRA PATOLÓGICA
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
<b>MÉDIA</b>			
<b>DP</b>			
<b>CV%</b>			

APROVADO POR \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_\_