

Kelly Krempser, Paula V Bottini, Celia R Garlipp
Seção de Líquidos Biológicos, Divisão de Patologia Clínica / HC / UNICAMP
e-mail: liqbiol@unicamp.br

RESUMO

Apenas a bilirrubina direta (BD) é encontrada em amostras de urina e sua presença pode ser um sinal precoce de doença hepática. Sua detecção através das tiras reagentes para urinálise baseia-se em uma reação de acoplamento em meio ácido da BD com sal de diazônio estabilizado e consequente formação de cromógeno rosado a vermelho sendo a intensidade da cor proporcional a concentração de bilirrubina na amostra. Vale lembrar que esta reação pode sofrer interferência de diversas substâncias que causam alterações na cor normal da urina tais como metabólitos de diversas drogas muito utilizadas na prática clínica e, quando positiva, deve ser confirmada. Tradicionalmente esta confirmação é realizada através do teste de Fouchet que é uma reação manual, qualitativa e utiliza reagentes preparados "in-house" o que dificulta sua padronização e controle de qualidade. Este estudo teve o objetivo de avaliar a concordância entre teste de Fouchet qualitativo e dosagem quantitativa de bilirrubina direta como teste confirmatório para bilirrubina positiva na tira reagente. Foram analisadas 112 amostras de urina (41 negativas e 71 positivas para BD) analisadas através de tira reagente (LabStrip U11 Plus GL), com leitura automatizada (LabUMat 2, 77Elektronika). Todas as amostras selecionadas foram submetidas ao teste de Fouchet qualitativo e à dosagem de bilirrubina direta automatizada (AU5800, Beckman). Os resultados foram tabulados e concordância entre os métodos avaliada pelo teste Kappa sendo a reação de Fouchet considerada como padrão-ouro. Considerando-se o valor de corte da bilirrubina direta $\leq 0,80$ mg/dL obtivemos uma concordância de 97% entre os métodos ($\kappa=0,9420$ e $p<0,0001$), sensibilidade de 97% e especificidade de 98%. Nossos dados demonstram que a dosagem de BD na urina é uma excelente alternativa ao tradicional teste manual de Fouchet como teste confirmatório para presença de BD em amostras de urina com a vantagem de ser uma análise rápida, precisa e automatizada.

INTRODUÇÃO

Apenas a bilirrubina direta ou conjugada (BD) é encontrada em amostras de urina e sua presença pode ser um sinal precoce de doença hepática, estando relacionada às icterícias obstrutivas e hepato-celulares (hepatites, cirrose hepática). A detecção da bilirrubina é realizada através das tiras reagentes para urinálise e baseia-se em uma reação de acoplamento em meio ácido da BD com sal de diazônio estabilizado e consequente formação de cromógeno rosado a vermelho sendo a intensidade da cor proporcional a concentração de bilirrubina na amostra. É uma das reações mais sujeitas a sofrer interferência de diversas substâncias que causam alterações na cor normal da urina tais como metabólitos de diversas drogas que contêm tinturas de azo, nitrofurantoína e riboflavina e são muito utilizadas na prática clínica. Quando presentes estas substâncias podem dar origem a cores atípicas na área reagente. Assim, quando a reação para bilirrubina é positiva esta deve ser confirmada. Tradicionalmente esta confirmação é realizada através do teste de Fouchet que é uma reação manual, qualitativa e utiliza reagentes preparados "in-house" o que dificulta sua padronização e controle de qualidade

OBJETIVO

Este estudo teve o objetivo de avaliar a concordância entre teste de Fouchet qualitativo e dosagem quantitativa automatizada de bilirrubina na urina como teste confirmatório para bilirrubina positiva na tira reagente

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas 112 amostras de urina sendo 41 negativas e 71 positivas para BD analisadas através de tira reagente (LabStrip U11 Plus GL), com leitura automatizada (LabUMat 2, 77Elektronika). Todas as amostras selecionadas foram submetidas ao teste de Fouchet qualitativo e à dosagem de bilirrubina direta automatizada (AU5800, Beckman). Os resultados foram tabulados e a concordância entre os métodos avaliada pelo teste Kappa sendo a reação de Fouchet considerada como padrão-ouro.

RESULTADOS

Considerando o valor de corte da bilirrubina direta $<0,80$ mg/dL obtivemos uma concordância de 97% entre os métodos ($\kappa=0,9420$ e $p<0,0001$), sensibilidade de 97% e especificidade de 98% (tabelas 1 e 2).

TABELA 1: Fouchet versus dosagem de BD

	FOUCHET POSITIVO	FOUCHET NEGATIVO
BD > 0,80 mg/dL	39	2
BD $\leq 0,80$ mg/dL	1	70

TABELA 2 - Teste Kappa

Concordância observada	0,9732
Concordância esperada	0,5383
Kappa	0,9420
Z (Kappa)	9,9709
(p-valor)	< 0,0001

COMENTÁRIOS E CONCLUSÃO

Teste confirmatório detecta uma mesma substância com sensibilidade e/ou especificidade igual ou superior ao teste realizado ou utiliza uma metodologia diferente para detectar a mesma substância. Reações positivas para bilirrubina devem sempre ser confirmadas, pois, apesar de algumas tiras reagentes e equipamentos para sua leitura possuírem área para compensação de cor, esta área é a mais sujeita a fornecer resultados falso-positivos.

A técnica mais utilizada para confirmação de uma reação positiva para bilirrubina através da tira reagente é a reação de Fouchet. Esta é uma reação manual, qualitativa que utiliza reagentes preparados "in-house". Por suas características é uma reação trabalhosa, difícil de padronizar e não dispõe de controle de qualidade comercial seja para controle interno ou externo. Por outro lado, a dosagem quantitativa de bilirrubina direta é um ensaio colorimétrico realizado em analisadores bioquímicos automatizados. Assim, fica claro que a validação e padronização de uma reação totalmente automatizada, que utiliza reagentes comerciais prontos para uso, como teste confirmatório para pesquisa de bilirrubina positiva nas tiras reagentes para urinálise agrega grande valor a rotina de urinálise.

Nossos dados demonstram que a dosagem de BD na urina é uma excelente alternativa ao tradicional teste manual de Fouchet como teste confirmatório para presença de BD em amostras de urina com a vantagem de ser uma análise rápida, precisa e automatizada

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrioli, Adagmar; org Carmen Paz Oplustil – Função Renal e Exame de Urina – Coleção 156 perguntas e respostas, Sarvier, 2012 – São Paulo, ISBN 978-85-7378-233-2
- Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): Inovação no Laboratório Clínico. Automação no exame de urina. Célia Regina Garlipp, Paula Virginia Bottini. Capítulo 17: 208-214 ISBN 9788573683863 Organizadores: Nairo Maçakazu Sumita et AL, 464p – Editora Manole, SP, 2019