

**Marila Gaste Martinez**

**Avaliação dos diferentes métodos de análise do dismorfismo eritrocitário, assim como a quantificação da proteinúria e a albuminúria na determinação da origem de hematúria.**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-graduação em  
Fisiopatologia em Clínica Médica da  
Faculdade de Medicina de Botucatu  
– UNESP para obtenção do título de  
Mestre em Fisiopatologia em Clínica  
Médica

Luis Cuadrado Martin  
- Orientador –

Vanessa dos Santos Silva  
- Co-orientadora -

**Botucatu-SP**

**2013**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Martinez, Marila Gaste.

“Avaliação dos diferentes métodos de análise do dismorfismo eritrocitário, assim como a quantificação da proteinúria e a albuminúria na determinação da origem de hematúria” / Marila Gaste Martinez. – Botucatu : [s.n.], 2013

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Luis Cuadrado Martin

Capes: 40101134

1. Hematúria. 2. Aparelho urinário – Doenças. 3. Urina - Análise.  
4. Eritrocitos. 5. Proteinúria. 6. Albuminúria. 7. Microscopia.

Palavras-chave: Dismorfismo eritrocitário, acantócitos, codócitos, proteinúria, albuminúria, microscópio óptico convencional, microscópio de contraste de fase.

**Marila Gaste Martinez**

**Avaliação dos diferentes métodos de análise do dismorfismo eritrocitário, assim como a quantificação da proteinúria e a albuminúria na determinação da origem de hematúria.**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-graduação em  
Fisiopatologia em Clínica Médica da  
Faculdade de Medicina de Botucatu  
– UNESP para obtenção do título de  
Mestre em Fisiopatologia em Clínica  
Médica

**Botucatu-SP**

**2013**



---

*Dedicatória*

---

*Dedico este trabalho a:*

***Deus***

*Por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar os caminhos nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades;*

***Minha Mãe Vanderci Gaste Martinez***

*Meu exemplo de mulher, pelo amor e dedicação, por sua dedicação, pelo amor que me fez mais forte, fazendo entender que sou capaz de ir mais além, por tantas vezes que abdicastes teus sonhos para realizar os meus e abristes mão das tuas vontades para realizar os meus caprichos. A você minha linda que desde o começo me incentivou a busca de novos conhecimentos, me dando conselhos, contribuindo para o meu crescimento. Esta vitória também é sua.*

***Ao meu amado Pai Jose Carlos Martinez (in memoriam)***

*Pai agradeço a você por tudo que hoje sou... Se sei o que é ser uma mulher independente, de caráter e personalidade é porque me espelhei em você. Só eu sei o quanto está sendo difícil essa vida sem você e como queria que estivesse ao meu lado neste momento, sentado na primeira fila como sempre me dizia, vivenciando mais essa vitória. Você sempre me deu tudo de melhor. Meu herói, melhor amigo, você foi e sempre será o melhor pai do mundo. Onde estiver, saiba que você é o responsável por este momento tão marcante em minha vida. Eternas Saudades!*

*As minhas irmãs Melissa e Mariana Gaste Martinez*

*Companheiras, amigas inseparáveis, meus maiores exemplos, sempre me dando conselhos, me incentivando a nunca desistir e me apoiando nas minhas decisões, por participarem de todos os momentos bons e difíceis nesta trajetória e pela amizade que com certeza será eterna.*

*A minha Avó Conceição Ap. dos Santos Martinez*

*Por seu exemplo de força, inteligência e por nunca me deixar desistir por mais difícil que fosse o caminho a trilhar.*

*Rodrigo Orfeu Mariano*

*Meu porto seguro, meu grande amor, a você, por ser talvez o meu maior admirador e incentivador, por dividir comigo todos os momentos destas e outras conquistas, e em especial, por estar ao meu lado nos dias mais difíceis ajudando-me a vencer cada obstáculo, por seu carinho amor e amizade.*

*Aos meus avôs José Martinez e Jose Gaste (in memoriam)*

*Que com suas alegrias, me mostravam o outro lado da vida sempre sorrindo! Muitas Saudades!*

*Aos meus tios e Padrinhos Paulo Sergio Martinez e Conceição C. Martinez*

*Que sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos, Obrigada por todo o carinho e cumplicidade, minha segunda família quem sempre poderei contar.*

*Aos meus primos Paulo Cesar e Marcos e minhas primas Ana Paula e Patrícia*

*Meus irmãos de coração, que estarem sempre presente em todos os momentos de minha vida.*

*As minhas amigas de ontem hoje e sempre*

*Sueli, Fernanda, Anabele, Thais, Deinha, Andréia (Perse), Carol (Venk's), Vivian e Paulinha, por sempre me apoiarem em todos os momentos alegres ou tristes, pelas risadas, pelos laços atados nesses anos de convivência e por todas as experiências compartilhadas. Suas lindas Amo vocês.*

*Aos meus amigos queridos*

*Alexandre (Spit), Fabrício (Dalva), Eduardo (Du), Luciano (Lu), Felipe (toca), Juber e Sandro, que trago na lembrança e no coração, pelo apoio constante, vibrando por cada vitória, por compreenderem minhas ausências e cobrarem minha presença em momentos inesquecíveis.*

*A minha "sogra" Heloisa*

*Que talvez não saiba a importância que teve em mais esta conquista, sempre me apoiando com seu carinho e amizade!*

*A "neninha"*

*Que sempre me incentivou com seu jeitinho simples, a não desistir nunca. Obrigada!*

The background of the page is a light blue color with a pattern of numerous small, circular, blue-tinted cells, some of which have a darker blue or orange center, resembling a microscopic view of tissue or a biological sample.

---

*Agradecimiento Especial*

---

## *Agradecimentos especiais*

*Ao meu Orientador Luis Cuadrado Martin,*

*Sou inteiramente grata por essa orientação que ultrapassa este trabalho, bem como o imenso carinho nas horas mais difíceis de minha vida e nos momentos de dificuldade, agradeço o privilégio de ter confiado em mim e me ajudar a concretizar este sonho. Muito Obrigada!*

*A minha Co-orientadora Vanessa dos Santos Silva*

*Minha admiração por você vai além do trabalho, mulher esposa, mãe dedicada, médica, pesquisadora e acima de tudo uma grande amiga. Obrigada por tudo!*



---

*Agradecimientos*

---

## *Agradecimentos*

*Agradeço a Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP-, pela existência e permissão para a realização deste trabalho.*

*A todos os pacientes participantes deste estudo, pois sem eles não seria possível a realização desta pesquisa.*

*A Dra. Paula Bottini na qual me concedeu a oportunidade de realizar meu treinamento em dismorfismo eritrocitário no Laboratório de análises clínicas da UNICAMP. Obrigada por esta grande oportunidade.*

*Aos funcionários da Pós-graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu, que com muito préstimo, sempre estiveram à disposição para esclarecer e auxiliar-me em qualquer dúvida durante o período do curso de mestrado. Especialmente a Ana Mengue, pelos momentos partilhados, sem esmorecimento e a todos os professores no qual tive a honra de ter tido aula e que fizeram parte deste caminhar.*

*A Dra. Carmen Amaro que colaborou com a execução deste trabalho disponibilizando os pacientes do ambulatório de litíase renal, obrigada pela amizade e pela imensa ajuda.*

*Agradeço a Dra. Adriana Polachini do Valle, que me autorizou a utilizar os serviços do Laboratório de Análises Clínicas sempre com um sorriso no rosto, me incentivado na execução deste trabalho. Obrigada por ter sido atenciosa comigo, mesmo quando estava repleta de afazeres.*

*Obrigada a Dra. Maria Luiza C. S. Oliveira, bióloga do laboratório de Patologia que me ensinou as técnicas de coloração descritas neste trabalho, sempre me auxiliando quando precisava com todo carinho e atenção.*

*Ao Prof. Dr. Roberto Jorge da Silva Franco pelo incentivo a minha pesquisa e amizade, antes mesmo de me tornar aluna regular do curso de Fisiopatologia em Clínica Médica.*

*Ao Dr. Newton e ao Prof Dr. Pasqual Barretti, minha banca do exame de qualificação pelas críticas e sugestões apresentadas, pelo incentivo a seguir em frente, e a amizade. Obrigada.*

*Aos amigos do Laboratório de Análises Clínicas Marcos, Paula, Elena por terem me ensinado a técnica de urinálise e sempre me auxiliarem quando foi preciso. A Regina chefe do laboratório de Citologia que me disponibilizou este local, para que fosse executado o presente trabalho, além da amizade, carinho e admiração. Obrigada*

*As amigas do Laboratório de Análises Clínicas Rita Borges dos Santos e Aline Garcia Aun no auxílio da dosagem de proteinúria e albuminúria e a chefe do laboratório de Bioquímica Maria Saete Sartori, por ter permitido o desenvolvimento dessas análises e por me ensinar quando as dúvidas apareciam.*

*Aos Funcionários do Departamento de Clínica Médica, Elizângela, Mario, Bruno, Laura, Renato e Alexandre, pelos serviços prestados, pelo carinho e a amizade durante esses anos de convivência*

*Ao Gap em especial a Rita de Cássia que esteve disposta a me atender sempre que precisei, me auxiliando nas prestações de contas e dúvidas que surgiam, durante essa etapa de minha vida, além do respeito e carinho que cresceu no decorrer desses anos.*

*Ao estatístico José Eduardo Corrente, por ter me ajudado nas comparações estatísticas de curva ROC. Obrigada.*

*Aos funcionários do Comitê de Ética e Pesquisa no auxílio para a permissão e execução no desenvolvimento deste trabalho.*

*A minha amiga e professora de Inglês Priscila, que me auxiliou nas traduções. Obrigada.*

*A Fundação de Amparo a Pesquisa -FAPESP- pelo apoio financeiro concedido.*

*E a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho durante todos esses anos e me apoiaram em cada decisão. Muito Obrigada!*



---

*Epígrafe*

---

*“Sem sonhos, a vida não tem brilho. Sem metas, os sonhos não têm alicerces. Sem prioridade, os sonhos não se tornam reais. Sonhe, trace metas, estabeleça prioridade e corra riscos para executar seus sonhos. Melhor é errar por tentar do que errar por se omitir! Não tenha medo dos tropeços da jornada. Não podemos esquecer que nós, ainda que incompleto, fomos o maior aventureiro da história.”*

*(Augusto Cury)*

---

*Resumo*

---

## Resumo

Há discordância na literatura quanto à necessidade da realização da microscopia de fase para avaliação da origem da hematúria (glomerular ou não glomerular), isso mostra a necessidade de mais estudos para validar as modalidades de avaliação morfológica da hematúria. Os objetivos deste trabalho foram determinar o melhor ponto de corte da porcentagem dos diferentes padrões de células dismórficas na detecção da hematúria glomerular pelo microscópio óptico convencional e contraste de fase, verificar se a presença de proteinúria ou albuminúria pode auxiliar no diagnóstico da origem da hematúria e determinar o melhor ponto de corte para este parâmetro. Foram avaliadas de maneira cega 131 amostras de urina sendo 66 amostras de portadores de glomerulopatias e 65 amostras dos portadores de litíase renal da Faculdade de Medicina de Botucatu. Utilizaram-se amostras isoladas com densidade  $>1007$  e com mais de 5 hemácias por campo de grande aumento. Verificou-se a presença e a porcentagem de codócitos e acantócitos tanto em microscópio óptico convencional com sedimento fresco e fixado submetidos à coloração de Papanicolaou e Panótico rápido LB e sedimento urinário fresco avaliado em microscópio de contraste de fase, além de determinar o índice de proteinúria e o índice de albuminúria. Os resultados desses métodos foram comparados entre si. Realizou-se regressão linear e diagrama de Bland-Altman das hemácias dismórficas para comparar os diferentes métodos. Curvas ROC foram traçadas para determinar a área sob a curva (ASC) e o melhor ponto de corte (PC) foi determinado pela maior soma de sensibilidade e especificidade. Nesse ponto foram calculadas a sensibilidade (S) e especificidade (Es), Valor Preditivo Positivo (VPP) e Valor Preditivo Negativo (VPN).

No microscópio óptico convencional com sedimento urinário fresco, a ASC do dismorfismo eritrocitário total foi a que apresentou melhor resultado no diagnóstico da hematúria com ASC (IC 95%) de 0,93 (0,89-0,97), PC de  $\geq 26\%$  de hemácias dismórficas com S de 82%, Es de 94%, VPP de 93% e VPN de 84%. No microscópio de contraste de fase a ASC dos acantócitos apresentou a melhor performance no diagnóstico da hematúria com ASC (IC 95%) de 0,93 (0,88-0,98) PC de  $\geq 8\%$  de hemácias dismórficas com S de 94%, Es de 89% VPP de 90% e VPN 94%. Assim como, no sedimento urinário fixado na coloração de Papanicolaou, o dismorfismo eritrocitário total apresentou melhor desempenho no diagnóstico da hematúria com ASC (IC 95%) foi de 0,91 (0,86-0,96) PC de  $\geq 20\%$  de hemácias dismórficas com S de 92%, Es de 85%, VPP de 86% e VPN 92% . Na coloração de Panótico rápido LB o dismorfismo total também apresentou o melhor resultado com ASC (IC 95%) de 0,90 (0,84-0,95) PC de  $\geq 20\%$  de hemácias dismórficas com S de 86%, Es de 85%, VPP de 85% e VPN de 86%. Todos os métodos de avaliação apresentaram poder discriminatório estatisticamente significativo, assim como a proteinúria que apresentou ASC (IC 95%) de 0,79 (0,71-0,87) PC de  $\geq 300$  mg/g de creatinúria com S de 67%, Es de 88% VPP de 84% e VPN de 71% e a albuminúria que obteve ASC (IC 95%) de 0,82 (0,75-0,90) PC de  $\geq 54$  mg/g de creatinúria com S de 76%, Es de 85% VPP de 83% e VPN de 77%. Em conclusão, este estudo mostrou que é possível verificar a origem da hematúria por meio da avaliação do dismorfismo eritrocitário no exame de urina, tanto por meio do microscópio óptico convencional com sedimento fresco ou fixado quanto pelo microscópio de contraste de fase. Apesar da proteinúria e albuminúria poderem ser utilizadas no auxílio do diagnóstico da origem da hematúria, a avaliação do dismorfismo eritrocitário foi o melhor método na diferenciação da hematúria glomerular.

**Palavras Chaves:** Dismorfismo eritrocitário, acantócitos, codócitos, proteinúria, albuminúria, microscópio óptico convencional, microscópio de contraste de fase.

---

*Abstract*

---

## **Abstract-**

There is disagreement over the literature regarding the performance of phase microscopy to assess the origin of hematuria (glomerular or nonglomerular). This shows the need for further investigation in order to validate the best form of morphological evaluation of hematuria. The aims of this study were to determine the optimal cutoff point percentage for different patterns of dysmorphic cells in the detection of glomerular hematuria by conventional optical microscopy and phase contrast microscopy, to verify whether the presence of proteinuria or albuminuria may assist in the diagnosis of hematuria and also to establish an optimal cutoff point for this parameter. One hundred thirty-one urine samples were blinded evaluated at the Faculdade de Medicina de Botucatu, 66 samples of patients with glomerulopathies and 65 samples of patients with nephrolithiasis. Isolated samples with density greater than 1007 and with more than 5 erythrocytes per high-power field were used. The presence and percentage of codocytes and acanthocytes were verified by conventional optical microscopy using fresh and fixed urinary sediment subjected to Papanicolaou and Panótico Rápido LB staining and fresh urinary sediment was evaluated by phase contrast microscopy. Proteinuria and albuminuria rates were determined. The results of these methods were compared using linear regression analysis and Bland-Altman diagram of dysmorphic red blood cells. ROC curve plots were generated to determine the area under the ROC curve (AUC) and also an optimal cutoff point with the highest sum of sensitivity and specificity. At this point, it was possible to calculate sensitivity (TPR) and specificity (ES), positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV).

In conventional optical microscope with fresh urinary sediment, the AUC of total dysmorphic erythrocytes showed the best result for the diagnosis of hematuria with

AUC (IC 95%) of 0,93 (0,89-0,97), cutoff point  $\geq 26\%$  of dysmorphic RBC's with TPR of 82%, ES of 94%, PPV of 93% and NPV of 84%. In phase contrast microscope, the AUC of acanthocytes had the best performance for the diagnosis of hematuria with AUC (IC 95%) of 0,93 (0,88-0,98), cutoff point  $\geq 8\%$  of dysmorphic RBC's, TPR of 94%, ES of 89%, PPV of 90% and NPV of 94%. As well as in fixed urinary sediment of Papanicolaou staining, the total dysmorphic erythrocytes had the best performance for the diagnosis of hematuria, with AUC (IC 95%) of 0,91 (0,86-0,96), cutoff point  $\geq 20\%$  of dysmorphic RBC's with TPR of 92%, ES of 85%, PPV of 86% and NPV of 92%. In Panótico Rápido LB staining, total dysmorphism also showed the best result with AUC (IC 95%) of 0,90 (0,84-0,98), cutoff point  $\geq 20\%$  of dysmorphic RBC's with TPR of 0,86%, ES of 85%, PPV of 85% and NPV of 86%. All methods of evaluation showed a statistically significant discriminatory power, as well as proteinuria which showed AUC (IC 95%) of 0,79 (0,71-0,87), cutoff point  $\geq 300\text{mg/g}$  of creatininuria with TPR of 67%, ES of 88%, PPV of 84% and NPV of 71%, and also for albuminuria which showed AUC (IC 95%) of 0,82 (0,75-0,90), cutoff point  $>54\text{mg/g}$  of creatininuria with TPR of 76%, ES of 85%, PPV of 83% and NPV of 77%. In conclusion, this study showed that it is possible to confirm the origin of hematuria by evaluating the erythrocyte dysmorphism in urinalysis using conventional optical microscope with fresh and fixed sediment and also phase contrast microscope. Although proteinuria and albuminuria can be used to diagnose the origin of hematuria, evaluation of erythrocyte dysmorphism was the best method to differentiate glomerular hematuria.

**Key words:** Erythrocyte Dysmorphism, Acanthocytes, Codocytes, Proteinuria, Albuminuria, Optical Conventional Microscope, Phase Contrast Microscope.

---

*Lista de Quadros*

---

*Lista de Quadros*

*Quadro 1: Algoritmo diagnóstico da hematúria.....4*

---

*Lista de Figuras*

---

## *Lista de Figuras*

- Figura 1: Hemácias isomórficas: sedimento fresco, microscópio óptico convencional.....27*
- Figura 2: Hemácias isomórficas: sedimento fresco, microscópio contraste de fase.....27*
- Figura 3: Hemácias isomórficas: sedimento fixado, coloração Papanicolaou.....28*
- Figura 4: Hemácias isomórficas: sedimento fixado, coloração de Panótico Rápido LB.....28*
- Figura 5: Codócitos: sedimento fresco, microscópio óptico convencional.....29*
- Figura 6: Codócitos: sedimento fresco, microscópio de contraste de fase.....29*
- Figura 7: Codócitos: sedimento fixado, coloração de Papanicolaou.....30*
- Figura 8: Codócitos: sedimento fixado, coloração de Panótico rápido.....30*
- Figura 9: Acantócito: sedimento fresco, microscópio óptico convencional.....31*
- Figura 10: Acantócito: sedimento fresco, microscópio de contraste de fase.....31*
- Figura 11: Acantócito: sedimento fixado, coloração de Papanicolaou.....32*
- Figura 12: Acantócito: sedimento fixado, coloração de Panótico rápido LB.....32*
- Figura 13: Curvas ROC referentes ao distorformismo eritrocitário total no microscópio óptico convencional a fresco (dism.total oc), codócitos (codócitos oc) acantócitos (acantócitos oc) e hemácias crenadas (hemácias crenadas oc).....34*
- Figura 14: Curvas ROC referentes ao distorformismo eritrocitário total no microscópio de contraste de fase (dism.total cf), codócitos (codócitos cf), acantócitos (acantócitos cf) e hemácias crenadas (hemácias crenadas cf).....37*
- Figura 15: Curvas ROC referentes ao distorformismo eritrocitário total do sedimento fixado na coloração de Papanicolaou observado no microscópio óptico convencional (dism.total fp), codócitos (codócitos fp), acantócitos (acantócitos fp).....40*

<b>Figura 16:</b> <i>Curvas ROC referentes ao dismorfismo eritrocitário total do sedimento fixado na coloração de Panótico rápido LB observado no microscópio óptico convencional (dism.total fpan), codócitos (codócitos fpan), acantócitos (acantócitos fpan).....</i>	<i>43</i>
<b>Figura 17:</b> <i>Curvas ROC referentes ao Índice de Albuminúria e ao Índice de Proteinúria.....</i>	<i>46</i>
<b>Figura 18:</b> <i>Gráfico de regressão linear referente ao dismorfismo eritrocitário total observado no microscópio de contraste de fase e o dismorfismo eritrocitário total observado no microscópio óptico convencional.....</i>	<i>52</i>
<b>Figura 19:</b> <i>Gráfico de regressão linear referente ao dismorfismo eritrocitário total observado no microscópio de contraste de fase e o dismorfismo eritrocitário total observado no microscópio óptico convencional na coloração de Papanicolaou.....</i>	<i>53</i>
<b>Figura 20:</b> <i>Gráfico de regressão linear referente ao dismorfismo eritrocitário total observado no microscópio de contraste de fase e o dismorfismo eritrocitário total observado no microscópio óptico convencional na coloração de Panótico.....</i>	<i>54</i>
<b>Figura 21:</b> <i>Gráfico de regressão linear referente à porcentagem de codócitos observado no microscópio de contraste de fase e a porcentagem de codócitos observado no microscópio óptico convencional.....</i>	<i>55</i>
<b>Figura 22:</b> <i>Gráfico de regressão linear referente ao número de codócitos observado no microscópio de contraste de fase e o número de codócitos observado no microscópio óptico convencional na coloração de Papanicolaou.....</i>	<i>56</i>

<b>Figura 23:</b> Gráfico de regressão linear referente ao número de codócitos observado no microscópio de contraste de fase e o número de codócitos observado no microscópio óptico convencional na coloração de Panótico.....	57
<b>Figura 25:</b> Gráfico de regressão linear referente ao número de acantócitos observado no microscópio de contraste de fase e o número de acantócitos observado no microscópio óptico convencional na coloração de Papanicolaou.....	58
<b>Figura 26:</b> Gráfico de regressão linear referente ao número de acantócitos observado no microscópio de contraste de fase e o número de acantócitos observado no microscópio óptico convencional na coloração de Panótico.....	59
<b>Figura 27:</b> Diagrama de Bland- Altman referente ao distorção eritrocitária total (Óptico-Fase) (%) e $(Fase+Óptico/2)$ (%).....	60
<b>Figura 28:</b> Diagrama de Bland- Altman referente ao distorção eritrocitária total (Papanicolaou-Fase) (%) e $(Fase+Papanicolaou/2)$ (%).....	61
<b>Figura 29:</b> Diagrama de Bland- Altman referente ao distorção eritrocitária total (Panótico- Fase) (%) e $(Fase+Panótico/2)$ (%).....	62
<b>Figura 30:</b> Diagrama de Bland- Altman referente ao número de Codócitos (Óptico-Fase) (%) e $(Fase+Óptico/2)$ (%).....	63
<b>Figura 31:</b> Diagrama de Bland- Altman referente ao número de Codócitos (Papanicolaou-Fase) (%) e $(Fase+Papanicolaou/2)$ (%).....	64
<b>Figura 32:</b> Diagrama de Bland- Altman referente ao número de Codócitos (Panótico-Fase) (%) e $(Fase+Panótico/2)$ (%).....	65

**Figura 33:** Diagrama de Bland- Altman referente ao número de Acantócitos (Óptico-Fase) (%) e  $(Fase+Óptico/2)$  (%)..... 66

**Figura 34:** Diagrama de Bland- Altman referente ao número de Acantócitos (Papanicolaou-Fase) (%) e  $(Fase+Papanicolaou/2)$  (%)..... 67

**Figura 35:** Diagrama de Bland- Altman referente ao número de Acantócitos (Panótico-Fase) (%) e  $(Fase+Panótico/2)$  (%)..... 67

---

*Lista de Tabelas*

---

## *Lista de Tabelas*

<i>Tabela 1: Dados demográficos e clínicos.....</i>	<i>25</i>
<i>Tabela 2: Áreas sob curva do dismorfismo eritrocitário no microscópio óptico convencional a fresco do total de células dismórficas, codócitos, acantócitos hemácias crenadas.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabela 3: Áreas sob curva do dismorfismo eritrocitário no microscópio de contraste de fase codócitos, acantócitos e hemácias crenadas.....</i>	<i>38</i>
<i>Tabela 4: Áreas sob curva referentes ao dismorfismo eritrocitário do sedimento fixado na coloração de Papanicolaou observado em no microscópio óptico convencional, codócitos, acantócitos.....</i>	<i>41</i>
<i>Tabela 5: Áreas sob curva referentes ao dismorfismo eritrocitário do sedimento fixado na coloração de Panótico rápido observado em microscópio óptico convencional, codócitos, acantócitos .....</i>	<i>44</i>
<i>Tabela 6: Áreas sob curva referentes ao Índice de albuminúria e ao Índice de proteinúria.....</i>	<i>47</i>
<i>Tabela 7: Pontos de corte, Sensibilidade, Especificidade, Valores Preditivos Positivos, Valores Preditivos Negativos, das hemácias dismórficas observadas em cada método e do Índice de Proteinúria e Albuminúria.....</i>	<i>49</i>
<i>Tabela 8: Comparação entre as curvas ROC (p-valores) referente às áreas sob curva das hemácias dismórficas nos diferentes métodos aplicados.....</i>	<i>50</i>

*Tabela 9: Comparação entre as curvas ROC (p-valores) referente às áreas sob curva do Índice de Proteinúria e do Índice de Albuminúria em relação à maior área encontrada nos diferentes métodos de avaliação.....50*

---

*Lista de Abreviações*

---

- *IC: Intervalo de confiança.*
- *dism.total cf: dismorfismo eritrocitário total, contraste de fase.*
- *codócitos cf: codócitos, contraste de fase.*
- *acantocitos cf: acantócitos, contraste de fase.*
- *hemácias crenadas cf: hemácias crenadas, contraste de fase.*
- *dism.total fp: dismorfismo eritrocitário total fixado na coloração de Papanicolaou.*
- *codócitos fp: codócitos fixado na coloração de Papanicolaou.*
- *acantócitos fp: acantócitos fixado na coloração de Papanicolaou.*
- *dism.total fpan: dismorfismo eritrocitário total fixado na coloração de Panótico rápido L.B.*
- *codócitos fpan: codócitos fixado na coloração de Panótico rápido L.B.*
- *acantócitos fpan: fixado na coloração de Panótico rápido L.B.*

## *Lista de Abreviações*

- *GESF: Glomeruloesclerose Segmentar e Focal.*
- *IgA: Nefropatia por IgA.*
- *GN mesangial: Glomerulonefrite Mesangial.*
- *DLM: Doença por Lesão Mínima.*
- *GNMP: Glomerulonefrite Membranoproliferativa.*
- *GN Crescêntica: Glomerulonefrite Crescêntica.*
- *GNM: Glomerulonefrite Membranosa.*
- *GNC: Glomerulonefrite Crônica Esclerosante,*
- *GNDA: Glomerulonefrite Difusa Aguda.*
- *PC: Ponto de corte.*
- *Sensib.: Sensibilidade.*
- *Especif.: Especificidade.*
- *VPP: Valores Preditivos Positivos.*
- *VPN: Valores Preditivos Negativos.*
- *ASC: Área Sob a Curva.*
- *dism.total oc: dismorfismo eritrocitário total, óptico convencional.*
- *codócitos oc: codócitos, óptico convencional.*
- *acantócitos oc: acantócitos, óptico convencional.*
- *hemácias crenadas oc: hemácias crenadas, óptico convencional.*

---

*Sumário*

---

## SUMÁRIO

*Lista de Quadros*

*Lista de Figuras*

*Lista de tabelas*

*Lista de abreviações*

*Resumo*

*Abstract*

<b>1 – Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>2- Objetivos.....</b>	<b>16</b>
2.1- Objetivo geral.....	16
2.2- Objetivos Específicos.....	16
<b>3- Material e Métodos.....</b>	<b>17</b>
3.1- Critérios de inclusão.....	17
3.1.2- Critérios de exclusão.....	17
3.2- Pacientes.....	17
3.3- Amostras.....	18
3.3.1- Coleta de Urina.....	18
3.3.2- Dismorfismo eritrocitário.....	18
3.3.3- Conservação da Amostra.....	19
3.4- Delimitação.....	19
3.5- Métodos de análises.....	19

3.6- <i>Avaliação em microscópio de fase</i> .....	20
3.7- <i>Técnica de fixação</i> .....	20
3.7.1- <i>Papanicolaou</i> .....	20
3.7.2- <i>Panótico Rápido LB</i> .....	21
3.8- <i>Proteinúria</i> .....	21
3.9- <i>Albuminúria</i> .....	22
3.10- <i>Análises estatísticas</i> .....	22
<b>4- Resultados</b> .....	<b>24</b>
<b>5- Discussão</b> .....	<b>69</b>
<b>6- Conclusões</b> .....	<b>85</b>
<b>7- Referências Bibliográficas</b> .....	<b>86</b>
7.1- <i>Referências da Web</i> .....	95
<b>8- Apêndice</b>	

The background of the page is a microscopic image showing numerous circular cells. Most cells have a light blue or cyan hue, while a few are a distinct orange or brown color. The cells are scattered across the entire page, creating a textured, scientific appearance.

---

*Introdução*

---

## 1- Introdução

Hematuria e Proteinúria são sinais de doenças renais ou do trato urinário. A acessibilidade dos testes de urina e a natureza insidiosa da doença renal enfatizam a importância clínica da urinálise, pois muitos pacientes desenvolvem essas doenças com poucos sintomas evidentes ou ocorrem de maneira assintomática, porém podem ser detectadas em um simples exame de urina. (JAYNE, 2009)

A detecção precoce da doença renal desempenha um papel fundamental para impedir a sua progressão para um estágio final da doença. A história médica e o exame físico podem fornecer indícios que apontam para o diagnóstico. Para complementar esses dados, testes laboratoriais e exames regulares de urina são realizados.

O exame do sedimento urinário é uma ferramenta simples, disponível, acessível e indispensável na abordagem diagnóstica de pacientes. Os objetivos da investigação são, além do esclarecimento diagnóstico, excluir doenças graves. Além disso, a microscopia pode detectar as seguintes anormalidades: hematuria, leucocitúria, presença de cilindros, cristais, leveduras e outros microorganismos. (HUSSEN *et al.*, 2004), contribuindo para esclarecimento dos diagnósticos diferenciais.

Nesse sentido, para a mensuração dos elementos celulares utiliza-se atualmente a amostra isolada de urina, em geral analisando-se o sedimento de uma alíquota de 10 a 15 ml, centrifugada a 1.500 – 3000 rotações por minuto (rpm), durante 3 a 10 minutos.

A pesquisa semi-quantitativa é uma técnica mais simplificada, que se baseia na contagem de eritrócitos por campo de grande microscópico. Em indivíduos sadios o número normal de eritrócitos é menor do que um por campo microscópico de

aumento 400. Em geral faz-se necessário percorrer três ou quatro campos para que seja identificada uma hemácia (FOGAZZI *et al.*, 1989). Consideram-se normais limites de até duas (LARCOM & CARTER, 1948; SCHUMANN & SCWEITZER, 1991) ou três hemácias por campo (SAYER, MCCARTHY, SCHIMDT, 1990).

Devido a sua complexidade, a hematúria apresenta diversas propostas de classificação. (KESSON, 1978). Quanto a sua localização, as hematúrias podem ser classificadas em glomerulares, de origem nefrológica, ou não-glomerulares, de origem urológica.

Quanto à intensidade do sangramento, são identificadas como macroscópicas, quando a coloração da urina sugere a presença de sangue, ou microscópicas, quando as hemácias são detectadas somente pela sedimentoscopia urinária. Quanto à frequência, podem se apresentar de forma permanente (presença constante de hemácias no sedimento urinário), isolada (episódio único de hematúria), ou recorrente, quando há períodos de remissão do episódio hematúrico. Finalmente, quanto à repercussão clínica, são referidas como sintomáticas e assintomáticas. (BASTOS, *et al.*, 1998).

A hematuria é um sinal comum a muitas doenças, de diferentes pontos do aparelho urinário. Por este motivo a detecção de seu local de origem vem a ser uma questão de grande importância. Pode originar-se no parênquima renal, em suas estruturas glomerulares, vasculares ou intersticiais ou outras regiões do trato urinário, pelve renal, ureteres, bexiga, próstata ou uretra (STAPLETON, 1987; MOHAMMAD *et al.*, 1993). Investigar a procedência da hematuria significa, muitas vezes, avaliar toda anatomia do trato urinário e, freqüentemente, faz-se necessária a pesquisa de doenças sistêmicas para esclarecer sua etiologia (FAIRLEY & BIRCH, 1982; STAPLETON, 1987; PILLSWORTH *et al.* 1987).

A investigação da hematúria requer anamnese e exame físico detalhado, bem como a utilização de exames complementares adequados, sejam laboratoriais ou de imagem. A observação clínica e exames complementares simples devem ser realizados de maneira adequada para evitar procedimentos agressivos, onerosos e muitas vezes desnecessários. A hemorragia glomerular é classicamente acompanhada pela presença de proteinúria e cilindros hemáticos. Entretanto, nem todos os pacientes portadores de glomerulonefrite apresentam tais alterações. (KESSON, *et al.*, 1978, BASTOS *et al.*, 1998, PENIDO, 1995).

Diante disto, a existência de meios de investigação que permitam distinguir a hematúria glomerular da não glomerular com antecipação aos exames invasivos seria muito útil para orientar mais precocemente a abordagem (BIRCH & FAIRLEY, 1982; PILLSWORTH *et al.*, 1987).

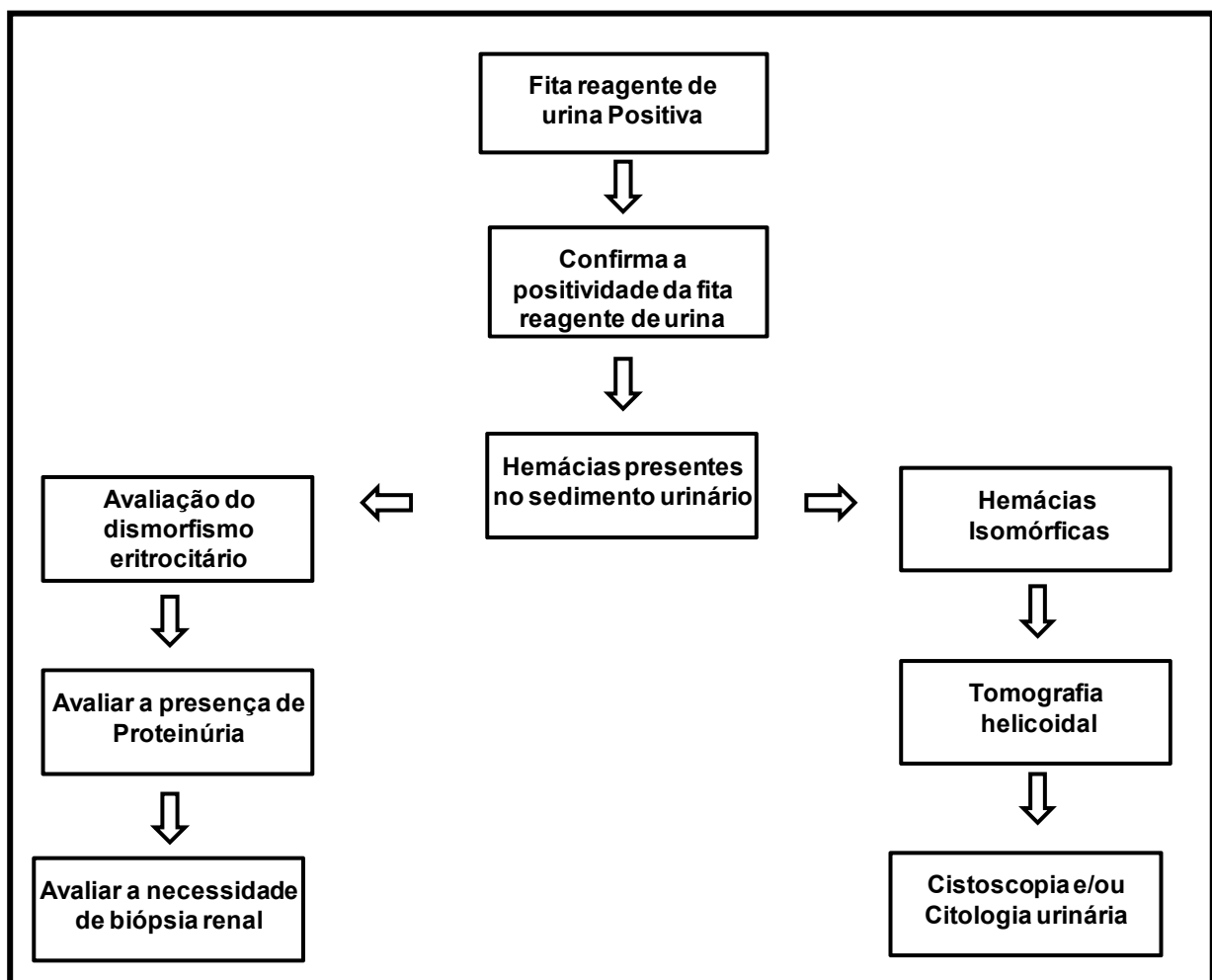
Atualmente, têm-se valorizado achados na sedimentoscopia urinária, principalmente aqueles baseados na morfologia das hemácias, indicando com maior precisão o local do sangramento, se glomerular ou não-glomerular. (BIRCH, 1983, GROSSFELD *et al.*, 2001).

O grau de hematúria pode ser medido quantitativamente por determinação do número de hemácias por mililitro de urina excretada, pelas fitas reagentes de urina e pela análise do sedimento urinário (contagem dos sedimentos). (GROSSFELD *et al.*, 2001).

Separar as hematúrias glomerulares das não-glomerulares nos parece extremamente conveniente, pois são a partir desta diferenciação que indicaremos os exames complementares posteriores os quais, na maioria das vezes nos permitirão firmar o diagnóstico etiológico da hematúria. (Bastos, *et al* 1998).

Segundo Cohen e Brown (2003) logo após a confirmação da hematúria na avaliação do sedimento urinário, a análise da morfologia das hemácias é o fator que diferencia se o paciente vai ser investigado para doenças glomerulares ou não glomerulares. Isso significa que, a partir do achado de dismorfismo eritrocitário, pode ser sugerida biópsia renal, especialmente em pacientes com proteinúria associada à hematúria e, em caso contrário, tomografia helicoidal, cistoscopia podem ser indicadas para confirmar ou afastar litíase, neoplasias de bexiga ou outras causas de hematúria não glomerular (Quadro1).

**Quadro 1: Algoritmo diagnóstico da hematúria**



Para análise do sedimento urinário, o microscópio óptico convencional é o método mais acessível e disponível. Porém a análise por meio de microscópio de contraste de fase parece ser a mais indicada para a determinação do dismorfismo eritrocitário. O custo deste equipamento é maior que o microscópio óptico convencional e não está disponível em grande parte dos serviços de urinálise, Mas a visualização da morfologia das hemácias neste método parece ser mais fácil e clara, sendo até então, considerado o melhor método de avaliação de dismorfismo eritrocitário.

Em 1979, Birch e Fairley publicaram um editorial onde foi sugerido que a hematúria glomerular poderia ser distinguida das demais através da análise da forma dos eritrócitos em microscopia de contraste de fase e demonstraram a possibilidade de distinção entre hematúrias glomerulares e não-glomerulares, baseando-se não apenas no encontro de proteinúria e cilindrúria, mas também na diferenciação morfológica das diversas populações de hemácia na urina. Neste ponto a urinálise é fundamental, pois é uma propedêutica simples barata e não invasiva e que pode ser repetida quantas vezes forem necessárias.

Segundo esses autores, a hematúria não-glomerular caracterizar-se-ia por hemácias urinárias isomórficas, com tamanho uniforme, conteúdo de hemoglobina e morfologia semelhantes às encontradas na circulação sanguínea. Por outro lado, na hematúria glomerular, as hemácias se apresentariam dismórficas, com alterações em forma, cor, volume e conteúdo de hemoglobina, podendo-se encontrar diversas projeções em suas membranas celulares, bem como heterogeneidades citoplasmáticas em forma bicôncava ou esférica. Sendo assim, entre as diversas formas de hemácias observadas, os acantócitos e as células *glomerular shapes* (G1)

são os mais específicos para lesões glomerulares (NAGAHAMA *et al.*, 2005, HEINE *et al.*, 2004, KÖHLER, 1991).

As células *glomerular shapes* (G1) foram descritas inicialmente por Tomita e Cols (1992) que utilizou uma classificação proposta por Chu *et al.* (1990) esta consiste em dividir os eritrócitos em morfologias glomerulares “G” e não glomerulares ou normais “N”. Estes se subdividem em números, sendo G1 a forma mais importante de eritrócito glomerular, que as caracterizavam como hemácias em forma de rosca e com uma ou mais projeções vesiculares na superfície celular (o correspondente ao Acantócito da classificação de BESSIS, (1972). Kitamoto e Cols (1993) observaram que a presença de  $\geq 5\%$  das células G1 em pacientes com hematúria é altamente sugestiva de hematúria glomerular. Nos estudos desses autores, o método mostrou-se altamente sensível (100%) e específico (100%), principalmente em urinas ácidas e concentradas.

Outro padrão de hemácias é o acantócito ou hemácia em forma de anel e com protusões citoplásmicas vesiculiformes na superfície (BESSIS; 1972, KÖHLER *et al.*; 1991) Estas células são muito semelhantes às células G1 e a identificação de um percentual  $\geq 5$  na urina de pacientes com hematúria glomerular apresenta uma especificidade de 98% e sensibilidade de 53%. Assim, a presença de um percentual  $\geq 5$  de hemácias G1 ou de acantócitos na urina de pacientes com hematúria é altamente sugestiva da origem glomerular. (SINGALA, *et al.*, 1978) e os Codócitos são hemácias em “alvo”, (“doughnut-like cell”) que vista lateralmente assume um aspecto de sino.

Além desses padrões, Bessis (1972), classifica as outras formas de hemácias na urina da seguinte forma: discócito; apresenta uma forma discóide com duas cavidades concêntricas, anulócito; como forma discóide plana com uma membrana

densa, esquizócito; forma fragmentada, freqüentemente mostrando-se com a forma de meio disco com duas ou três extremidades pontiagudas, podendo apresentar-se com um fragmento pequeno e irregular; estomatócito; com uma forma tubular, nízocito; com aspecto tri-côncavo.

Em urinas hipertônicas que foram armazenadas por um período de tempo excessivo, encontram-se hemácias crenadas (equinócitos). Em urinas hipotônicas em que ocorre a lise osmótica das hemácias com o vazamento da hemoglobina, encontram-se as chamadas “células fantasmas”. (JAYNE 2009, NAGAHAMA *et al.*, 2005, HEINE *et al.*, 2004) Essas alterações não tem necessariamente significado de lesão glomerular.

Dessa forma, mesmo aceito que as alterações morfológicas das hemácias constituem um útil recurso diagnóstico na investigação da causa da hematúria, uma padronização metodológica não é universalmente seguida, mesmo a etiopatogênese das transformações estruturais das hemácias glomerulares ainda não é suficientemente esclarecida, fatores como trauma mecânico, alterações osmóticas, influencia de enzimas e fagocitose eritrocitária, estejam envolvidos nas deformidades dos eritrócitos (SURITA, 1995).

Quando o dismorfismo ocorre devido a um trauma mecânico, as modificações da forma da hemácia ocorreriam durante sua transposição pela membrana basal glomerular. Os eritrócitos impulsionados pela pressão hidrostática no capilar glomerular passariam através de poros da parede glomerular. Como resultados desta passagem surgiriam às deformações da membrana celular, de natureza lipoprotéica e conseqüentemente “amoldável” (STAPLETON, 1987).

As alterações osmóticas ocorrem em conseqüência da hipotonicidade do néfron distal (“stress hipotônico”), este efeito poderia ser anulado em situações de

hematúria maciça, onde eritrócitos glomerulares poderiam ser eliminados na urina de forma isomórfica (CHANG, 1984, 1982; VAN ISEGHEM, *et al.* 1983).

Quando esse fator ocorre devido a influencia de enzimas, que liberadas dos lisossomos das células inflamatórias glomerulares atuam na membrana celular, deformando-a, ressaltando que nem todas as causas de hematúria glomerular são de natureza inflamatória, contradizendo esta teoria (ROTH *et al.* 1991a, 1991b).

A fagocitose de hemácias, papel que seria exercido por células epiteliais tubulares, também é considerada como possível fator das alterações morfológicas, Scuetz *et al.* (1985) observaram que o aumento do volume urinário por diuréticos ou ingestão hídrica forçada promove significativa porcentagem de eritrócitos dismórficos. Entendem por isso que “forças tubulares” causam deformações, mas não concluem quais são os fatores em questão. As alterações ocorreriam durante a passagem das hemácias pelos túbulos, conseqüentes aos efeitos osmóticos, enzimáticos ou mecânicos.

A própria origem da hematúria glomerular não possui uma explicação universalmente aceita, considera-se que o processo inflamatório glomerular possa promover alterações na parede capilar com formação de “poros” que permitam a transposição de eritrócitos dos capilares para o interior do espaço de Bowman e conseqüentemente aos túbulos (JAI-TRUG *et al.* 1983).

Ainda que desde a descrição original do dismorfismo eritrocitário muitos estudos tenham sido realizados, algumas questões permanecem polêmicas. Uma das controvérsias se refere à quantidade de hemácias dismórficas em relação às normais que seria considerada indicativa de hematúria glomerular. Alguns autores consideram hematúria a presença de cinco ou mais hemácias por campo microscópico de grande aumento (400x), após a centrifugação da amostra urinária.

(BASTOS, *et al* 1998, PENIDO 1995). Outros consideram hematúria um número superior a dez hemácias por campo (400x) (CHANG, 1984; ABDURRAMAN *et al.*, 1985; STAPLETON, 1987) outros autores citam como necessário encontrar 60% (LOPEZ-VERDE *et al.*1968), 75% (DANTAS *et al.* 1985), 80% (FASSET *et al.* 1982; RAMAN *et al*, 1986) ou outras proporções de hemácias “dismórficas”, cuja descrição também varia conforme o pesquisador para assegurar a origem glomerular da hematúria. Na definição de dismorfismo eritrocitário, Birch e Fairley (1979) consideraram o limite para a caracterização de hemorragia glomerular a presença de quatro ou mais diferentes agrupamentos de hemácias. Mesmo não definindo um valor percentual limítrofe de normalidade, esses autores já haviam observado que, quando maior fosse esse percentual, maior seria a probabilidade de lesão glomerular.

No entanto estudo posterior, do sedimento urinário de 107 pacientes, com causas urológicas e nefrológicas conhecidas, observou que um valor de 40% de hemácias dismórficas era um ponto de corte confiável para diferenciar hematuria glomerular e não glomerular (SNOEK, *et al.*, 1994). A sensibilidade para o diagnóstico de uma causa de hematuria urológica foi de 100% e a especificidade de 66,7%, incluindo a ausência de eritrócitos ou cilindros hematúricos como um parâmetro adicional, a especificidade subiu para 88,1%.

Mais de 40% dos eritrócitos dismórficos em microscopia de contraste de fase foi diagnóstico para hematúria glomerular, principalmente quando o padrão dismórfico foi acompanhado pela descoberta dos cilindros eritrocitários (HUUSSEN, *et al.*, 2004). Nesse mesmo estudo o ponto de corte para microscopia de luz foi de 20 % de hemácias dismórficas.

Quanto ao valor limítrofe para o encontro de acantócitos, Köhler *et al.*, (1991) relataram especificidade de 98% e sensibilidade de 52% para hematúria glomerular, considerando a presença de pelo menos 5% na urina. Recentemente, Catala *et al* (2002) adotando esse mesmo limite, também evidenciaram bons resultados, com sensibilidade de 88% e especificidade de 100% para lesão glomerular. Com essas análises a maioria dos autores prefere adotar o valor de  $\geq 5\%$  de acantócitos ou de células G1 como referência para caracterização da hematúria de origem glomerular, obtendo melhores resultados em relação o percentual de 80% de dismorfismo. (GROSSFELD *et al.*, 2001, BIRCH & FAIRLEY, 1979).

Para resumir, hematúria glomerular é caracterizada na maioria dos trabalhos, pela presença de cilindros eritrocitários com mais de 40% dos eritrócitos dismórficos em um padrão polimórfico, enquanto na hematúria não glomerular, menos de 40% de hemácias dismórficas são encontrados, um padrão monomórfico existe e cilindros eritrocitários estão ausentes. Entretanto, apenas dois trabalhos, avaliaram o melhor ponto de corte para hematúria glomerular utilizando-se do tratamento estatístico apropriado que é a curva ROC (BARROS SILVA *et al.* 2010). Este trabalho mostrou que o melhor ponto de corte para microscópio de contraste de fase foi de 30% e para microscópio óptico comum foi de 40%, divergindo da literatura previamente apresentada no corrente projeto. E Pillsworth *et al.* (1987) adotou um ponto de corte de 14% com uma sensibilidade de 88% e especificidade de 94%. Assim, evidencia-se a necessidade de mais estudos que avaliem o melhor ponto de corte do dismorfismo eritrocitário no diagnóstico da hematúria glomerular.

Rotineiramente, o sedimento é analisado por microscopia óptica convencional baseia-se no princípio de que o material interposto no microscópio para observação promove modificações nestas propriedades da onda luminosa e são desta forma

perceptível. Chang (1984) e Roth *et al.* (1991), validaram o estudo do dimorfismo com a microscopia ótica convencional ao adotarem colorações (corante de Wright e Papanicolaou respectivamente) para destacar os elementos figurados da sedimentoscopia urinária. Esses autores sustentam a possibilidade de execução em qualquer laboratório e também um menor custo, já que dispensa a necessidade de microscópio de contraste de fase, além de fornecer uma lâmina que pode ser revista sempre que se desejar.

Embora não realizada rotineiramente, o uso da microscopia de contraste de fase é uma estratégia bastante útil para a observação de detalhes estruturais dos elementos presentes no sedimento urinário.

Este tipo de microscopia que se propaga sob a forma de ondas eletromagnéticas, foi idealizado em 1934 por Zernicke (1955). O princípio desse tipo de microscopia é transformar as alterações de fase em alterações de amplitude que são visíveis e pode ser interpretada como diferenças de brilho, através de uma combinação de lentes que despolarizam a onda, acelerando ou retardando a relação de fase e produzindo um contraste positivo (escuro) ou negativo (brilhante) (DAVIS, 1983). Com isso, esse sistema de contraste de fase, que oferece melhor detalhamento das estruturas apresentadas, é hoje considerado o melhor método para a análise da sedimentoscopia e nos permite dispensar o uso de colorações especiais na urinálise. (BRODY *et al.*, 1968, BIRCH *et al.*, 1994).

As primeiras referências sobre o uso da microscopia de contraste de fase na análise da rotina laboratorial de exame de urina datam de 1968. Brody, Webster, Karl (1968) descrevem que a microscopia de contraste de fase permite a visualização e melhor definição de objetos transparentes à microscopia ótica convencional, freqüentes na urina não corada.

Sendo assim, para a diferenciação entre hematúria urológica e nefrológica, a microscopia de contraste de fase parece ser o melhor método de análise do sedimento urinário, principalmente para o estudo do dismorfismo eritrocitário. (HUSSEN *et al.*, 2004, BIRCH 1979, NAGAHAMA *et al.*, 2005, OSMANI *et al.* 1987, TOMITA *et al.* 1992).

O microscópio de contraste de fase mostrou sensibilidade de 90% e especificidade de 100% na detecção de hematuria glomerular, comparado com 82 e 100% com microscópio óptico comum, quando o ponto de corte para o dismorfismo eritrocitário de 20% foi utilizado como indicador de hematúria glomerular, a biópsia renal utilizada como padrão ouro para diagnosticar a doença glomerular (DINDA, *et al.* 1997).

Além da adoção do dismorfismo eritrocitário para a investigação de sangramento glomerular, existem outros marcadores laboratoriais para diferenciação entre as hematurias glomerulares e não glomerulares. (VASCONCELLOS *et al.*, 2005). Os cilindros hemáticos são estruturas formadas no interior dos túbulos renais com aprisionamento de hemácias pela muco proteína de Tamm-Horsfall em precipitação. É sinal específico, porém pouco sensível, assim, sua presença é altamente sugestiva de hematúria glomerular, muito embora sua ausência não exclua o diagnóstico de glomerulonefrite. (PENIDO, 1995, TROMPETER *et al.*, 1994)

Muitas vezes a presença de proteína no exame de urina sugere o diagnóstico de glomerulopatia. Há de se ressaltar, porém alguns aspectos deste sinal. Em primeiro lugar nem sempre a proteinúria está presente em glomerulopatias, por outro lado não se pode atribuir sua presença à existência de doença glomerular sem uma análise mais acurada da quantidade e qualidade da perda protéica urinária. (MALLICK & SHORT, 1992).

A quantificação da proteinúria (ou albuminúria) é importante no diagnóstico, indicação terapêutica e no prognóstico da doença renal. Quanto maior a proteinúria mais rápida a perda da função renal (ALVES, 2004). A proteinúria pode ser estratificada em três estágios: leve (0,15 a 1g/24h), moderada (1 a 3g/24h) e maciça (se  $> 3\text{g}/24\text{h}$  ou se  $> 40\text{mg}/\text{m}^2/\text{hora}$ ); ou ainda, se em urina de amostra única matinal com jejum, a relação proteína/creatinina está  $< 0,2$  (normal), entre 0,2 e 0,5 (proteinúria leve), entre 0,5 e 2 (proteinúria moderada) e  $> 2$  (proteinúria maciça ou nefrótica). Uma fração desta proteinúria é composta por albumina e obedece a um ritmo circadiano, sendo maior durante o dia na posição ortostática.

A presença de proteinúria inferior a 0,5g/24h sugere sangramento não-glomerular, e, em quantidade superior a 0,5-1g/24h lesão glomerular (PENIDO, 1995, TROMPETER *et al.*, 1994). Entretanto, conforme estudos de Fasset *et al.* (1982), existem casos de glomerulonefrite nos quais ocorre sangramento na ausência de proteinúria; assim, esse autor considerou a avaliação do dismorfismo crucial para a determinação da hematúria.

Nos últimos anos, muita importância tem sido atribuída ao valor da albuminúria. Essa alteração urinária foi inicialmente observada em pacientes diabéticos insulíndependentes e definida como sendo a excreção urinária de pequenas quantidades de albumina insuficientes para serem detectadas pelos métodos habituais de dosagem de proteínas, ou seja, uma elevação subclínica da excreção urinária de albumina 150mg/24horas (VIBERTI, *et al.*, 1982).

Quantitativamente, a definição de albuminúria varia com o tipo de amostra coletada e com a forma de expressão dos resultados. Das 150 mg/24horas de proteína encontrada na urina, cerca de 1/3 é albumina que atravessa o capilar glomerular, quantidade muito abaixo da sensibilidade das fitas reagentes, não sendo

assim rotineiramente detectada na urinálise de rotina (LEVEY *et al.*, 1991). É definida como albuminúria a excreção entre 30 e 300 mg/dia ou entre 20 e 200  $\mu$ g/minuto em urina de 12 horas ou entre 30 e 300mg/g de creatinina em amostra urinária isolada.

A albuminúria ocorre quando houver perda da seletividade da membrana basal glomerular para a carga, diminuição do catabolismo tubular da albumina normalmente filtrada, ou quando ocorrer uma alteração na hemodinâmica glomerular, como acontece na nefropatia diabética (DECKERT *et a.*, 1989, GLASSOCK *et al.*, 1995, FAVARO *et al.*, 1994).

Em revisão de literatura, encontraram-se apenas dois estudos que avaliaram o valor da albuminúria na predição de lesões glomerulares na presença de hematúria. A excreção de albumina urinária anormal, ainda que subclínica foi indicativa de lesão glomerular, e a associação de albuminúria e hematúria foi altamente sugestiva de hematúria glomerular em crianças (ASSADI, 2005). A albuminúria pode ser usada como preditor de hematúria glomerular. Estudo retrospectivo, em adultos, avaliou a presença de albuminúria como preditor de hematúria microscópica glomerular (EARDLEY *et al.*, 2004). Foram avaliados 169 pacientes, 119 destes com albuminúria negativa e 50 com albuminúria maior que 30 mg/g creatinina. Dentre os normoalbuminúricos, apenas 11% eram portadores de nefropatia por IgA. Ao contrário, dentre os pacientes portadores de albuminúria relevante, 48% tinham nefropatia por IgA. Esse autor considerou que a dosagem de albuminúria pode auxiliar os nefrologistas na decisão de indicar ou não biópsia renal em pacientes hematúricos, entretanto, em sua casuística, havia pouquíssimos casos de hematúria não glomerular. Dessa maneira, ainda há necessidade de mais

estudos para avaliar o valor da albuminúria na predição de lesões glomerulares na presença de hematúria.

Apesar da existência de estudos que avaliaram a predição da origem da hematúria (glomerular ou não glomerular), há discordância entre os autores desses estudos. Isto aponta para a necessidade de mais trabalhos para validar as várias modalidades de avaliação morfológica da hematúria na urinálise, além da interpretação conjunta tanto da proteinúria como da albuminúria para auxiliar o diagnóstico diferencial das hematúrias.

Dessa forma, têm-se as seguintes hipóteses.

- O dismorfismo eritrocitário pode ser avaliado por diferentes metodologias: microscopia de fase, óptica convencional ou lâminas fixadas.
- O melhor ponto de corte da porcentagem de dismorfismo para predição da origem da hematúria pode diferir de acordo com o método e com a célula dismórfica avaliada (dismorfismo eritrocitário total, codócito e acantócito).
- A quantificação da proteinúria e a albuminúria podem auxiliar na determinação da origem da hematúria.



---

*Objetivos*

---

## **2- OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GERAL**

Avaliar o papel da urinálise no diagnóstico da origem da hematúria.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar o melhor ponto de corte para a porcentagem dos diferentes padrões de células dismórficas na detecção da hematúria glomerular pelos métodos aplicados no estudo, tanto por meio do microscópio óptico convencional com sedimento fresco ou fixado quanto pelo microscópio de contraste de fase.
2. Verificar se a presença de proteinúria ou albuminúria pode auxiliar no diagnóstico da origem glomerular da hematúria e determinar o melhor ponto de corte para esta correlação.

The background of the page is a microscopic image showing numerous circular cells. Most cells are light blue with a darker blue outline, while a few are orange. The cells are scattered across the entire page.

---

*Material e Métodos*

---

### **3- MATERIAL E MÉTODOS**

Foram avaliadas de maneira cega 131 amostras de urina sendo 66 amostras de portadores de glomerulopatias e 65 amostras de portadores de litíase renal da Faculdade de Medicina de Botucatu.

#### **3.1- Critérios de inclusão**

- Pacientes portadores de glomerulopatias com hematúria de origem sabidamente nefrológica e confirmada por biópsia renal ou pacientes portadores de litíase renal com hematuria sabidamente urológica e confirmada por exame de imagem.

#### **3.1.2- Critérios de exclusão**

- Pacientes portadores de glomerulopatia que apresentaram litíase renal ou pacientes portadores de litíase que apresentaram glomerulopatias;
- Amostra de urinas de pacientes menstruadas;
- Amostra de urinas de pacientes com infecção no trato urinário;
- Amostra de urinas de pacientes com trauma renal;
- Amostra de urinas de pacientes que foram congeladas ou que tenham sido adicionados conservantes na amostra;
- Amostra de urinas de pacientes com grande quantidade de células escamosas epiteliais, pois dificulta a visualização da hematúria;
- Amostra de urinas de pacientes com densidade menor que 1007.

#### **3.2- Pacientes**

O tamanho amostral das 131 urinas foi calculado de maneira a detectar uma área sob a curva ROC de 0.65 com 50 % da amostra composta por hematúria glomerular, 50% não-glomerular e intervalo de confiança a 95%.

Este estudo obedeceu à resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP (março, FMB-PC-29/2010). Todos os pacientes que aceitaram livremente participar do estudo receberam as orientações da autora acerca da coleta da urina, e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e os pacientes com idade inferior a 18 anos foram consentidos pelos pais a participarem do estudo.

### **3.3- Amostras**

#### **3.3.1- Coleta de Urina**

Foram coletadas amostras isoladas do jato médio da primeira urina da manhã, colhida após a assepsia da região genital, e entregues no laboratório em até 2 horas após a coleta, sem sobrecarga hídrica ou realização de exercícios físicos intensos prévios. A coleta foi feita no ambiente do hospital das Clínicas, ou na casa dos pacientes, se estes fossem moradores de Botucatu. Não foram coletadas amostras no período menstrual, ou pós-trauma urinário recente (5 a 7 dias), para garantir a não contaminação da amostra.

#### **3.3.2- Dismorfismo eritrocitário**

Foram avaliadas pela autora deste trabalho, a presença e a porcentagem de hemácias isomórficas, codócitos, acantócitos e dismorfismo eritrocitário total que é a soma da porcentagem de codócitos e porcentagem dos acantócitos, na amostra de urina fresca tanto em microscópio de fase como em microscópio óptico convencional com lâmina fresca ou fixada. A presença de hemácias crenadas em sedimento fresco também foi avaliada.

### **3.3.3- Conservação da Amostra**

A urina coletada foi armazenada por um período máximo de 2 horas em temperatura ambiente. Não se adicionou conservante na amostra, estas não foram refrigeradas e nem congeladas.

### **3.4- Delineamento**

Após a coleta, as urinas dos pacientes foram encaminhadas para o observador, ressaltando que o observador não sabia o diagnóstico do paciente cuja urina foi analisada. Em seguida, outras alíquotas das amostras foram encaminhadas ao laboratório clínico, no qual foi realizada a dosagem da relação proteína/ creatinina e albumina/creatinina para diagnosticar a presença ou a ausência de proteinúria e albuminúria respectivamente e suas quantidades excretadas na urina.

### **3.5- Métodos de análises**

Foram utilizadas urinas com densidade maior que 1007 para garantir que não fossem amostras de urinas hipotônicas. Centrifugou-se 10 ml de urina durante 5 minutos numa velocidade de 1500 rpm, posteriormente, removeu-se 9,5 mL do líquido sobrenadante e gentilmente suspendeu-se o sedimento em 0,5 mL de urina restante do qual retirou-se pequena alíquota de 20 µL com uma pipeta automática. Colocou-se sobre uma lâmina lapidada 72 x 24 mm coberta por uma lamínula 24 x 32 mm, para o exame microscópico. Nessa alíquota identificaram-se as populações celulares e a presença de pelo menos cinco ou mais hemácias por campo microscópico de grande aumento (400x).

Amostras com mais de cinco hemácias por campo foram incluídas no estudo. Nova avaliação da hematúria foi feita na urina fresca analisada em microscópio óptico convencional, e microscópio de contraste de fase e fixada, avaliada em

microscópio óptico convencional. A porcentagem de codócitos e acantócitos assim como o dismorfismo eritrocitário total e hemácias crenadas, comparados entre si.

### **3.6- Avaliação em microscópio de contraste de fase:**

A mesma amostra utilizada para identificação de mais de cinco hemácias por campo foi imediatamente levada ao microscópio de contraste de fase para avaliar a presença de dismorfismo eritrocitário.

### **3.7- Técnica de fixação:**

As amostras foram coradas pelo método de Papanicolaou técnica utilizada para coloração de materiais citológicos e histológicos e o método de Panótico Rápido LB usado para coloração de lâminas hematológica.

#### **3.7.1- Papanicolaou**

O material fixado em lâmina foi submetido à ação de uma série de diluições de etanol absoluto até 70%, a ação de um corante nuclear (Hematoxilina de Harris), posteriormente a ação e alcoóis e corantes citoplasmáticos orange G e EA36 e finalmente a utilização e desidratante de álcool e xilol.

Os reagentes utilizados foram: Solução de Hematoxilina de Harris, hematoxilina de Harris (0,5%), alúmen potássico (10%) e óxido de mercúrio (0,25%); e a solução EA36: Verde Luz (0,2%), eosina amarela (0,2%) e marrom Bismark (0,05%), e solução de Orange G a 0,5%.

Para o armazenamento do material ele foi mantido em temperatura ambiente em local fresco e isento da incidência de luz solar e contaminação química ou biológica, e as lâminas observadas posteriormente quanto à contagem da porcentagem de codócitos e acantócitos assim como o dismorfismo eritrocitário total.

### **3.7.2- Panótico Rápido LB**

O Panótico Rápido LB baseia-se no princípio de coloração hematológica estabelecida por Romanowsky, atuado em 15 segundos. A extensão hematológica é submetida à ação de um fixador e duas soluções corantes, por meio de imersões de 5 segundos em cada, e ao final da última imersão encontra-se pronta para leitura.

Os reagentes utilizados foram: Panótico rápido 1, compõe-se de uma solução de triarilmetano a 0,1%, o Panótico rápido 2 compõe-se por uma solução de xantenos a 0,1% e o Panótico rápido 3 compõe-se de uma solução de tiazinas a 0,1%.

O armazenamento da amostra deve ser mantido em temperatura ambiente, em local fresco seco e protegido contra incidência direta de luz solar, permanecendo assim estável até a data de validade expressa em rótulo, isenta de contaminação química ou biológica. As lâminas fixadas também foram observadas posteriormente quanto à porcentagem de codócitos, a porcentagem de acantócitos e o dismorfismo eritrocitário.

### **3.8- Proteinúria**

Inicialmente a pesquisa de presença de proteinúria foi realizada em fitas reagentes de urina, pois essas fitas tradicionais são sensíveis para detectar a presença de proteinúria (exceto quando a constituição protéica não incluir albumina), porém não para a detecção de albuminúria.

A proteinúria foi avaliada em uma amostra de urina isolada, pois o uso da razão proteinúria/creatininúria é um método de mensuração menos sujeito a erros de coleta, principalmente quando utilizada a primeira amostra da manhã, calculando-se a relação da proteína pela creatinina em mg/g, pelo método de Química Seca através do procedimento operacional padrão do laboratório bioquímico (POP) desta

instituição. Após a medida e alicotagem da urina, colocou-se uma amostra no autoanalisador (Vitrox 950) e solicitou-se o teste, que dosou a proteína existente pela creatinina em mg/dl. Caso não se obtivesse o resultado dentro da linearidade do aparelho diluiu-se uma parte de urina mais duas partes de água deionizada e o resultado então deverão ser multiplicados pelo valor da diluição (1:3).

### **3.9- Albuminúria**

A albuminúria foi avaliada em amostra de urina isolada, e os resultados foram expressos em albuminúria por creatininúria sendo considerados normais valores abaixo de 30 mg de albumina/grama de creatinina, valores entre 30 e 300mg/g definem albuminúria. A albumina urinária foi detectada pela técnica de Turbidimetria, essa técnica apresenta sensibilidade adequada para a dosagem de proteínas em fluidos biológicos como a urina e consiste em medir a turbidez das soluções causada pela proteína precipitada pelo agente ácido sulfosalicílico. Em uma reação antígeno-anticorpo, a presença de complexos insolúveis reflete ou dispersa a luz que é proporcional a concentração dos imunocomplexos. Foi expressa a quantidade de albumina em mg/dl e dividida pela quantidade de creatinina em g/dl, assim o resultado final será expresso em mg/g.

### **3.10- Análises estatísticas**

Análises estatísticas foram efetuadas para determinação da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, além dos respectivos intervalos de confiança dos vários parâmetros utilizados para o diagnóstico da origem da hematúria.

Curvas ROC foram traçadas para verificar o poder discriminatório de cada análise por intermédio do método da maior soma de especificidade e sensibilidade (índice de Youden). Sendo que os valores encontrados nas áreas sob a curva,

foram considerados estatisticamente significantes caso o intervalo de confiança para 95% não interaja com o valor 0,5. Gráficos de Regressão linear foram traçados assim como o diagrama de Bland-Altman na avaliação do dismorfismo eritrocitário pelos vários métodos avaliados.

Posteriormente realizou-se a comparação entre curvas ROC utilizando o programa STATA, v.9.0. O teste utilizado para tal comparação surge de um ajuste de um modelo logístico considerando o diagnóstico (glomerular ou litiásico) como variável dependente e as demais (codocitos, etc) como variáveis independentes. Ajustado o modelo logístico, obtém-se as curvas ROC utilizando o comando *lroc*. Através do comando *roctab*, obtém-se a mesma curva e, conseqüentemente, a mesma área sob a curva. Fazendo, desse modo, o ajuste para cada variáveis explanatória, as comparações são feitas utilizando-se os valores preditos em cada situação através da aplicação de um teste qui-quadrado para cada ponto, ou seja, para cada valor predito, tabelas de contingência são formadas afim de verificar se, em cada ponto, existe diferença significativa entre as curvas. Esta diferença é então calculada pelo comando *rorcomp*, através de um teste qui-quadrado final. Caso haja diferença significativa entre as áreas, isto sugere que os modelos têm diferentes habilidades preditivas. Para dados paramétricos, foram expressas médias e desvio padrão. Foi considerado significativo  $p < 0,05$ .

---

## *Resultados*

---

#### 4- Resultados

A média de idade dos pacientes portadores de glomerulopatias foi de  $40,5 \pm 15,5$  variando de 9 a 70 anos, sendo quarenta e um pacientes do sexo feminino e vinte e cinco do sexo masculino. Nos portadores de litíase renal a média de idade foi de  $45,8 \pm 13,3$  variando de 17 a 83 anos, sendo quarenta e três pacientes do sexo feminino e vinte e dois pacientes do sexo masculino.

Dos portadores de litíase renal, cinquenta e seis pacientes eram de cor branca e nove de cor não-branca. Dos portadores de glomerulopatia, quarenta e oito eram de cor branca e dezoito não-brancos. Quanto ao resultado da biópsia renal destes pacientes, nove apresentaram glomeruloesclerose segmentar e focal, onze nefrite lúpica, dezessete, apresentaram nefropatia por IgA, quatro pacientes apresentaram glomerulonefrite mesangial, dois pacientes com doença por lesão mínima, um paciente apresentou glomerulonefrite membranoproliferativa, um paciente com glomerulonefrite crescêntica, dez com glomerulonefrite do tipo membranosa, sete com glomerulonefrite crônica esclerosante e quatro pacientes apresentaram glomerulonefrite difusa aguda, dados esses observados na tabela 1.

Vale ressaltar que em cada uma das amostras, foram avaliados 100 eritrócitos e classificadas de acordo com a morfologia apresentada, isomórfica (célula de padrão circular com conteúdo de hemoglobina normal), crenadas, codócitos (hemácias em alvo) e acantócitos (forma anelar com protusões citoplasmáticas vesiculares na superfície).

A mediana de hemácias por campo avaliadas foi de 13 para os dois grupos com intervalo interquartilício de 8 a 23 hemácias para os pacientes de glomerulopatias e de 8 a 13 hemácias nos pacientes de calculose renal. Todos

esses dados podem ser observados na tabela 1. Os dois grupos foram homogêneos em relação às variáveis avaliadas.

**Tabela 1: Dados demográficos e clínicos**

	Glomerulopatias (n=66)	Litíase renal (n=65)	p
Idade (anos)	40,5 ± 15,5	45,8 ± 13,3	0,906
Sexo feminino	41	43	0,765
Raça branca	48	56	0,497
<b>Anatomia Patológica</b>			
GESF	9	-	-
Nefrite lúpica	11	-	-
IgA	17	-	-
GN Mesangial	4	-	-
DLM	2	-	-
GNMP	1	-	-
GN Crescêntica	1	-	-
GNM	10	-	-
GNC	7	-	-
GNDAs	4	-	-
Hemácias (por campo)	13 (8 - 23)	13 (8 - 13)	0,201

**GESF:** Glomeruloesclerose Segmentar e Focal, **IgA:** Nefropatia por IgA, **GN mesangial:** Glomerulonefrite Mesangial, **DLM:** Doença por Lesão Mínima, **GNMP:** Glomerulonefrite Membranoproliferativa, **GN Crescêntica:** Glomerulonefrite Crescêntica, **GNM:** Glomerulonefrite Membranosa, **GNC:** Glomerulonefrite Crônica Esclerosante, **GNDAs:** Glomerulonefrite Difusa Aguda.

A figura 1 refere-se às hemácias isomórficas em sedimento urinário fresco, observadas em microscópio óptico convencional, a figura 2 refere-se às hemácias isomórficas também em sedimento urinário fresco, observadas em microscópio de contraste de fase.

A figura 3 observa-se as hemácias isomórficas avaliadas em sedimento urinário fixada pela coloração de Papanicolaou e a figura 4 hemácias isomórficas em sedimento urinário fixado pela coloração de panótico rápido LB observados em microscópio óptico convencional.

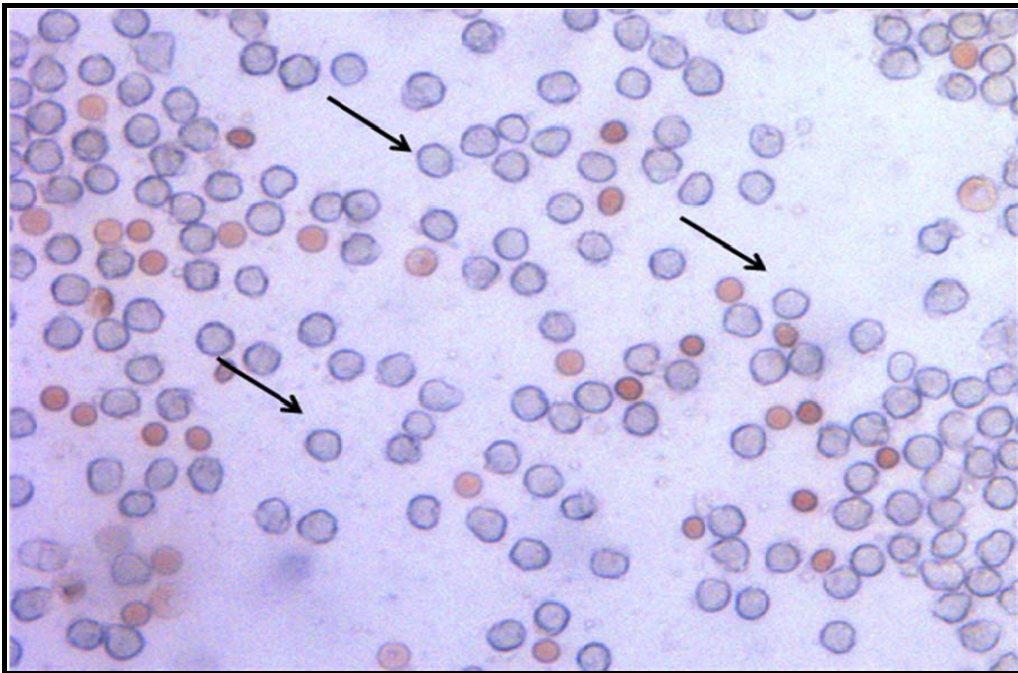
A figura 5 refere-se à presença de codócitos em sedimento urinário fresco, observados em microscópio óptico convencional. Na figura 6 encontram-se representados codócitos em sedimento urinário fresco, avaliados em microscópio de contraste de fase.

Na figura 7 observam-se codócitos avaliados em sedimento urinário fixado pela coloração de Papanicolaou e a figura 8 encontram-se representados codócitos fixados pela coloração de Panótico rápido LB observados em microscópio óptico convencional.

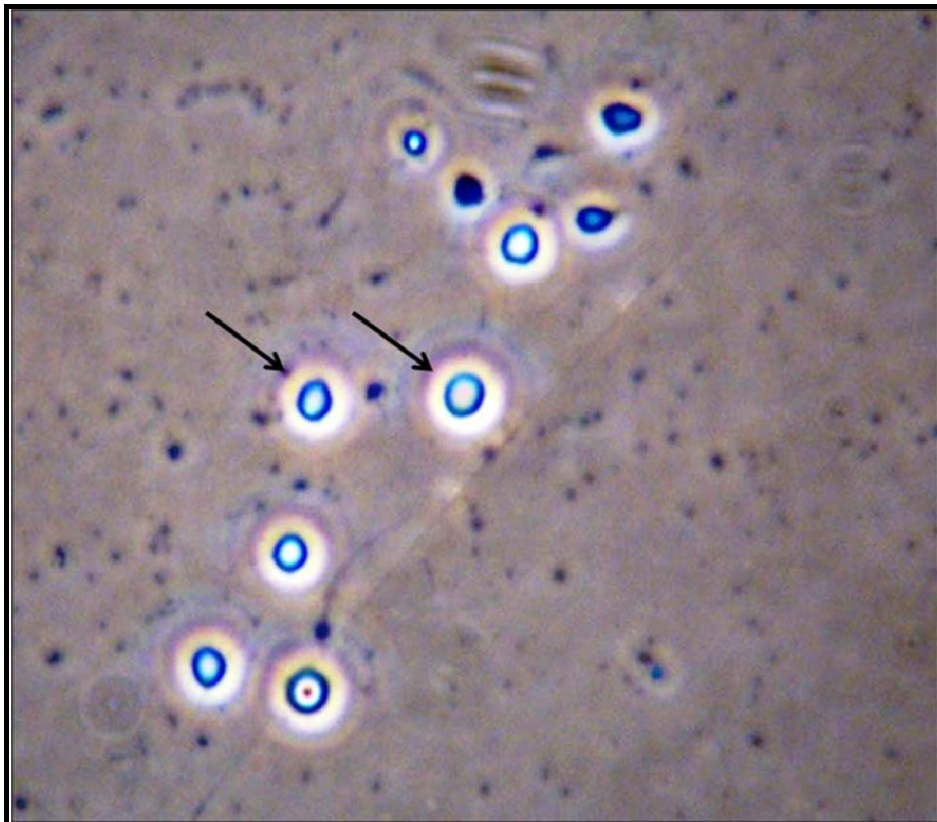
Na figura 9 encontram-se representados os acantócitos avaliados em sedimento urinário fresco, observado em microscópio óptico convencional e na figura 10 encontram-se representados os acantócitos avaliados em sedimento urinário fresco, observados pelo microscópio de contraste de fase.

Na figura 11 observam-se os acantócitos em sedimento urinário fixado através da coloração de Papanicolaou e na figura 12 os acantócitos observados em sedimento urinário fixado pela coloração de Panótico rápido LB e observados em microscópio óptico convencional.

Vale ressaltar que todas as fotografias aqui apresentadas foram realizadas pela própria autora deste trabalho.



**Figura 1: Hemácias isomórficas: sedimento fresco, microscópio óptico convencional**



**Figura 2: Hemácias isomórficas: sedimento fresco, microscópio contraste de fase**

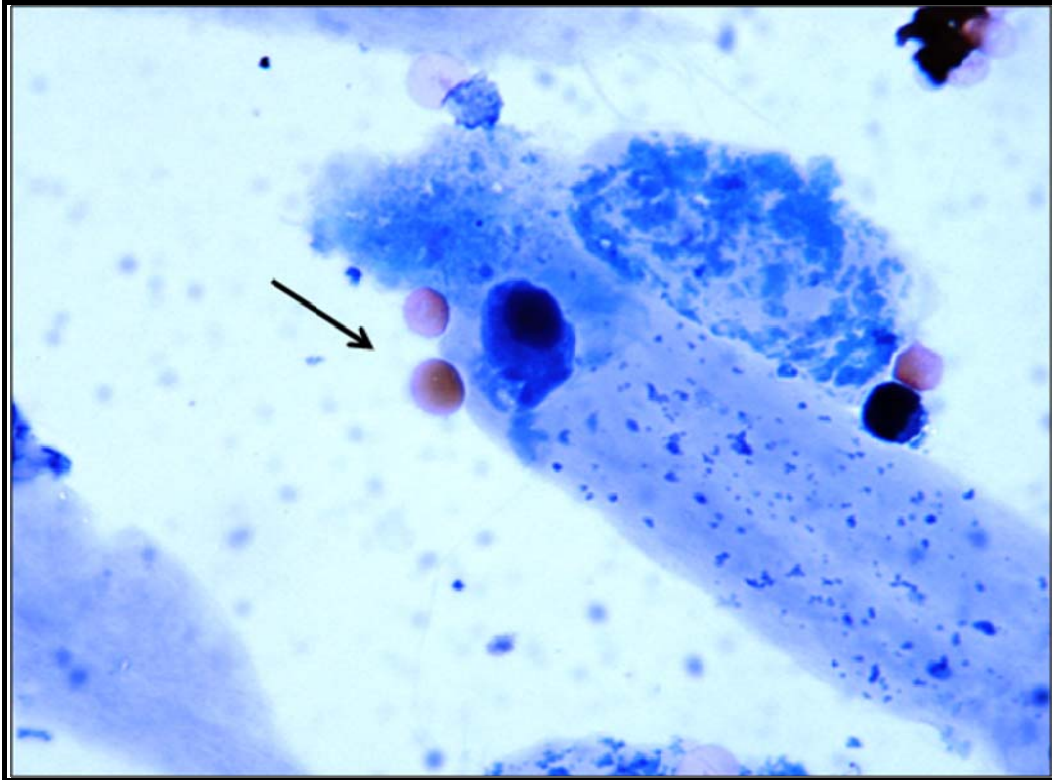


Figura 3: Hemácias isomórficas: sedimento fixado, coloração de Papanicolaou

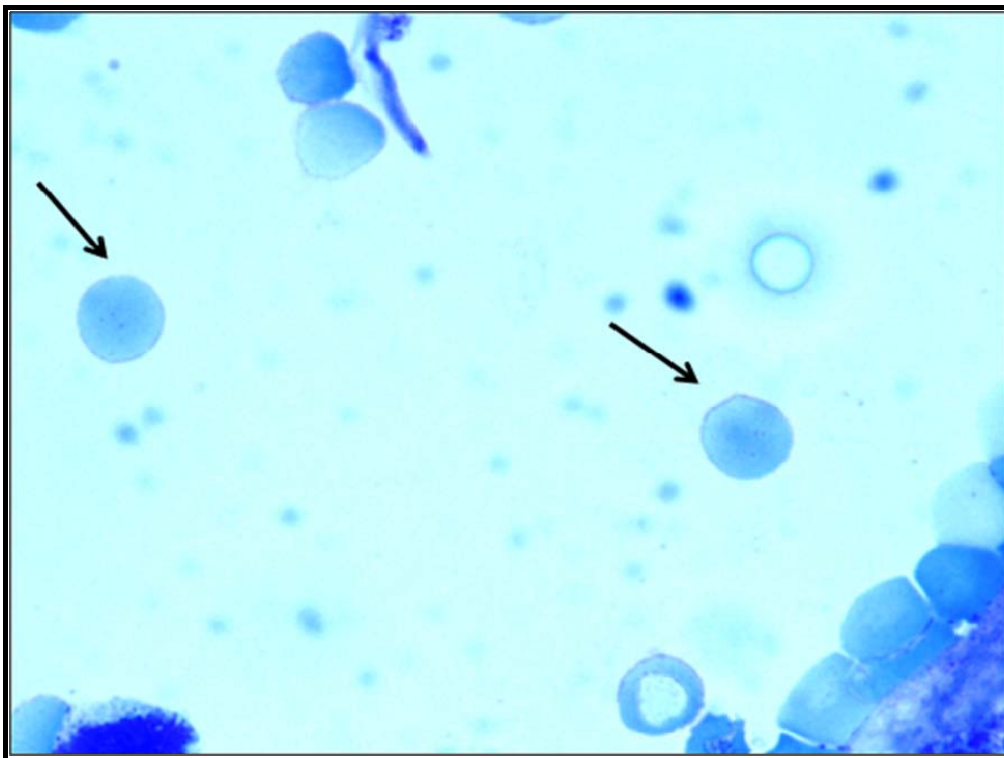


Figura 4: Hemácias isomórficas: sedimento fixado, coloração de Panótico Rápido LB

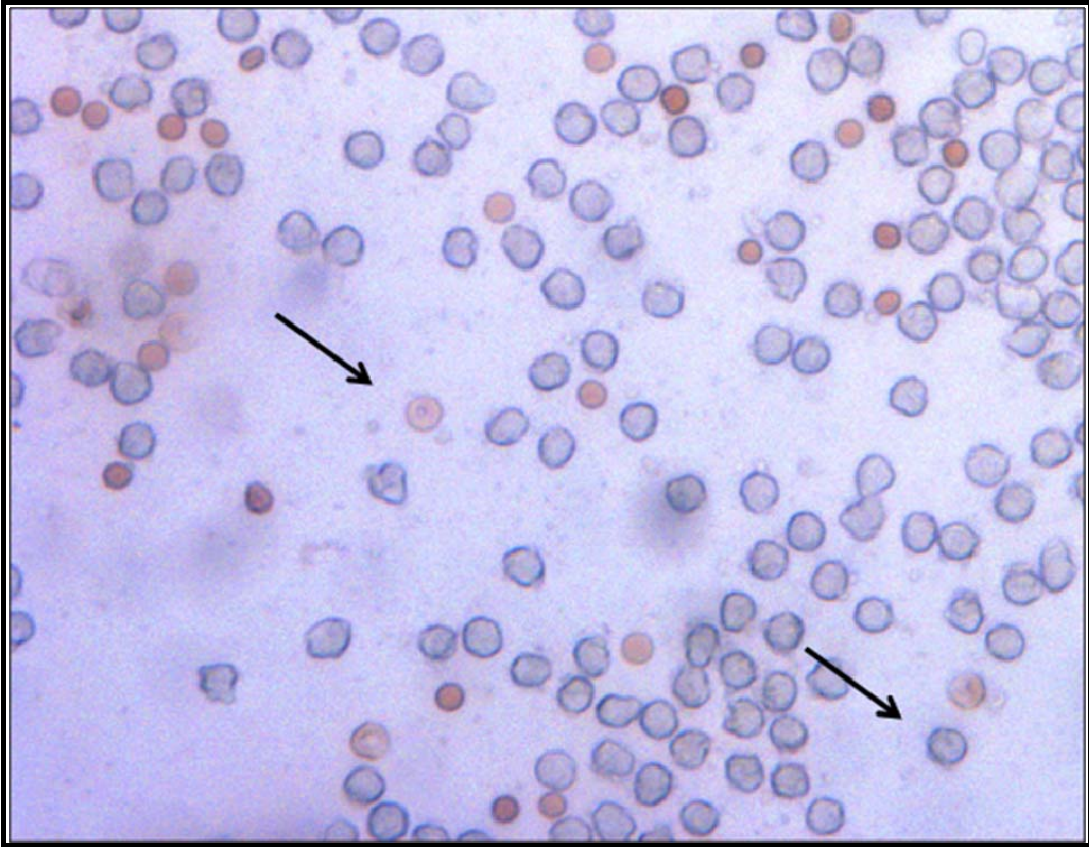


Figura 5: Codócit0s: sedimento fresco, microsc0pio 0ptico convencional

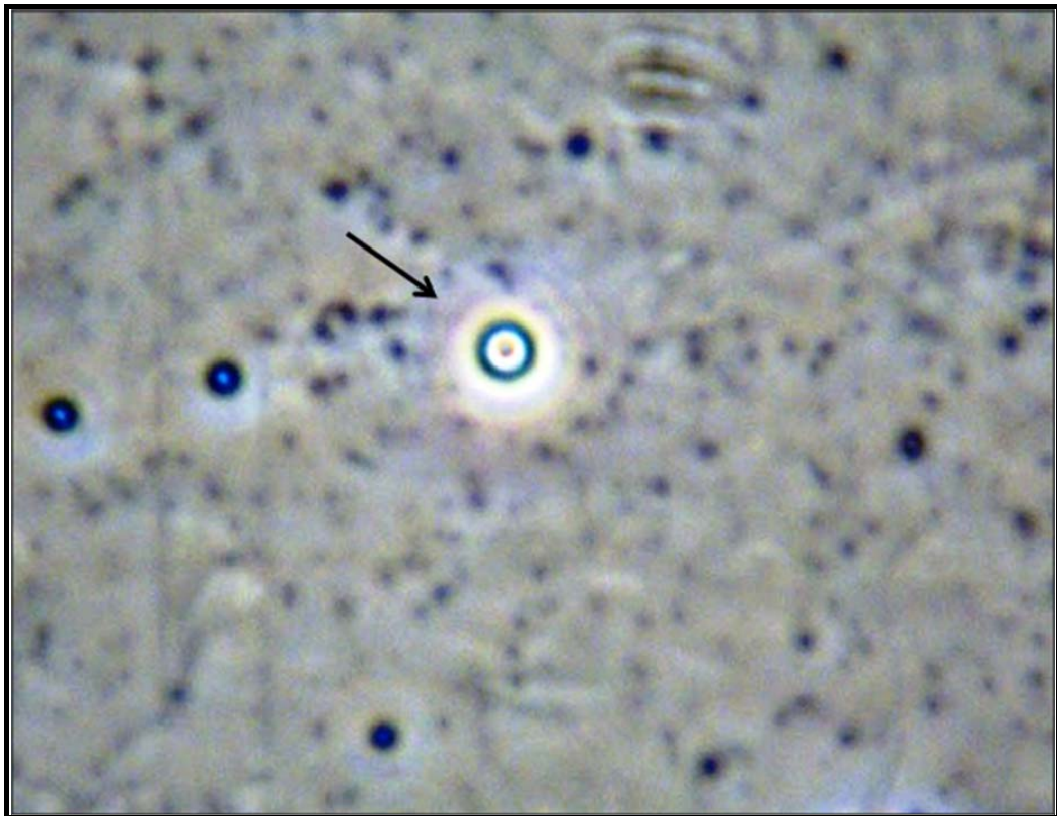
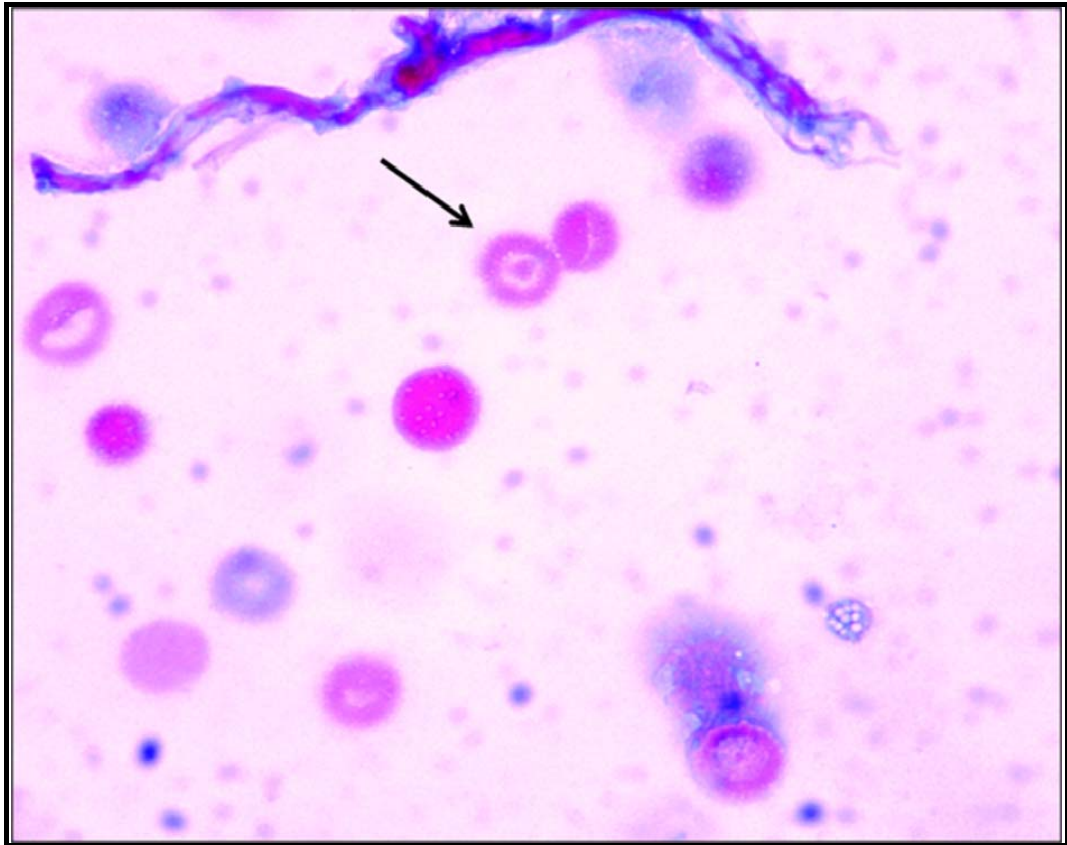
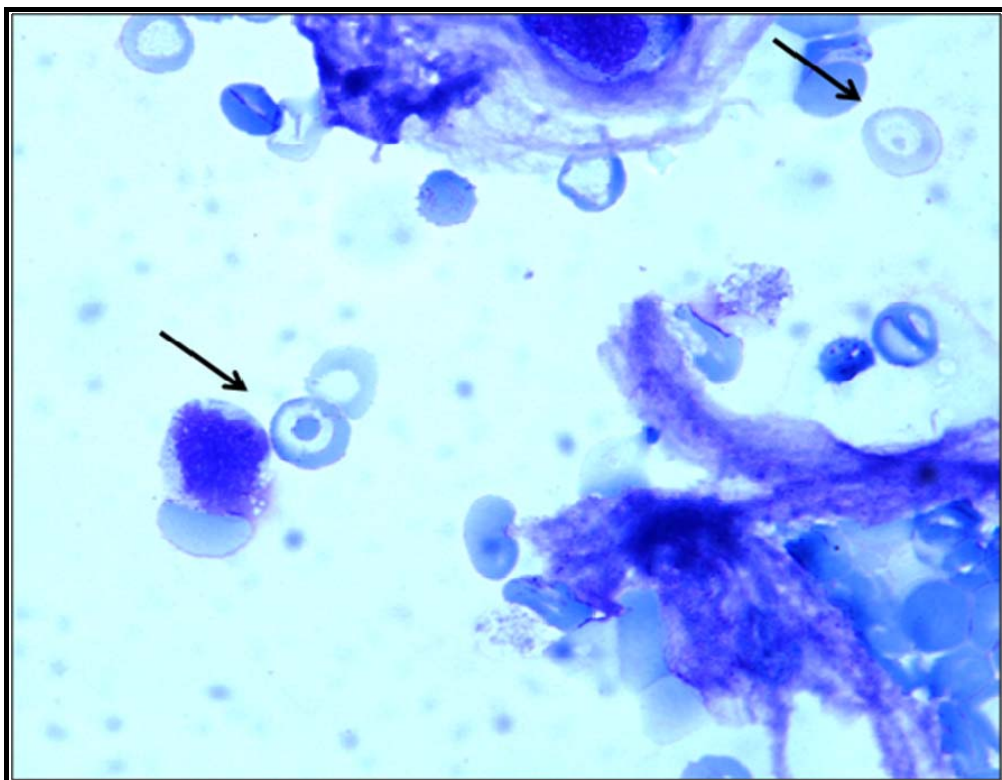


Figura 6: Codócit0s: sedimento fresco, microsc0pio de contraste de fase



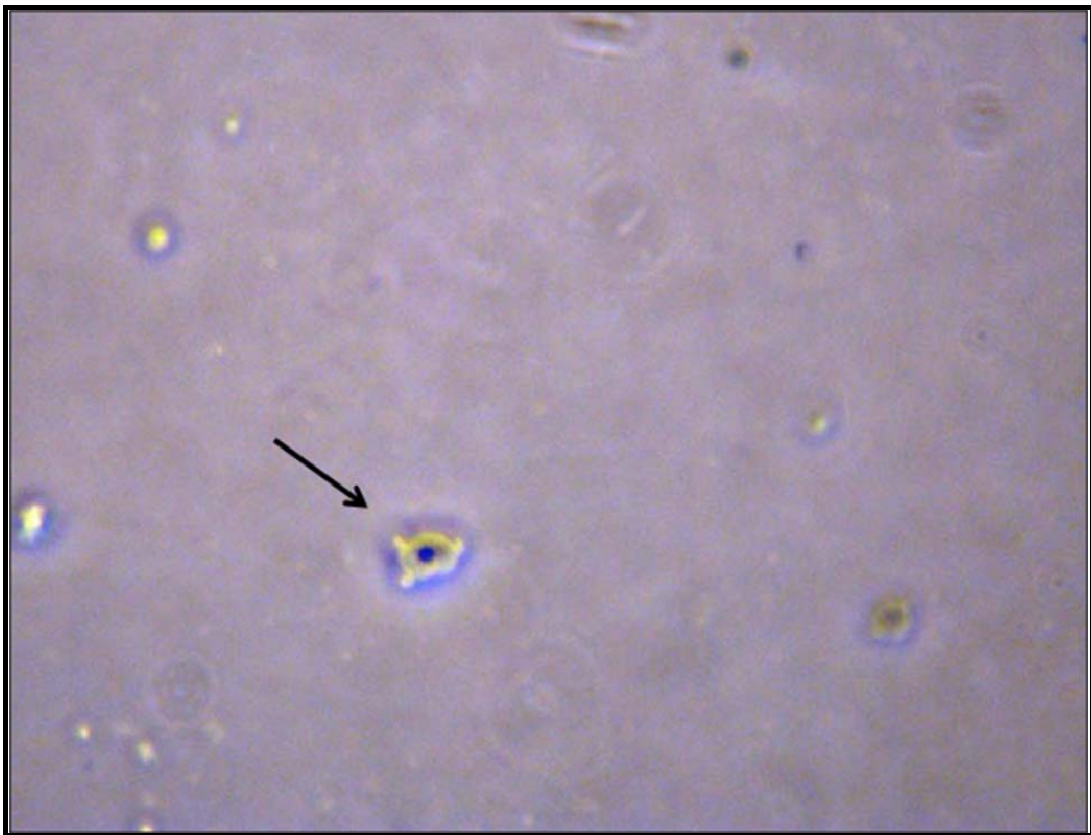
**Figura 7: Codócitos: sedimento fixado, coloração de Papanicolaou**



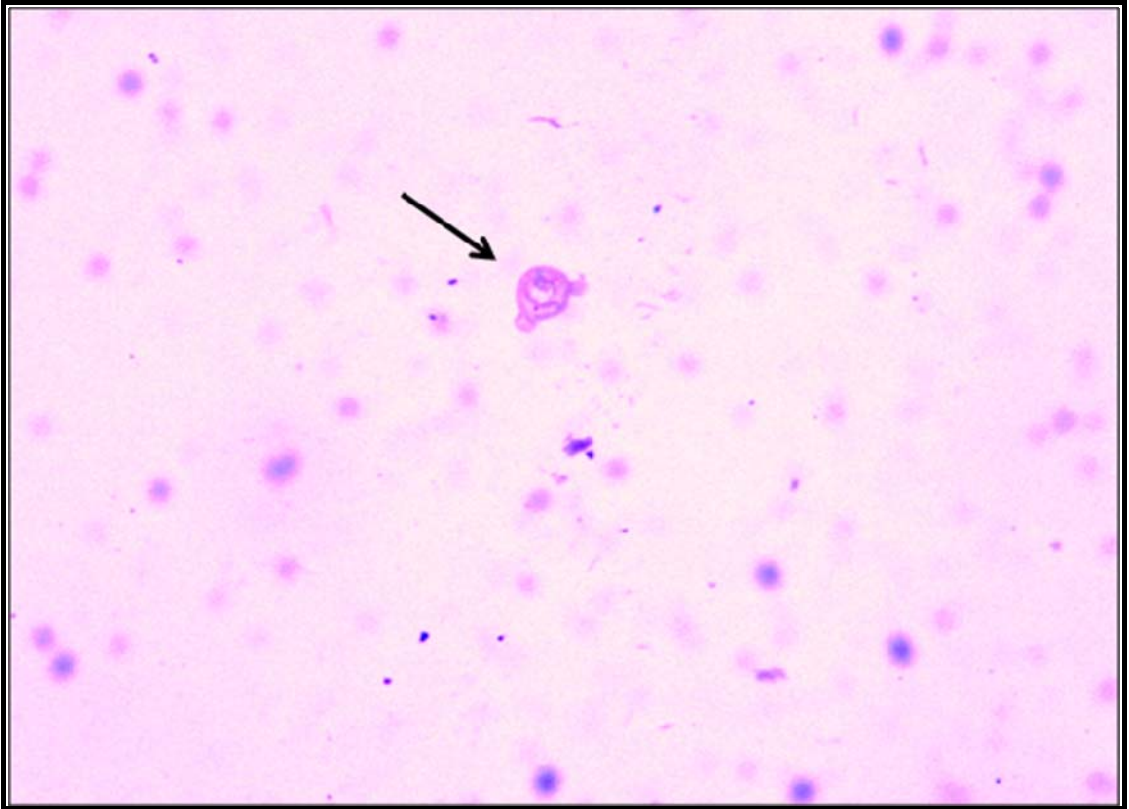
**Figura 8: Codócitos: sedimento fixado, coloração de Panótico rápido LB**



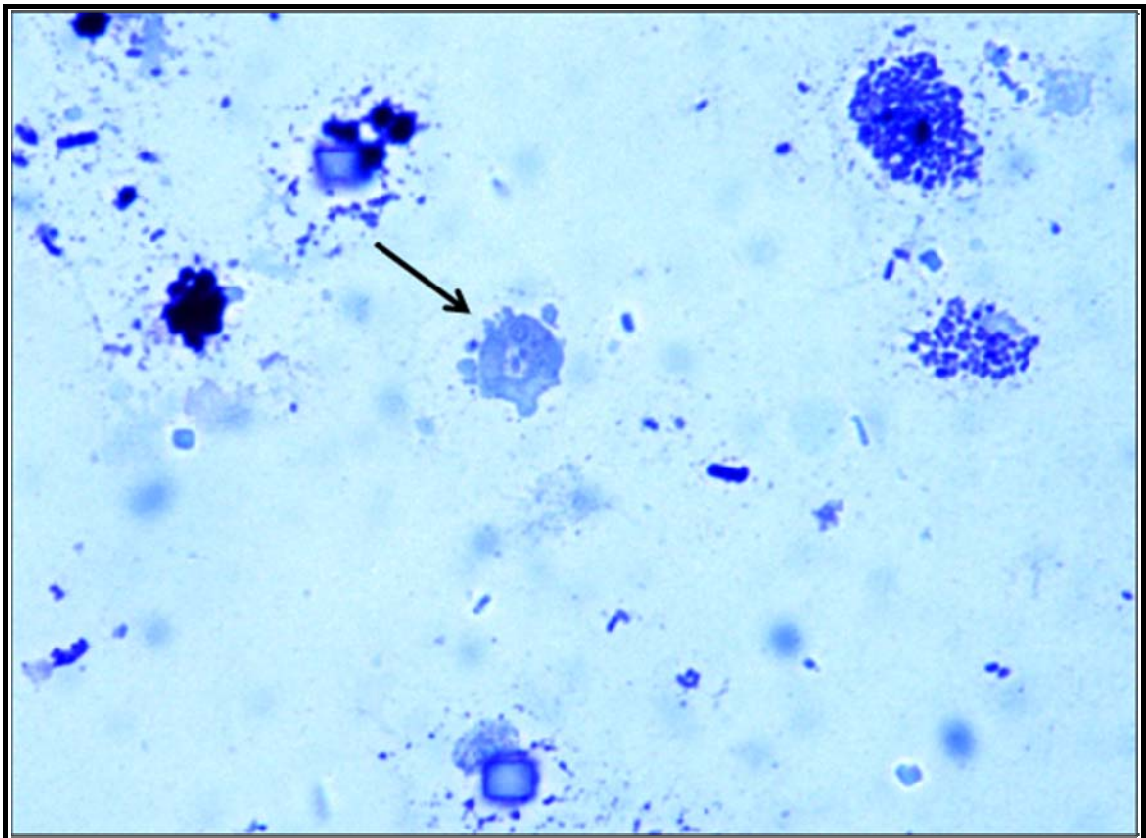
**Figura 9: Acantócito: sedimento fresco, microscópio óptico convencional**



**Figura 10: Acantócito: sedimento fresco, microscópio de contraste de fase**



**Figura 11: Acantócito: sedimento fixado, coloração de Papanicolaou**

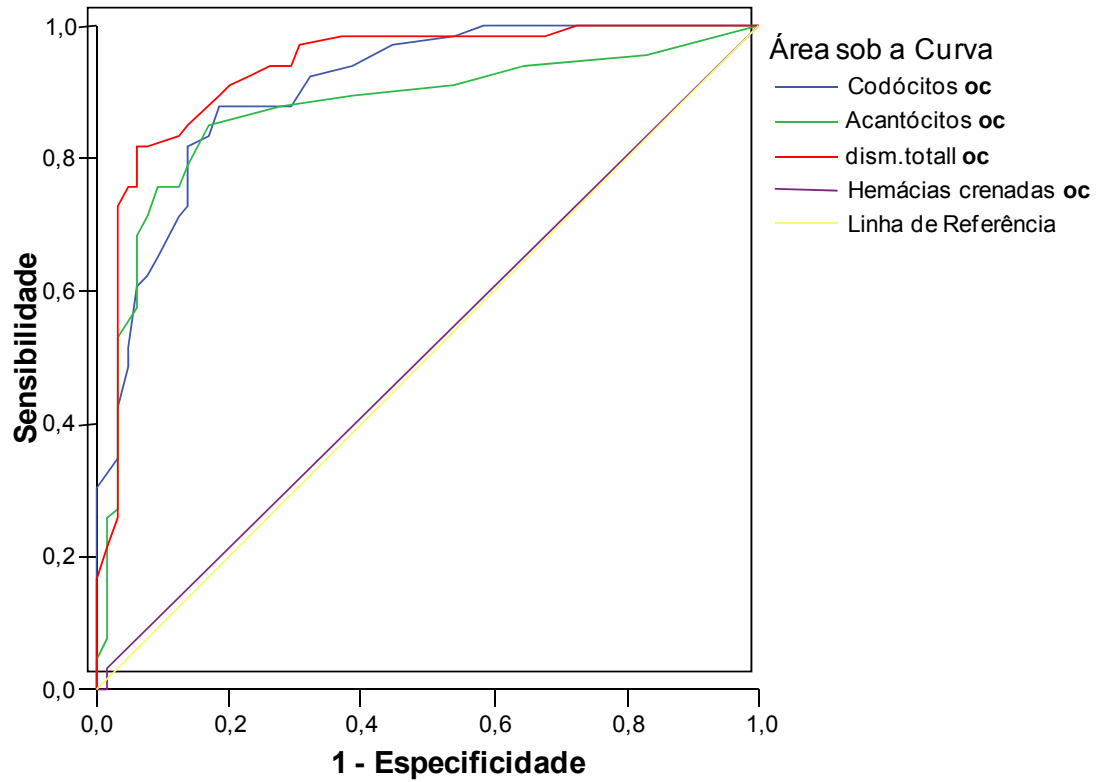


**Figura 12: Acantócito: sedimento fixado, coloração de Panótico rápido LB**

Na figura 13 encontram-se representadas as curvas ROC relativas à porcentagem de dismorfismo eritrocitário total, a porcentagem de codócitos, acantócitos e hemácias crenadas em relação à presença de hematúria glomerular observada em microscópio óptico convencional com o sedimento urinário fresco.

Na tabela 2, encontram-se as áreas sob a curva a probabilidade estatística e o Intervalo de confiança de 95%. Pode se observar que o dismorfismo eritrocitário total, codócitos, acantócitos e hemácias crenadas avaliadas em microscópio óptico convencional, apresentaram áreas sob as respectivas curvas com significância estatística inferior a 0,05 em relação à área de 0,50. Dessa maneira todos esses parâmetros foram capazes de discriminar a presença de hematúria glomerular.

Analisando os melhores pontos de corte para diferenciar hematúria glomerular e não glomerular pelo índice de Youden. Verificou-se que, o dismorfismo eritrocitário total em sedimento fresco no microscópio óptico convencional apresentou um ponto de corte de 26 % com sensibilidade de 82% e especificidade de 94% com área sob a curva (ASC) Intervalo de Confiança (IC) 95% de 0,93 (0,89 -0,97), valor preditivo positivo (VPP) de 93% e valor preditivo negativo (VPN) de 84%. Os codócitos apresentaram um ponto de corte de 15% com sensibilidade de 88% e especificidade de 82% e ASC (IC 95%) de 0,90 (0,85-0,95), valor preditivo positivo de 83% e valor preditivo negativo de 87%, os acantócitos apresentaram um ponto de corte de 6% com sensibilidade de 85% e especificidade de 83% com ASC (IC 95%) de 0,87 (0,80-0,94), valor preditivo positivo de 84% e valor preditivo negativo de 84%. Já as hemácias crenadas não apresentaram uma área sob a curva estatisticamente significativa com ASC (IC 95%) de 0,50 (0,41-0,60).



**Figura 13: Curvas ROC referentes ao dismorfismo eritrocitário total no microscópio óptico convencional a fresco (dism.total oc), codóculos (codóculos oc) acantóculos (acantóculos oc) e hemácias crenadas (hemácias crenadas oc)**

**Tabela 2. Áreas sob curva do dismorfismo eritrocitário total no microscópio óptico convencional a fresco do total de células dismórficas (dism.total oc), codócitos (codócitos oc), acantócitos (acantócitos oc) e hemácias crenadas (hemácias crenadas oc). Intervalo de confiança (IC) de 95% e  $p < 0,05$**

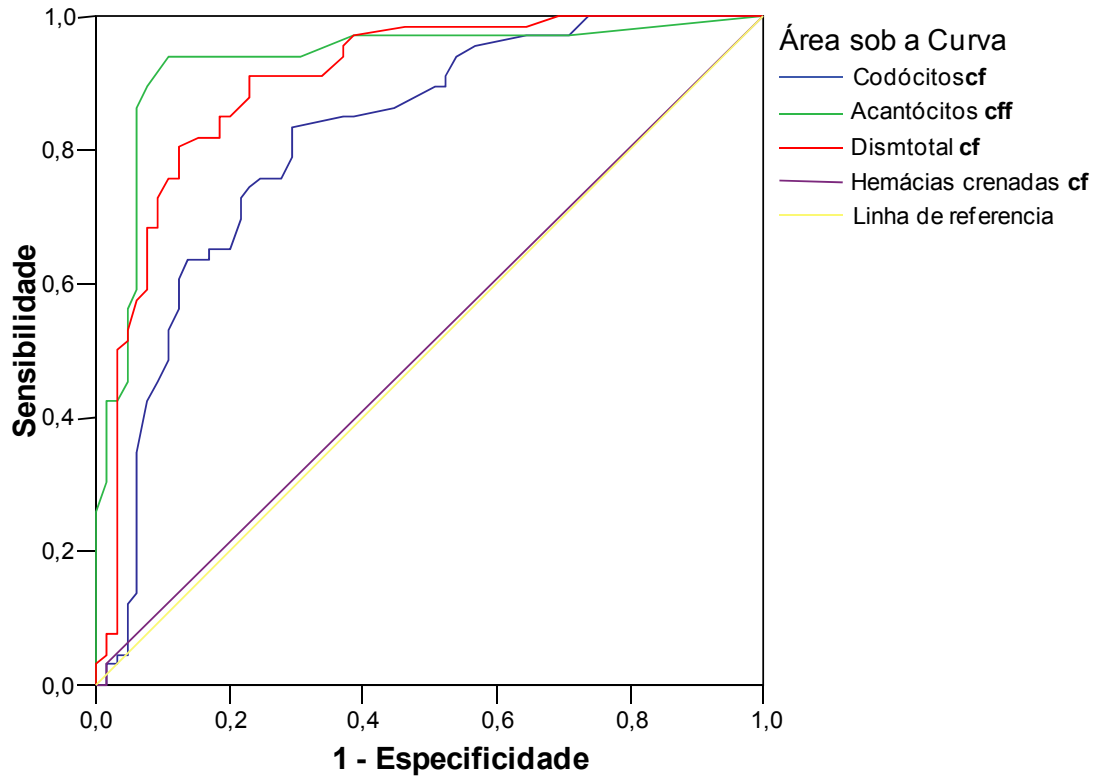
Variável teste	Área	Erro padrão	p	Intervalo de Confiança 95%	
				Limite Inferior	Limite superior
Codócitos oc	0,905	0,025	0,000	0,856	0,955
Acantócitos oc	0,871	0,034	0,000	0,806	0,937
Dism. Total oc	0,934	0,022	0,000	0,890	0,978
Hemácias crenadas oc	0,507	0,051	0,887	0,408	0,606

Com um ponto de corte abaixo de 9% na avaliação do dismorfismo eritrocitário total, apresentou uma sensibilidade de 100% e especificidade de 25% no diagnóstico de hematúria glomerular e com um ponto de corte acima de 58% apresentou uma sensibilidade de 16% e especificidade de 100% no diagnóstico de hematúria glomerular. Para os codócitos verificou-se que um ponto de corte abaixo de 8% apresentou uma sensibilidade de 100% e especificidade de 42% para o diagnóstico de hematúria glomerular e um ponto de corte de 32% apresentou uma sensibilidade de 30% e especificidade de 100% no diagnóstico da hematúria glomerular, nos acantócitos a ausência total, ou seja, com um ponto de corte de 0% verificou-se uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 0% no diagnóstico da hematúria glomerular e em um ponto de corte de 36% verificou-se uma sensibilidade de 4% e uma especificidade de 100% na avaliação da hematúria glomerular.

Comparando as áreas sobre a curva (p-valor inferior a 0,05) das diferentes formas de hemácias (codócito, acantócito e dismorfismo eritrocitário total) no microscópio óptico convencional, houve diferença estatística somente entre a área sob a curva dos acantócito em relação à área sob a curva do dismorfismo eritrocitário total, neste método, favorecendo a avaliação do dismorfismo eritrocitário total ( $p= 0,0043$ ). Não ocorreram diferenças estatísticas nas outras comparações (figura13).

Na figura 14 encontram-se representadas as curvas ROC relativas à porcentagem de dismorfismo eritrocitário total, porcentagem de codócitos, acantócitos e hemácias crenadas em relação à presença de hematúria glomerular observada em microscópio de contraste de fase com o sedimento urinário fresco.

Na tabela 3, encontram-se as áreas sob a curva, o Intervalo de confiança de 95% que foi considerado estatisticamente significativo com p menor que 0,05 quando este intervalo não abrangia a área de 0,50. Pode se observar que o dismorfismo eritrocitário total, codócitos, acantócitos e hemácias crenadas avaliadas em microscópio de contraste de fase, apresentaram áreas sob as respectivas curvas com significância estatística.



**Figura 14: Curvas ROC referentes ao distorção eritrocitária total no microscópio de contraste de fase (dism.total cf), codócitos (codócitos cf), acantócitos (acantócitos cf) e hemácias crenadas (hemácias crenadas cf)**

**Tabela 3: Áreas sob curva do dismorfismo eritrocitário total no microscópio de contraste de fase (dism.total cf), codócitos (codócitos cf), acantócitos (acantócitos cf) e hemácias crenadas (hemácias crenadas cf). Intervalo de confiança (IC) de 95% e  $p < 0,05$**

Variável teste	Área	Erro padrão	p	Intervalo de Confiança 95%	
				Limite Inferior	Limite Superior
Codócitos cf	0,816	0,038	0,000	0,742	0,891
Acantócitoscf	0,931	0,025	0,000	0,882	0,980
Dism. Total cf	0,902	0,028	0,000	0,848	0,956
Hemácias crenadas cf	0,507	0,051	0,887	0,408	0,606

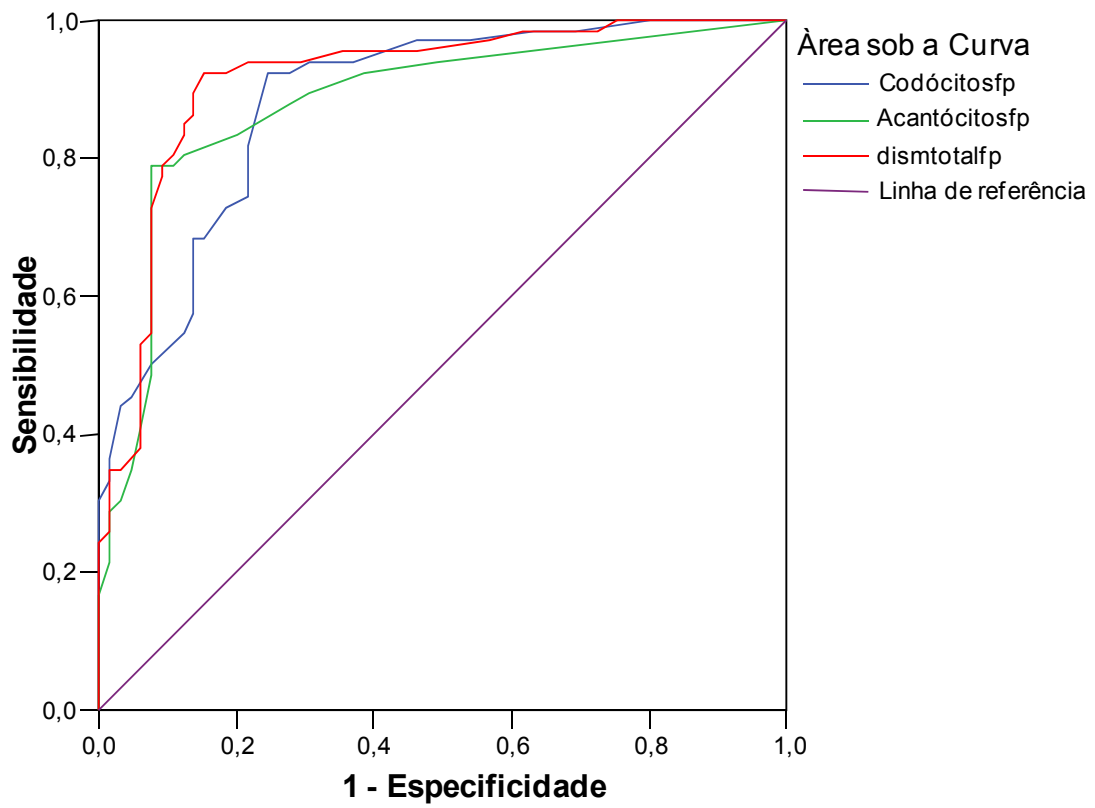
Analisando os melhores pontos de corte pelo índice de Youden a porcentagem de dismorfismo eritrocitário do sedimento fresco avaliado no microscópio de contraste de fase apresentou ponto de corte de 41 % com sensibilidade de 80% e especificidade de 88% e ASC (IC 95%) de 0,90 (0,85 -0,96), valor preditivo positivo de 87% e valor preditivo negativo de 82%. Os codócitos apresentaram um ponto de corte de 27% com sensibilidade de 73% e especificidade de 78% e ASC (IC 95%) de 0,81 (0,74-0,90) com valor preditivo positivo de 77% e valor preditivo negativo de 74%. Nos acantócitos observou-se um ponto de corte de 8% com sensibilidade de 94% e especificidade de 89% com ASC (IC 95%) de 0,93 (0,88-0,98) com valor preditivo positivo de 90% e valor preditivo negativo de 94%. As hemácias crenadas não apresentaram área sob a curva estatisticamente significativa com ASC (IC 95%) de 0,50 (0,41-0,60).

Com um ponto de corte abaixo de 13% na avaliação do dismorfismo eritrocitário total, a sensibilidade era de 100% e a especificidade de 31% no diagnóstico de hematúria glomerular. Com um ponto de corte acima de 89% houve

uma sensibilidade de 3% e especificidade de 100% no diagnóstico de hematúria glomerular. Para os codócitos verificou-se que o ponto de corte abaixo de 9% apresentou uma sensibilidade de 100% e especificidade de 26% para o diagnóstico da hematúria glomerular e apresentou um ponto de corte de 82% com uma sensibilidade de 0% e especificidade de 100% no diagnóstico da hematúria glomerular, já com os acantócitos a ausência total, ou seja, com um ponto de corte de 0% apresentou uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 0% no diagnóstico da hematúria glomerular e um ponto de corte acima de 29% apresentou uma sensibilidade de 26% e uma especificidade de 100% na avaliação da hematúria glomerular.

Comparando as áreas sob a curva (p-valor inferior a 0,05) das diferentes formas de hemácias (codócito, acantócito e dismorfismo total) no microscópio de contraste de fase, houve diferença estatística entre a área sob a curva dos codócitos em relação à área sob a curva dos acantócitos ( $p= 0,0038$ ) e entre a área sob a curva dos codócitos em relação a área sob a curva do dismorfismo eritrocitário total ( $p=0,000$ ), neste método, favorecendo a avaliação dos acantócitos pois foi o que apresentou melhor sensibilidade e especificidade em relação as outras comparações, em que não foram encontradas diferenças estatísticas (figura14).

Na figura 15 encontram-se representadas as curvas ROC relativas à porcentagem de dismorfismo eritrocitário total, porcentagem de codócitos e acantócitos em relação à presença de hematúria glomerular observada em microscópio óptico convencional com sedimento urinário fixado submetido à coloração de Papanicolaou.



**Figura 15: Curvas ROC referentes ao dismorfismo eritrocitário total do sedimento fixado na coloração de Papanicolaou observado no microscópio óptico convencional (dism.total fp), codócitos (codócitos fp), acantócitos (acantócitos fp)**

Na tabela 4, encontram-se as áreas sob a curva, a probabilidade estatística e o Intervalo de confiança de 95% com significância estatística menor que 0,05 quando este intervalo não abrangia a área de 0,50. Pode se observar que o dismorfismo eritrocitário total, codócitos, acantócitos avaliados em microscópio óptico convencional com sedimento fixado pela coloração de Papanicolaou apresentaram áreas sob as respectivas curvas com significância estatística.

**Tabela 4: Áreas sob curva referentes ao dismorfismo eritrocitário total do sedimento fixado na coloração de Papanicolaou observado no microscópio óptico convencional (dism.total fp), codócitos (codócitos fp), acantócitos (acantócitos fp). Intervalo de confiança (IC) de 95% e p menor 0,05**

Variável teste	Área	Erro padrão	p	Intervalo de Confiança 95%	
				Limite Inferior	Limite Superior
Codócitos fp	0,882	0,029	0,000	0,826	0,939
Acantócitos fp	0,880	0,031	0,000	0,819	0,942
Dism. Total fp	0,914	0,026	0,000	0,863	0,965

A porcentagem de dismorfismo eritrocitário do sedimento fixado avaliado no microscópio no microscópio óptico convencional submetido à coloração de Papanicolaou pelo índice de Youden apresentou ponto de corte de 20 % com sensibilidade de 92% e especificidade de 85% com ASC (IC 95%) de 0,91 (0,86 - 0,96), valor preditivo positivo de 86% e valor preditivo negativo de 92%. Os codócitos apresentaram em um ponto de corte de 15%, uma sensibilidade de 75% e especificidade de 92% e ASC (IC 95%) de 0,88 (0,82-0,93) com valor preditivo

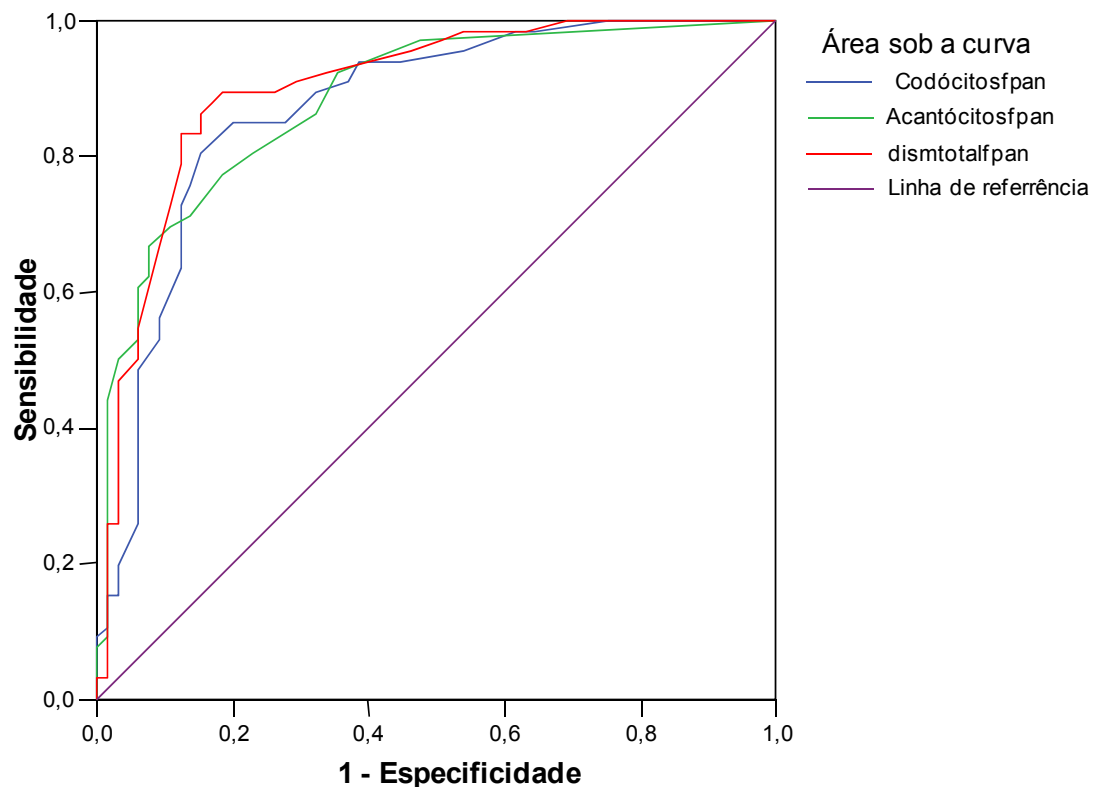
positivo de 79% e valor preditivo negativo de 80%. Os acantócitos apresentaram um ponto de corte de 9% apresentaram uma sensibilidade de 73% e especificidade de 92% com ASC (IC 95%) de 0,88 (0,81-0,94) com valor preditivo positivo de 90% e valor preditivo negativo de 77%.

Com um ponto de corte abaixo de 6% na avaliação do dismorfismo eritrocitário total a sensibilidade era de 100% e a especificidade de 25% no diagnóstico de hematúria glomerular. Com um ponto de corte acima de 48% a sensibilidade foi de 24% e especificidade de 100% no diagnóstico de hematúria glomerular. Para os codócitos verificou-se que um ponto de corte abaixo de 5% apresentou sensibilidade de 100% e especificidade de 20% para o diagnóstico da hematúria glomerular e um ponto de corte de 31% apresentou uma sensibilidade de 30% e especificidade de 100% no diagnóstico da hematúria glomerular, já com os acantócitos a ausência total, ou seja, com um ponto de corte de 0% a sensibilidade era de 100% e a especificidade de 0% no diagnóstico da hematúria glomerular. Um ponto de corte acima de 22% apresentou uma sensibilidade de 16% e uma especificidade de 100% na avaliação da hematúria glomerular.

Comparando as áreas sob a curva (p-valor inferior a 0,05) das diferentes formas de hemácias (codócito, acantócito e dismorfismo eritrocitário total) no microscópio óptico convencional, com lâmina fixada submetido à coloração de Papanicolaou ocorreu diferença estatística somente entre a área sob a curva dos codócitos em relação à área sob a curva do dismorfismo eritrocitário total, neste método, favorecendo a avaliação do dismorfismo eritrocitário total ( $p= 0,0355$ ). Não ocorreram diferenças estatísticas nas outras comparações (figura 15).

Na figura 16 encontra-se representadas as curvas ROC relativas à porcentagem de dismorfismo eritrocitário total, porcentagem de codócitos e

acantócitos em relação à presença de hematúria glomerular observada em microscópio óptico convencional com sedimento urinário fixado submetido à coloração de Panótico rápido LB.



**Figura 16: Curvas ROC referentes ao dismorfismo eritrocitário total do sedimento fixado na coloração de Panótico rápido LB observado no microscópio óptico convencional (dism.total fpan), codóctos (codóctos fpan), acantóctos (acantóctos fpan)**

Na tabela 5, encontram-se as áreas sob a curva a probabilidade estatística e o Intervalo de confiança de 95% com significância estatística menor que 0,05 quando este intervalo não abrangia a área de 0,50. Pode se observar que o dismorfismo eritrocitário total, codócitos, acantócitos avaliados em microscópio óptico convencional com sedimento fixado pela coloração de Panótico rápido LB também apresentaram áreas sob as respectivas curvas com significância estatística.

**Tabela 5: Áreas sob curva referentes ao dismorfismo eritrocitário total do sedimento fixado na coloração de Panótico rápido LB observado no microscópio óptico convencional (dism.total fpan), codócitos (codócitos fpan), acantócitos (acantócitos fpan). Intervalo de confiança (IC) de 95% e p menor 0,05**

Variável teste	Área	Erro padrão	p	Intervalo de Confiança 95%	
				Limite Inferior	Limite Superior
Codócitos fpan	0,871	0,032	0,000	0,808	0,934
Acantócitos fpan	0,883	0,029	0,000	0,826	0,940
Dism. Total fpan	0,902	0,028	0,000	0,848	0,956

A porcentagem de dismorfismo eritrocitário do sedimento fixado avaliado pelo índice de Youden no microscópio óptico convencional submetido à coloração de Panótico rápido LB apresentou ponto de corte de 20% com sensibilidade de 86% e especificidade de 85% com ASC (IC 95%) de 0,90 (0,84 -0,95), valor preditivo positivo de 85% e valor preditivo negativo de 86%. Os codócitos apresentaram um ponto de corte de 16% com sensibilidade de 80% e especificidade de 85% e ASC (IC 95%) de 0,87 (0,80-0,93) com valor preditivo positivo de 84% e valor preditivo

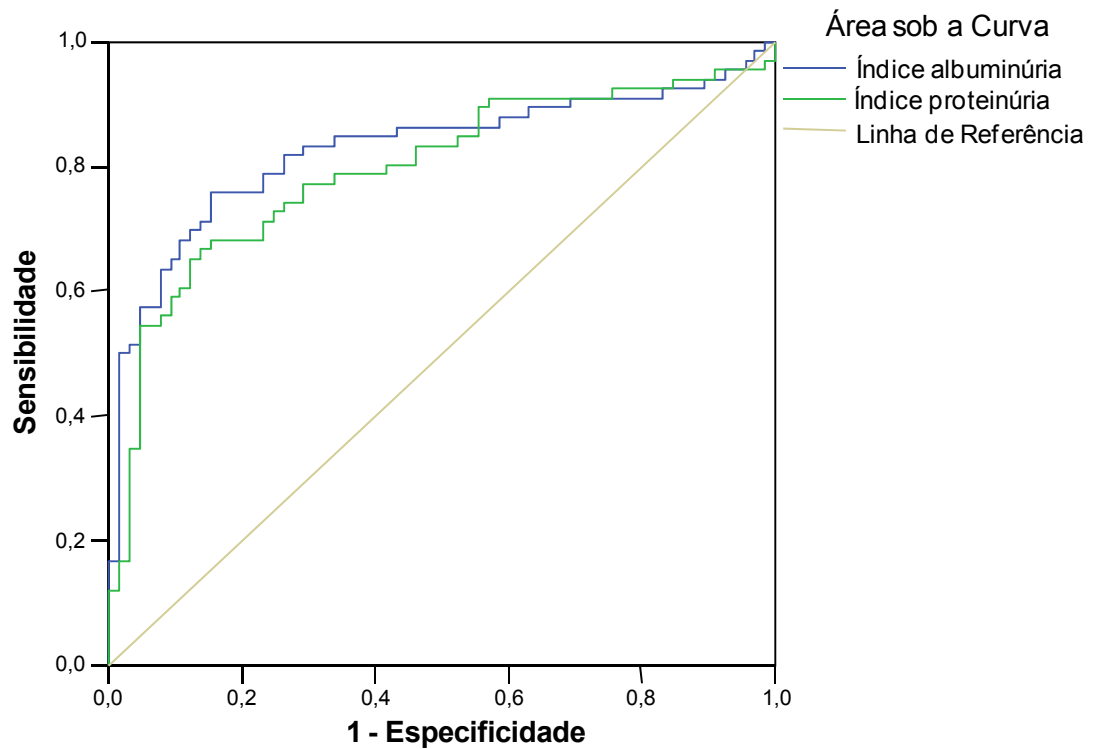
negativo de 81%. Os acantócitos apresentaram um ponto de corte de 8% com sensibilidade de 67% e especificidade de 93% com ASC (IC 95%) de 0,88 (0,81-0,94) com valor preditivo positivo de 90% e valor preditivo negativo de 73%.

Com um ponto de corte abaixo de 7% na avaliação do dismorfismo eritrocitário total a sensibilidade era de 100% e especificidade de 31% no diagnóstico de hematuria glomerular e com um ponto de corte acima de 73% uma sensibilidade de 3% e especificidade de 100% no diagnóstico de hematuria glomerular. Para os codócitos verificou-se que um ponto de corte abaixo de 5% apresentou uma sensibilidade de 100% e especificidade de 25% para o diagnóstico da hematuria glomerular e um ponto de corte de 46% uma sensibilidade de 9% e especificidade de 100% no diagnóstico da hematuria glomerular, já com os acantócitos a ausência total, ou seja, com um ponto de corte de 0% apresentou uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 0% no diagnóstico da hematuria glomerular e quando ocorreu um ponto de corte acima de 24% verificou-se uma sensibilidade de 7% e uma especificidade de 100% na avaliação da hematuria glomerular.

Comparando as áreas sob a curva (p-valor inferior a 0,05) das diferentes formas de hemácias (codócito, acantócito e dismorfismo eritrocitário total) no microscópio óptico convencional, com lâmina fixada submetido à coloração de Panótico rápido LB, ocorreu diferença estatística somente entre a área sob a curva dos codócitos em relação à área sob a curva do dismorfismo eritrocitário total, neste método, favorecendo a avaliação do dismorfismo eritrocitário total (p= 0,0090). Nas outras comparações, não houve diferenças estatísticas (figura 16).

Na figura 17 encontra-se representadas as curvas ROC relativas ao Índice de Albuminúria e ao Índice de Proteinúria.

Na tabela 6, encontram-se as áreas sob a curva a probabilidade estatística e o Intervalo de confiança de 95% com significância estatística menor que 0,05 quando este intervalo não abrangia a área de 0,50. Pode se observar que tanto o Índice de Albuminúria como o Índice de Proteinúria, apresentaram áreas sob as respectivas curvas com significância estatística.



**Figura 17: Curvas ROC referentes ao Índice de Albuminúria e ao Índice de Proteinúria**

**Tabela 6: Áreas sob curva referentes ao Índice de albuminúria e ao Índice de proteinúria. Intervalo de confiança (IC) de 95% e  $p < 0,05$**

Variável teste	Área	Erro padrão	p	Intervalo de Confiança 95%	
				Limite Inferior	Limite superior
Índice albuminúria	0,827	0,039	0,000	0,752	0,903
Índice Proteinúria	0,795	0,041	0,000	0,716	0,875

O índice de albuminúria apresentou ponto de corte de 54,4 mg/g de creatininúria avaliado pelo índice de Youden com uma sensibilidade de 76% e especificidade de 85% com ASC (IC 95%) de 0,82 (0,75 -0,90), valor preditivo positivo de 83% e valor preditivo negativo de 77%. O índice de proteinúria apresentou um ponto de corte de 300 mg/g de creatininúria com sensibilidade de 67% e especificidade de 88% e ASC (IC 95%) de 0,79 (0,71-0,87) com valor preditivo positivo de 84% e valor preditivo negativo de 71%.

Com um ponto de corte abaixo de 0,82 mg/g na avaliação do índice de albuminúria/creatininúria, apresentou uma sensibilidade de 100% e especificidade de 0% no diagnóstico de hematúria glomerular e com um ponto de corte acima de 624,27 mg/g observou-se uma sensibilidade de 16% e uma especificidade de 100% no diagnóstico de hematúria glomerular.

No índice de proteinúria, com um ponto de corte abaixo de 18,8 mg/g de creatininúria verificou-se uma sensibilidade de 100% e especificidade de 0% para o diagnóstico da hematuria glomerular e com um ponto de corte de 2724,5 mg/g apresentou uma sensibilidade de 12% e uma especificidade de 100% no diagnóstico da hematúria glomerular.

Na tabela 7, encontram-se representados os valores referentes aos Pontos de corte, Sensibilidade, Especificidade, Valores Preditivos Positivos, Valores Preditivos Negativos, das hemácias dismórficas observadas nos diferentes métodos aplicados no estudo e do Índice de Proteinúria e Albuminúria.

Quando comparado o melhor método para avaliar cada tipo de hemácias dismórficas, observa-se que o codócito visualizado pelo microscópio de contraste de fase e os codócitos visualizados microscópio óptico convencional com lâmina fixada submetido à coloração de Papanicolaou, apresentaram a melhor relação com a origem glomerular da hematúria, o mesmo aconteceu para os acantócitos visualizados em microscópio de contraste de fase. Para avaliação do dismorfismo eritrocitário total, não houve diferença estatística entre os diferentes microscópios, assim como mostra a tabela 8.

**Tabela 7: Pontos de corte (PC), Sensibilidade (Sensib.), Especificidade (Especif), Valores Preditivos Positivos (VPP), Valores Preditivos Negativos (VPN) das hemácias dismórficas observadas em cada método e do Índice de Proteinúria e Albuminúria**

<b>Método</b>		<b>PC</b>	<b>Sensib.</b>	<b>Especif.</b>	<b>VPP</b>	<b>VPN</b>
<b>Óptico convencional</b>	<b>Codócitos</b>	<b>≥ 15%</b>	<b>88%</b>	<b>82%</b>	<b>83%</b>	<b>87%</b>
	<b>Acantócitos</b>	<b>≥ 6%</b>	<b>85%</b>	<b>83%</b>	<b>84%</b>	<b>84%</b>
	<b>Dism. total</b>	<b>≥ 26%</b>	<b>82%</b>	<b>94%</b>	<b>93%</b>	<b>84%</b>
<b>Contraste de Fase</b>	<b>Codócitos</b>	<b>≥ 27%</b>	<b>73%</b>	<b>78%</b>	<b>77%</b>	<b>74%</b>
	<b>Acantócitos</b>	<b>≥ 8%</b>	<b>94%</b>	<b>89%</b>	<b>90%</b>	<b>94%</b>
	<b>Dism. total</b>	<b>≥ 41%</b>	<b>80%</b>	<b>88%</b>	<b>87%</b>	<b>82%</b>
<b>Papanicolaou</b>	<b>Codócitos</b>	<b>≥ 15%</b>	<b>92%</b>	<b>75%</b>	<b>79%</b>	<b>80%</b>
	<b>Acantócitos</b>	<b>≥ 9%</b>	<b>73%</b>	<b>92%</b>	<b>90%</b>	<b>77%</b>
	<b>Dism. total</b>	<b>≥ 20%</b>	<b>92%</b>	<b>85%</b>	<b>86%</b>	<b>92%</b>
<b>Panótico</b>	<b>Codócitos</b>	<b>≥ 16%</b>	<b>80%</b>	<b>85%</b>	<b>84%</b>	<b>81%</b>
	<b>Acantócitos</b>	<b>≥ 8%</b>	<b>67%</b>	<b>93%</b>	<b>90%</b>	<b>73%</b>
	<b>Dism. total</b>	<b>≥ 20%</b>	<b>86%</b>	<b>85%</b>	<b>85%</b>	<b>86%</b>
<b>Proteinúria</b>	<b>–</b>	<b>≥ 300 mg/g</b>	<b>67%</b>	<b>88%</b>	<b>84%</b>	<b>71%</b>
<b>Albuminúria</b>	<b>–</b>	<b>≥ 54mg/g</b>	<b>76%</b>	<b>85%</b>	<b>83%</b>	<b>77%</b>

**PC-** Ponto de Corte, **Sensib.-** sensibilidade, **Especif.-** Especificidade, **VPP-** Valor Preditivo Positivo, **VPN-** Valor Preditivo Negativo.

**Tabela 8: Comparação entre as curvas ROC (p-valores) referente às áreas sob curva das hemácias dismórficas nos diferentes métodos aplicados**

	Óptico convencional	Contraste de Fase	Papanicolaou	Panótico
Codócitos oc	-	<b>0, 0166</b>	0, 4525	0, 2718
Codócitos cf	-	-	<b>0, 0422</b>	0, 1309
Codócitos fp	-	-	-	0, 6624
Codócitos fpan	-	-	-	-
Acantócitos oc	-	<b>0, 0282</b>	0, 7859	0, 7300
Acantócitos cf	-	-	0, 0804	0, 0858
Acantócitos fp	-	-	-	0, 9132
Acantócitos fpan	-	-	-	-
Dism. Total oc	-	0, 2014	0, 4372	0, 2457
Dism. Total cf	-	-	0, 6198	0, 9894
Dism. Total fp	-	-	-	0, 5792
Dism. Total fpan	-	-	-	-

**Tabela 9: Comparação entre as curvas ROC (p-valores) referente às áreas sob curva do Índice de Proteinúria e do Índice de Albuminúria em relação à maior área encontrada nos diferentes métodos de avaliação**

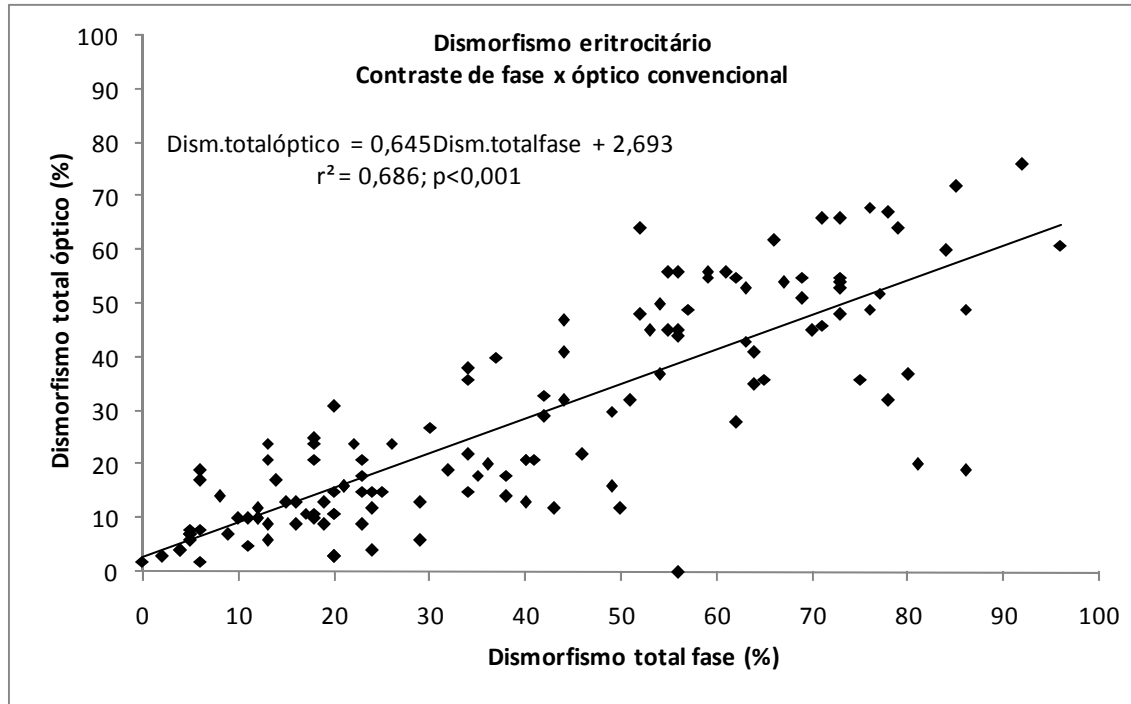
	Índice de Proteinúria	Dism. Total oc	Acantócitos cf	Codócitos fp	Dism.Total fpan
Proteinúria	-	<b>0, 0009</b>	<b>0, 0010</b>	0, 0672	<b>0, 0202</b>
Albuminúria	0, 3112	<b>0, 0078</b>	<b>0, 0099</b>	0, 2071	0, 0940

Na tabela 9 encontram-se representadas as comparações entre as áreas sob as curvas ROC ( $p$ -valor inferior a 0,05) referentes ao Índice de Proteinúria e ao Índice de Albuminúria em relação à maior área encontrada nos diferentes métodos de avaliação. No microscópio óptico convencional a maior área sob a curva foi a do dismorfismo eritrocitário total que ao comparar-se com o índice de proteinúria apresentou uma diferença estatisticamente significativa com um  $p = 0,0009$  e ao comparar-se com a área sob a curva do índice de albuminúria também foi estatisticamente significativa com  $p = 0,0078$ .

No microscópio de contraste de fase a maior área sob a curva encontrada foi a relacionada à porcentagem de acantócitos que ao se comparar com a área sob a curva referente ao índice de proteinúria apresentou um  $p$  estatisticamente significativo de  $p = 0,0010$  e também a mesma coisa ocorreu ao se comparar com a área sob a curva da porcentagem de acantócitos no microscópio de contraste de fase com o índice de albuminúria ( $p = 0,0099$ ).

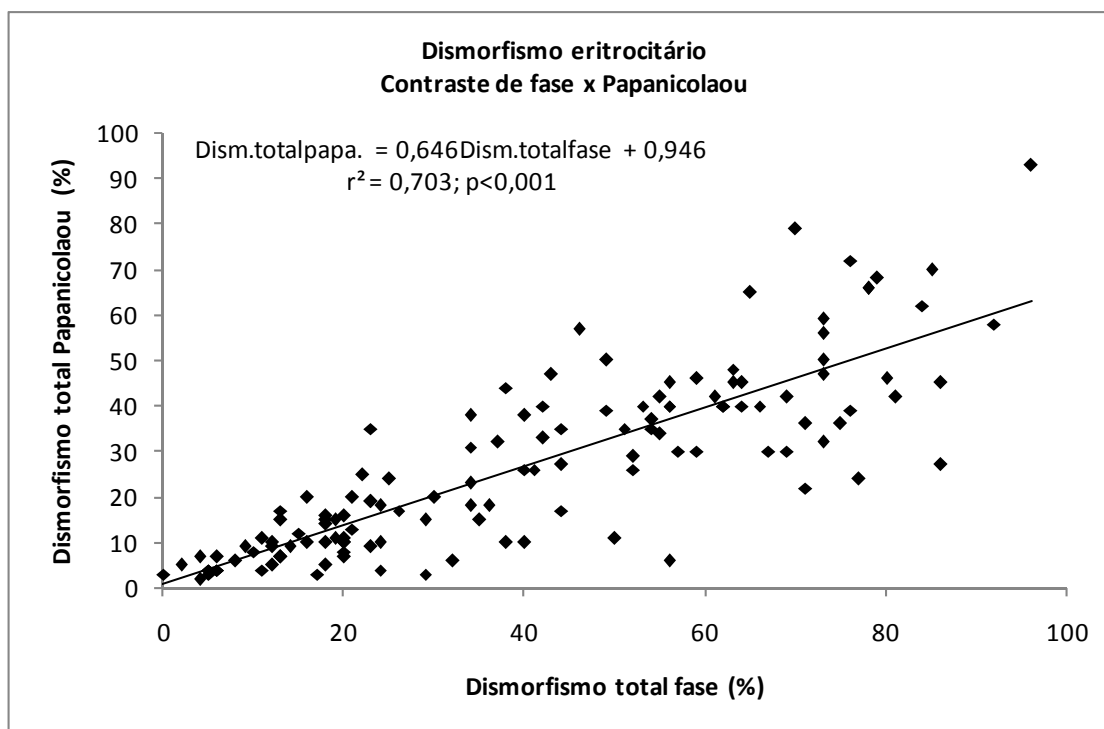
No microscópio óptico convencional com sedimento fixado no método de Papanicolaou, a maior área sob a curva observada foi a da porcentagem do número de codócitos que não apresentou diferença estatisticamente significativa com o índice de proteinúria e nem com o índice de albuminúria.

No microscópio óptico convencional com sedimento fixado no método de Panótico rápido LB a maior área sob a curva observada foi a do dismorfismo eritrocitário total que apresentou uma diferença estatisticamente significativa somente em relação à área sob a curva do índice de proteinúria, com  $p = 0,0202$ .



**Figura 18: Gráfico de regressão linear referente ao dismorfismo eritrocitário total observado no microscópio de contraste de fase e o dismorfismo eritrocitário total observado no microscópio óptico convencional**

A figura 18 ilustra a regressão linear entre dismorfismo eritrocitário total no microscópio de contraste de fase e o dismorfismo eritrocitário total no microscópio óptico convencional. Observa-se uma correlação estatisticamente significativa entre a percentagem de dismorfismo eritrocitário total fresco no microscópio de contraste de fase e a percentagem de dismorfismo eritrocitário total fresco no microscópio óptico convencional com  $r^2 = 0,686$  e  $p < 0,001$ .

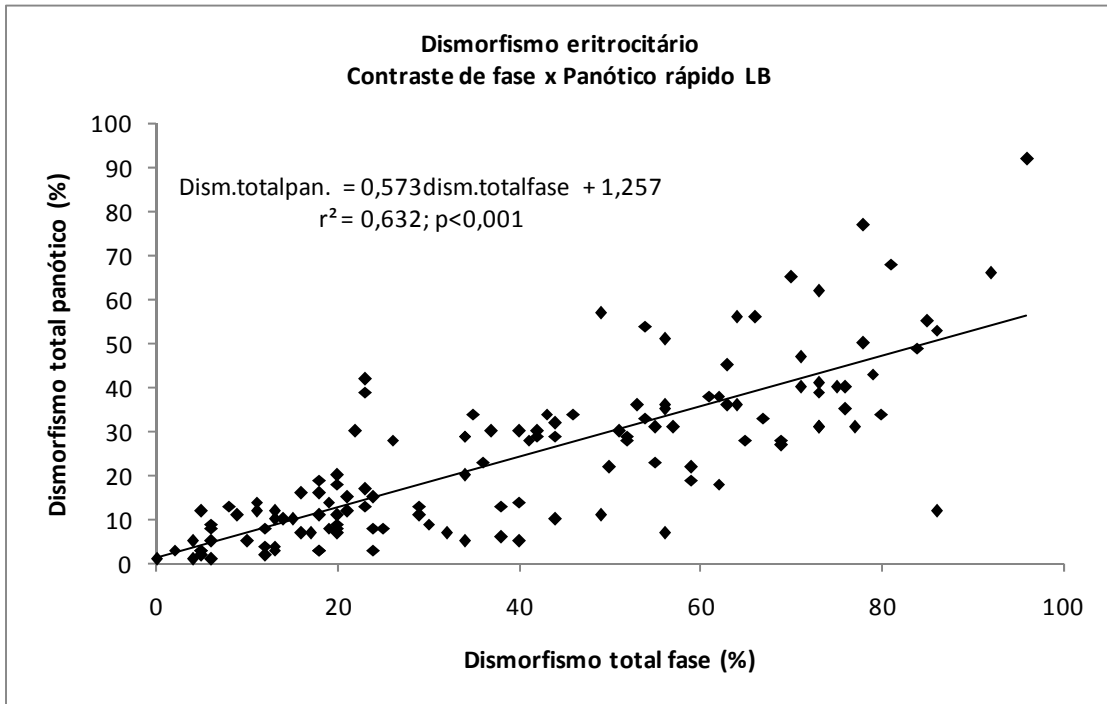


**Figura 19: Gráfico de regressão linear referente ao dismorfismo eritrocitário total observado no microscópio de contraste de fase e o dismorfismo eritrocitário total observado no microscópio óptico convencional na coloração de Papanicolaou**

A figura 19 ilustra a regressão linear entre dismorfismo eritrocitário total no microscópio de contraste de fase e o dismorfismo eritrocitário total no microscópio óptico convencional com sedimento fixado submetido à coloração de Papanicolaou. Observa-se uma correlação estatisticamente significativa entre a porcentagem de dismorfismo eritrocitário total fresco no microscópio de contraste de fase e a porcentagem de dismorfismo eritrocitário total fixado pelo método de Papanicolaou observados no microscópio óptico convencional com  $r^2 = 0,703$  e  $p < 0,001$ .

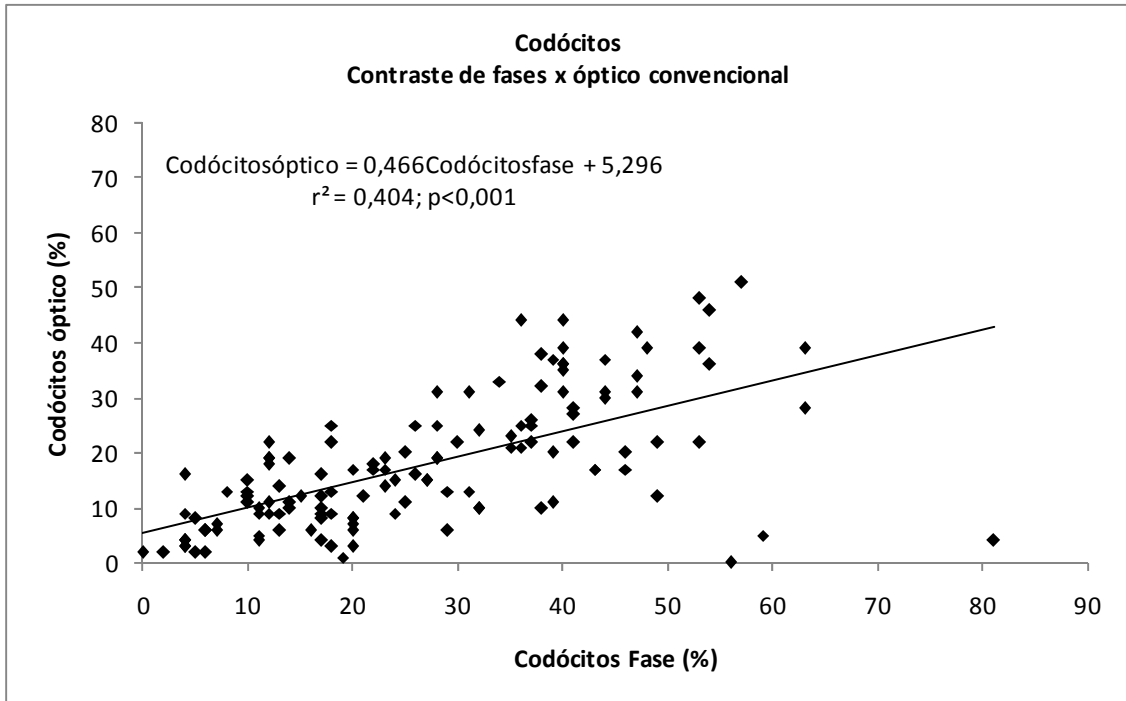
Na figura 20 observa-se uma regressão linear entre a porcentagem de dismorfismo eritrocitário total fresco no microscópio de contraste de fase e a porcentagem de dismorfismo eritrocitário total fixado submetido à coloração de

Panótico observado no microscópio óptico convencional com uma correlação estatisticamente significativa  $r^2 = 0,632$  e  $p < 0,001$ .



**Figura 20: Gráfico de regressão linear referente ao dismorfismo eritrocitário total observado no microscópio de contraste de fase e o dismorfismo eritrocitário total observado no microscópio óptico convencional na coloração de Panótico**

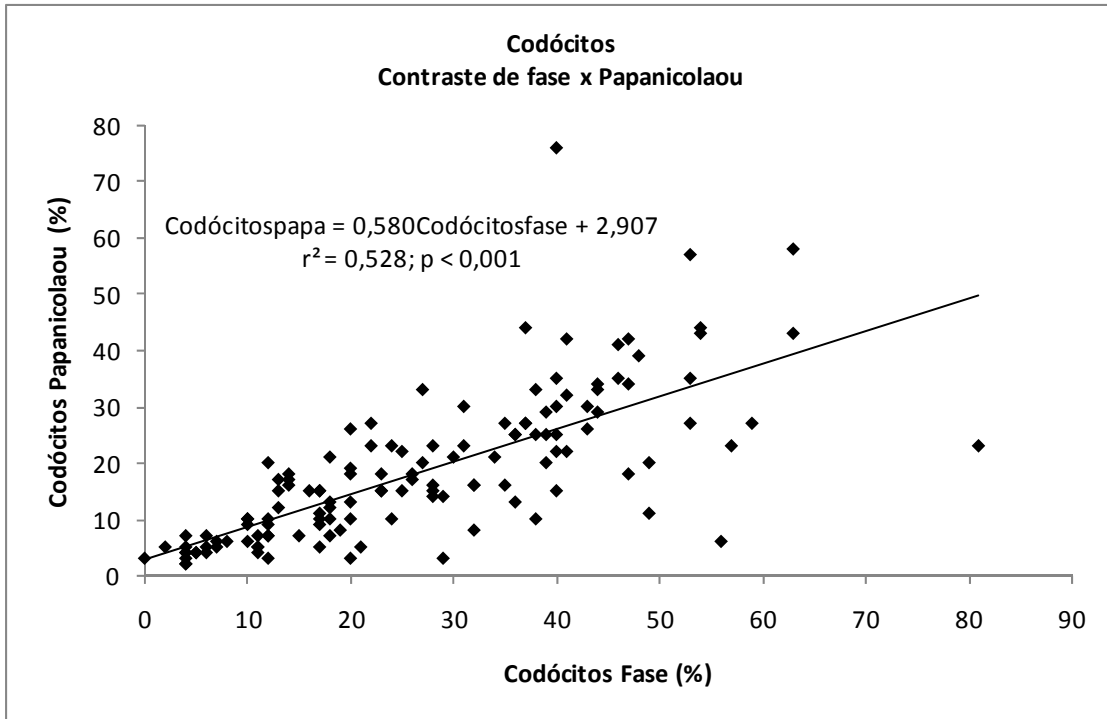
A figura 21 ilustra a regressão linear referente à porcentagem de codócitos observado no microscópio de contraste de fase e a porcentagem de codócitos observado no microscópio óptico convencional com uma correlação estatisticamente significativa entre a porcentagem de codócitos no microscópio de contraste de fase e a porcentagem de codócitos observado no microscópio óptico convencional com  $r^2 = 0,404$  e  $p < 0,001$ .



**Figura 21: Gráfico de regressão linear referente à porcentagem de codócitos observado no microscópio de contraste de fase e a porcentagem de codócitos observado no microscópio óptico convencional**

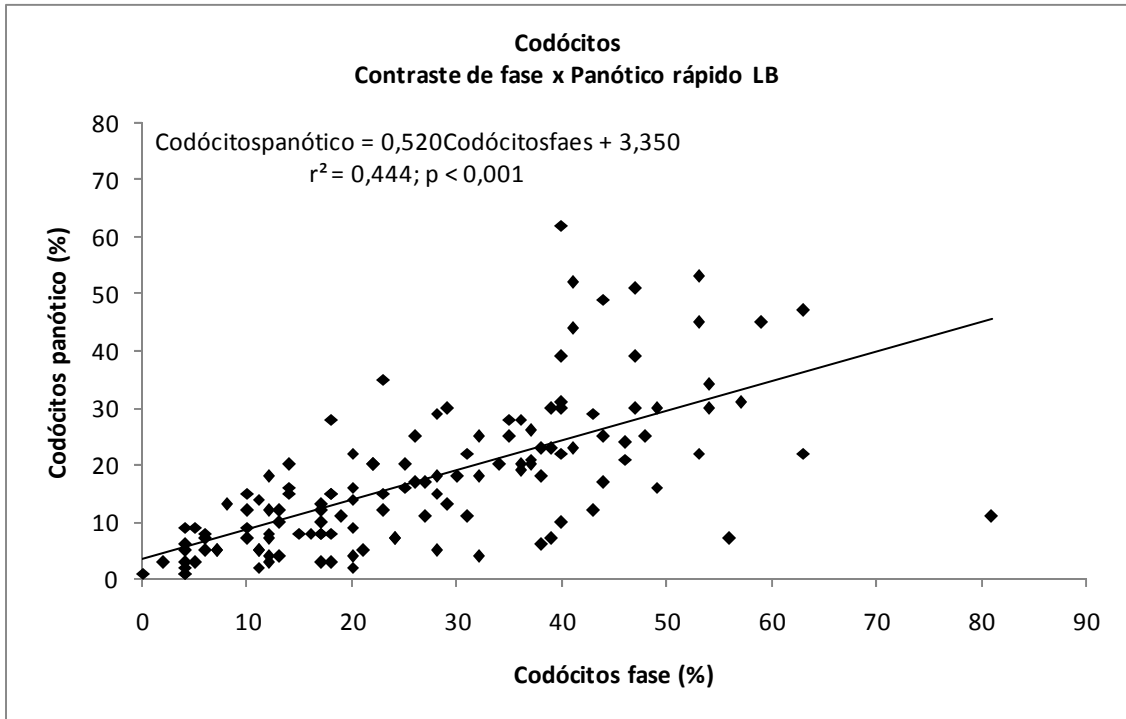
Na figura 22 observa-se a regressão linear referente à porcentagem de codócitos observado no microscópio de contraste de fase e a porcentagem de codócitos com sedimento fixado submetido à coloração de Papanicolaou observado no microscópio óptico convencional também com uma correlação estatisticamente significativa sendo  $r^2 = 0,528$  e  $p < 0,001$ .

A figura 23 ilustra a regressão linear da porcentagem de codócitos observado no microscópio de contraste de fase e a porcentagem de codócitos observado no microscópio óptico convencional submetido à coloração de Panótico rápido LB com uma correlação estatisticamente significativa entre eles com  $r^2 = 0,444$  e  $p < 0,001$ .



**Figura 22: Gráfico de regressão linear referente ao número de codócitos observado no microscópio de contraste de fase e o número de codócitos observado no microscópio óptico convencional na coloração de Papanicolaou**

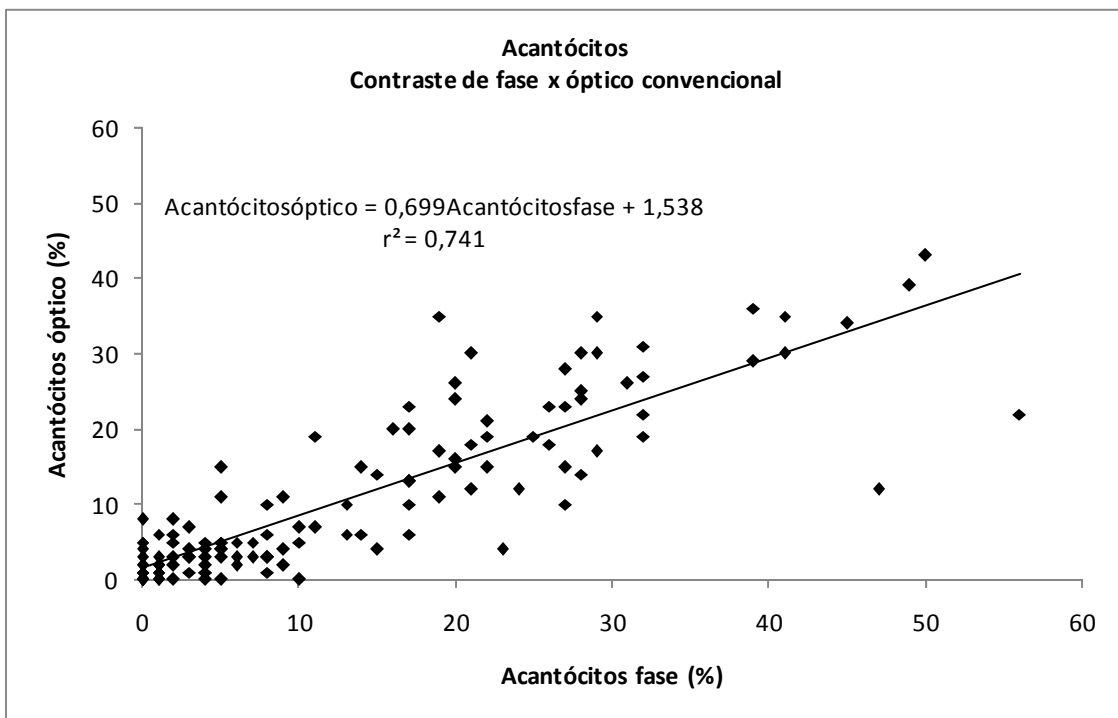
Na figura 24 observa-se a regressão linear referente à percentagem de acantócitos observado no microscópio de contraste de fase e a percentagem de acantócitos observado no microscópio óptico convencional com uma correlação estatisticamente significativa entre ela com  $r^2 = 0,741$  e  $p < 0,001$ .



**Figura 23:** Gráfico de regressão linear referente ao número de codócit

observado no microscópio de contraste de fase e o número de codócit

observado no microscópio óptico convencional na coloração de Panótico

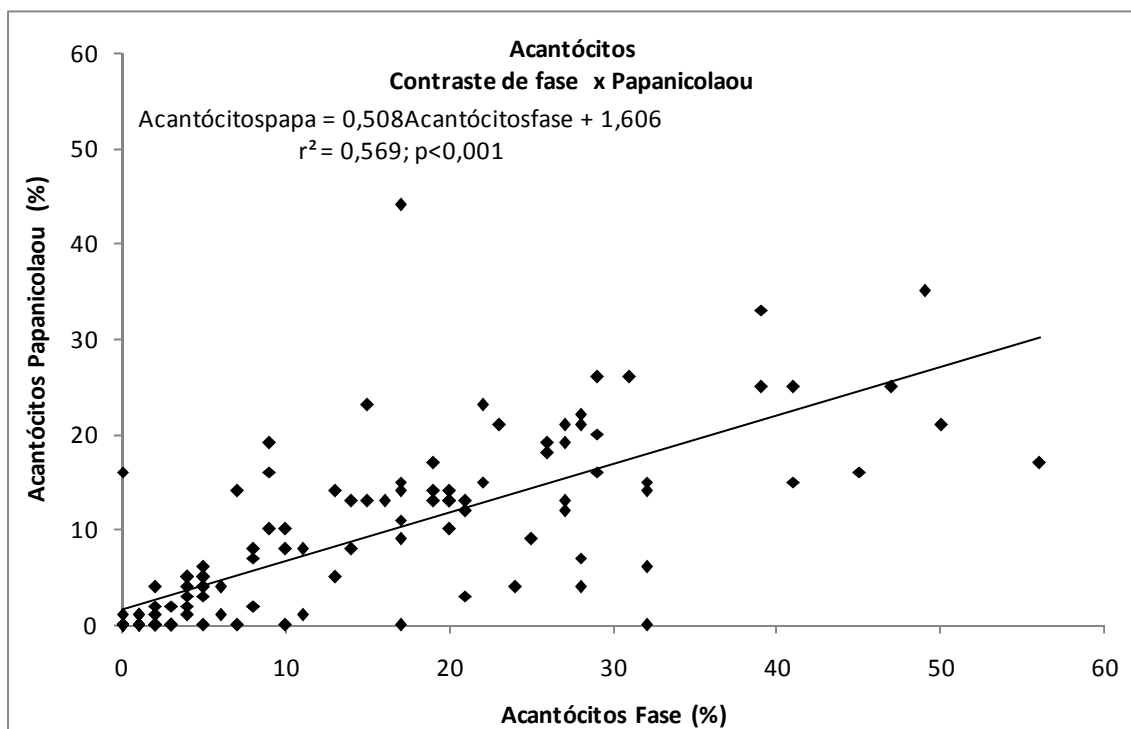


**Figura 24:** Gráfico de regressão linear referente ao número de acantócit

observado no microscópio de contraste de fase e o número de acantócit

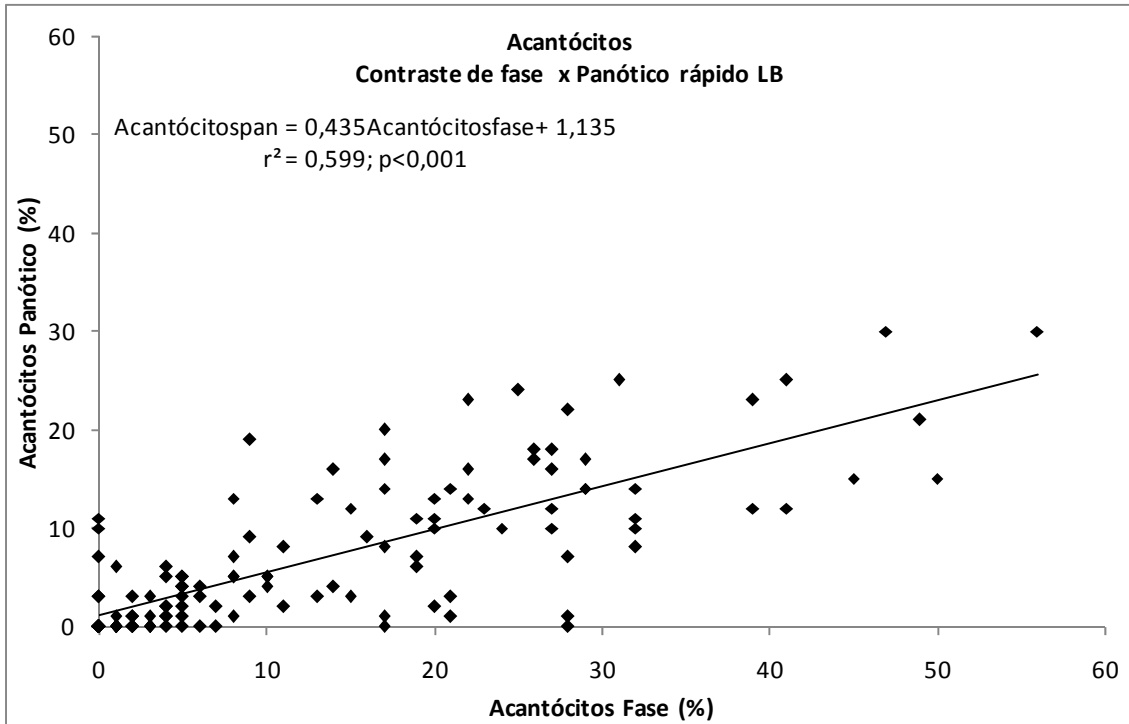
observado no microscópio óptico convencional

A figura 25 ilustra a regressão linear referente à porcentagem de acantócitos (fresco) observado no microscópio de contraste de fase e a porcentagem de acantócitos observado no microscópio óptico convencional com sedimento fixado submetido à coloração de Papanicolaou com uma correlação estatisticamente significativa  $r^2 = 0,569$  e  $p < 0,001$ .



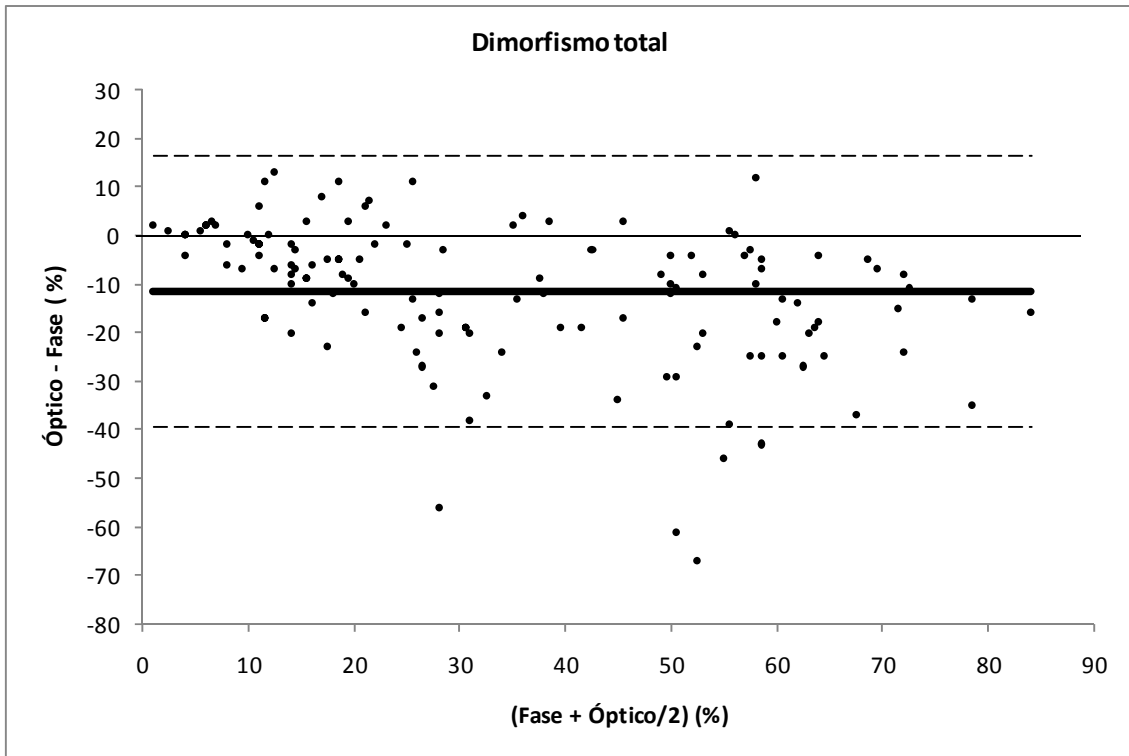
**Figura 25:** Gráfico de regressão linear referente ao número de acantócitos observado no microscópio de contraste de fase e o número de acantócitos observado no microscópio óptico convencional na coloração de Papanicolaou

A figura 26 apresenta a regressão linear referente à porcentagem de acantócitos observado no microscópio de contraste de fase e a porcentagem de acantócitos observado no microscópio óptico convencional submetido à coloração de Panótico rápido LB verifica-se uma correlação estatisticamente significativa eles com  $r^2 = 0,599$  e  $p < 0,001$ .



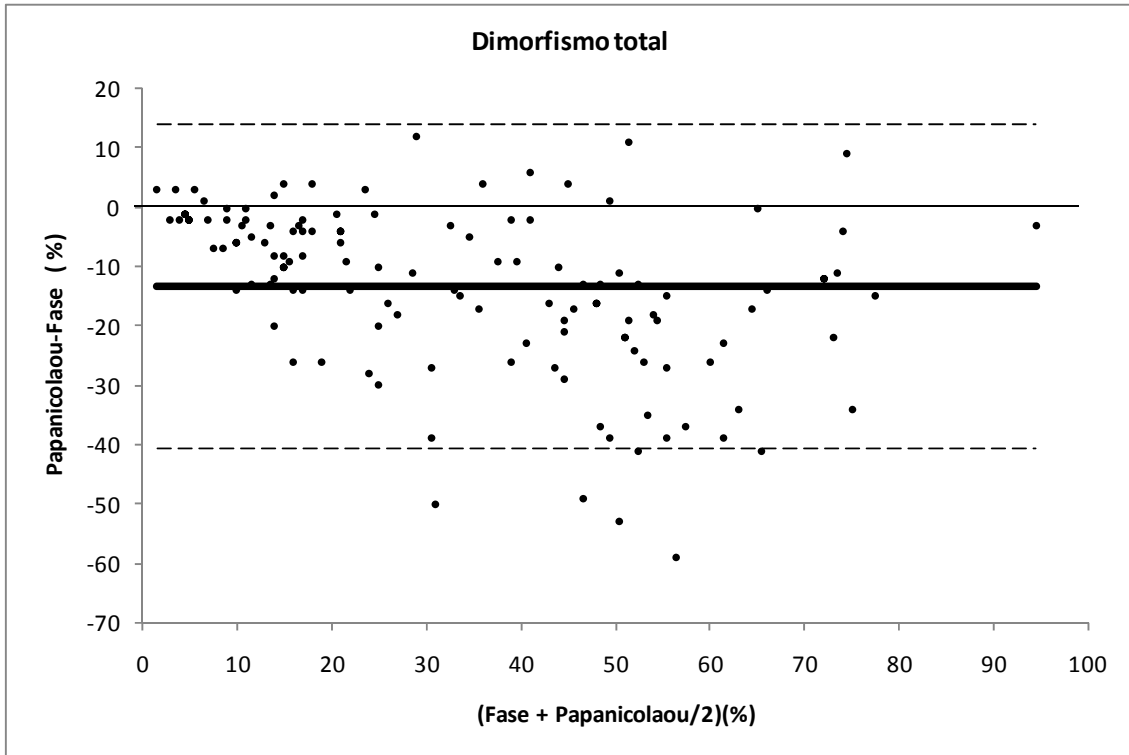
**Figura 26:** Gráfico de regressão linear referente ao número de acantócitos observado no microscópio de contraste de fase e o número de acantócitos observado no microscópio óptico convencional na coloração de Panótico

No diagrama de Bland-Altman ilustrado na figura 27, os limites de concordância observados entre a porcentagem de dismorfismo eritrocitário total no microscópio óptico convencional em relação ao dismorfismo eritrocitário total no microscópio de contraste de fase foram de - 40% a +16% e a média das divergências de - 11%. O microscópio óptico convencional subestimou em 11% a porcentagem de hemácias dismórficas no microscópio de contraste de fase.



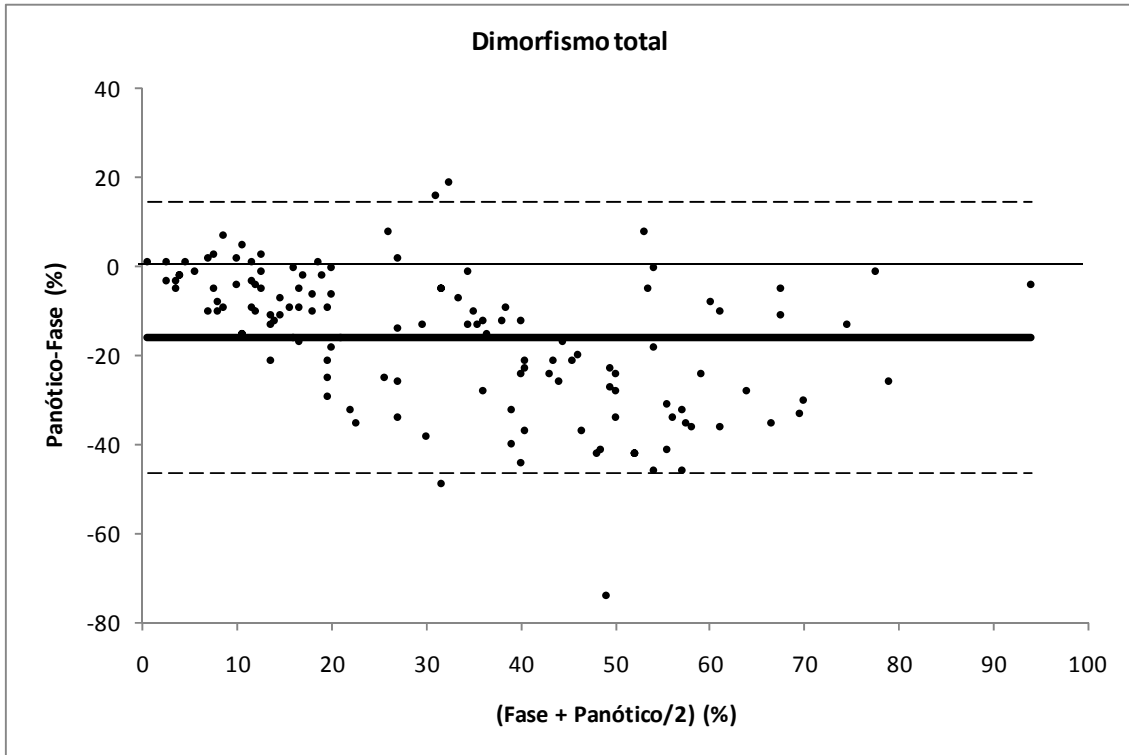
**Figura 27: Diagrama de Bland- Altman referente ao dismorfismo eritrocitário total (Óptico-Fase) (%) e (Fase+Óptico/2) (%)**

No diagrama de Bland-Altman ilustrado na figura 28, os limites de concordância observados entre a de dismorfismo eritrocitário total com sedimento fixado submetido à coloração de Papanicolaou em relação ao dismorfismo eritrocitário total no microscópio de contraste de fase foram de - 40% a + 14% e a média das divergências de – 13%. A coloração de Papanicolaou observado no microscópio óptico convencional subestimou em 13% a porcentagem de hemácias dismórficas no microscópio de contraste de fase.



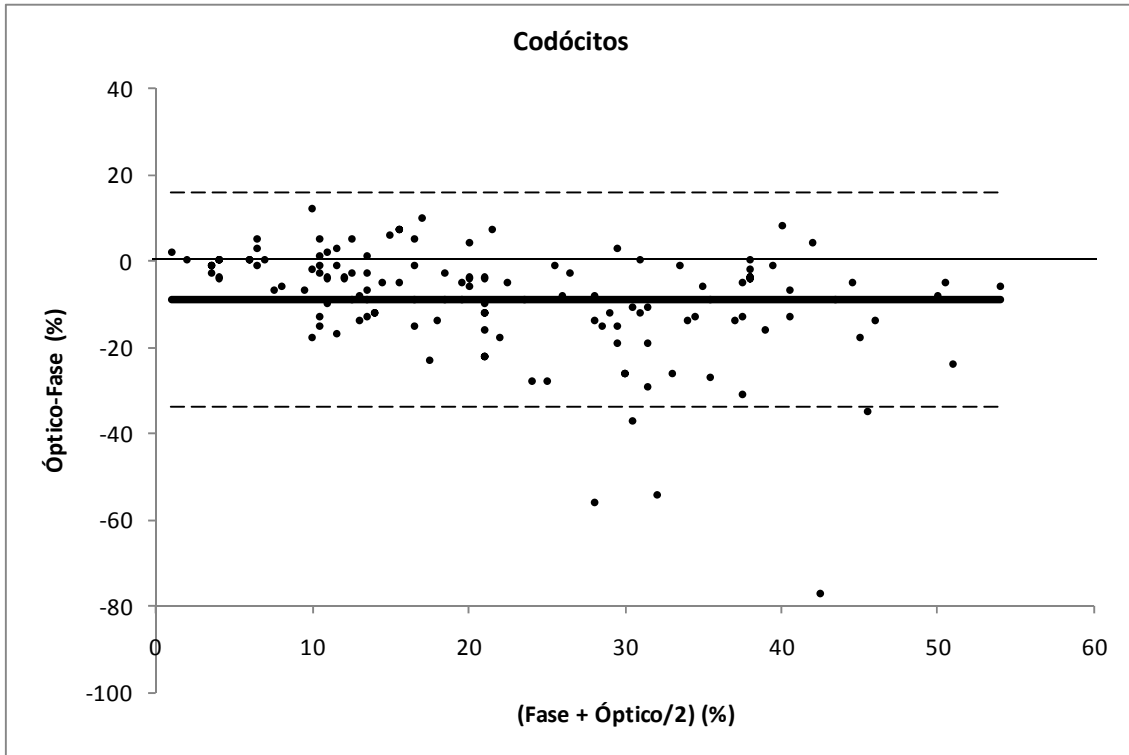
**Figura 28: Diagrama de Bland- Altman referente ao dismorfismo eritrocitário total (Papanicolaou-Fase) (%) e (Fase+Papanicolaou/2) (%)**

Os limites de concordância observados na figura 29 através do diagrama de Bland-Altman da porcentagem de dismorfismo eritrocitário total com sedimento fixado submetido à coloração de Panótico rápido LB observado no microscópio óptico convencional em relação ao dismorfismo eritrocitário total no microscópio de contraste de fase foi de - 46% a + 15% e a média das divergências de – 16%. A coloração de Panótico observado no microscópio óptico convencional subestimou em 16% a porcentagem de hemácias dismórficas no microscópio de contraste de fase.



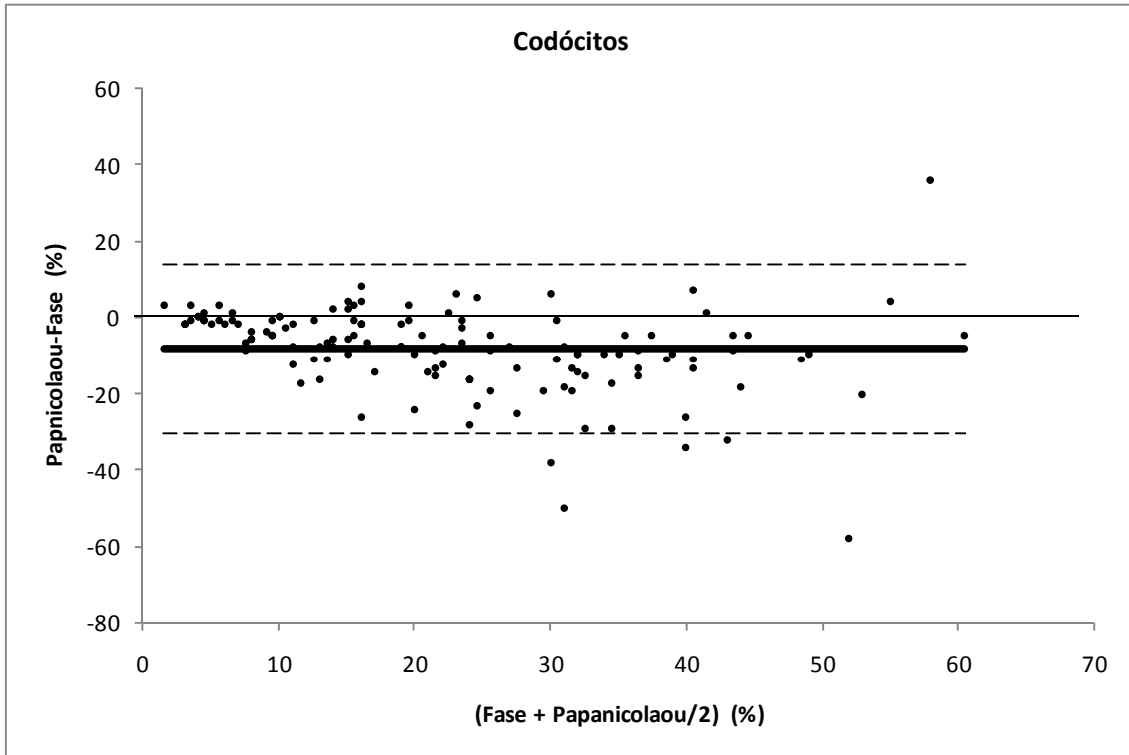
**Figura 29: Diagrama de Bland-Altman referente ao dimorfismo eritrocitário total (Panótico-Fase) (%) e (Fase+Panótico/2) (%)**

No diagrama de Bland-Altman ilustrado na figura 30, os limites de concordância da porcentagem de codócitos observado no microscópio óptico convencional em relação à porcentagem de codócitos observados no microscópio de contraste de fase foram de  $-34\%$  a  $+16\%$  e a média das divergências de  $-9\%$ . A porcentagem de codócitos observada no microscópio óptico convencional subestimou em  $9\%$  a porcentagem codócitos no microscópio de contraste de fase.



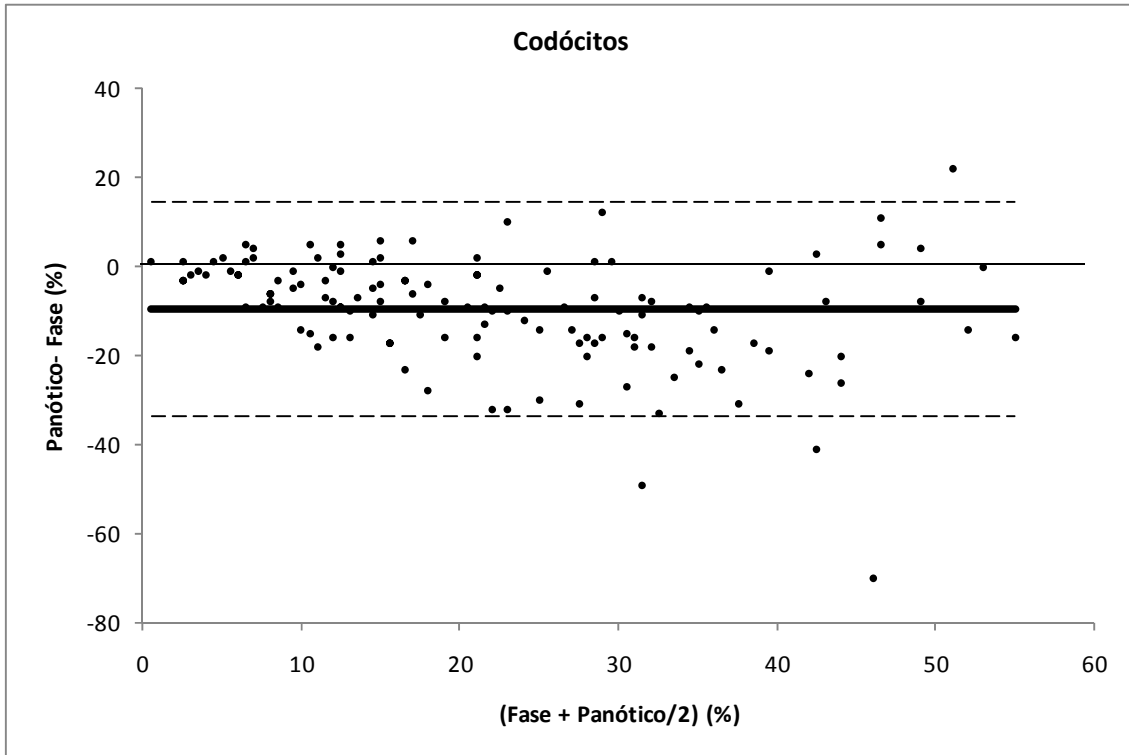
**Figura 30: Diagrama de Bland- Altman referente ao número de Codócitos (Óptico-Fase) (%) e (Fase+Óptico/2) (%)**

Os limites de concordância observados na figura 31 pelo diagrama de Bland-Altman da percentagem de codócitos na coloração de Papanicolaou observado no microscópio óptico convencional em relação à percentagem de codócitos observados no microscópio de contraste de fase foi de  $-30\%$  a  $+14\%$  e a média das divergências de  $-8\%$ . A percentagem de codócitos na coloração de Papanicolaou observada no microscópio óptico convencional subestimou em  $8\%$  a percentagem codócitos no microscópio de contraste de fase.



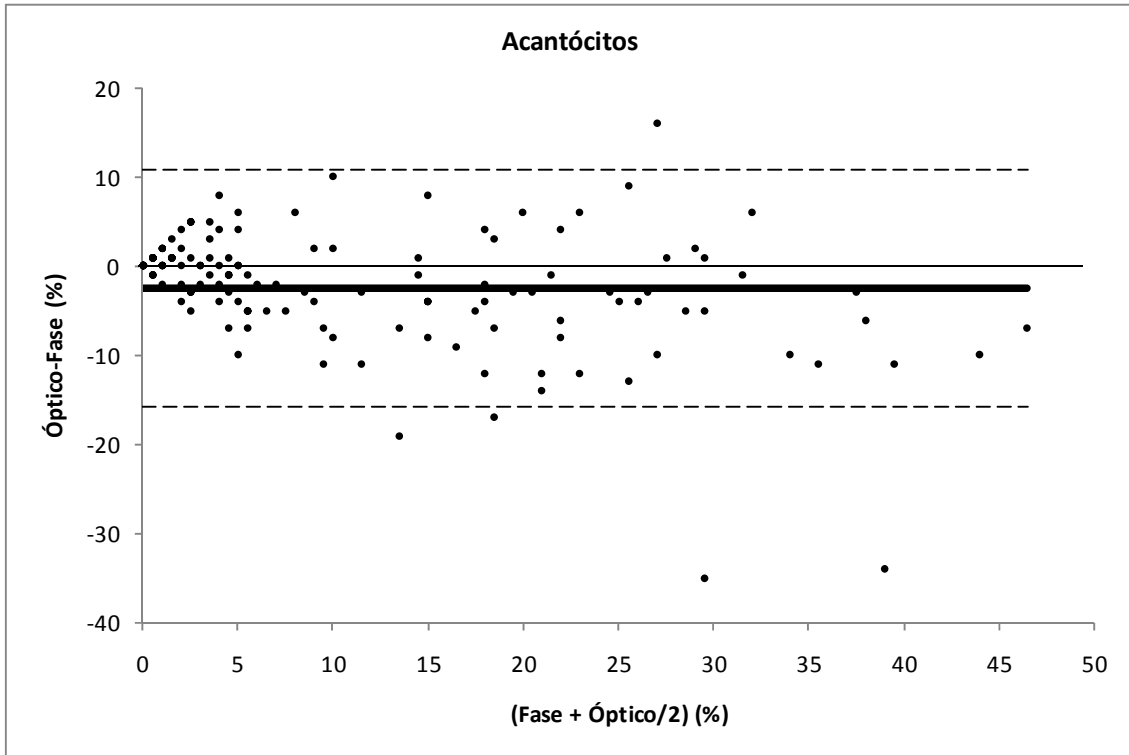
**Figura 31: Diagrama de Bland-Altman referente ao número de Codócitos (Papnicolaou-Fase) (%) e (Fase+Papanicolaou/2) (%)**

No diagrama de Bland-Altman ilustrado na figura 32, os limites de concordância observados da porcentagem de codócitos na coloração de Panótico observado no microscópio óptico convencional em relação à porcentagem de codócitos observados no microscópio de contraste de fase foi de e a média das divergências de  $-9\%$ . A porcentagem de codócitos na coloração de Panótico rápido LB observado no microscópio óptico convencional, subestimou em  $9\%$  a porcentagem codócitos no microscópio de contraste de fase.



**Figura 32: Diagrama de Bland- Altman referente ao número de Codócitos (Panótico-Fase) (%) e (Fase+Panótico/2) (%)**

Os limites de concordância observados através do diagrama de Bland-Altman na figura 33 da porcentagem de acantócitos observados no microscópio óptico convencional em relação à porcentagem de acantócitos observados no microscópio de contraste de fase foram de  $-15\%$  a  $+11\%$  e a média das divergências de  $-2\%$ . Este método subestimou em  $2\%$  a porcentagem acantócitos no microscópio de contraste de fase.



**Figura 33: Diagrama de Bland-Altman referente ao número de Acantócitos (Óptico-Fase) (%) e (Fase+Óptico/2) (%)**

No diagrama de Bland-Altman ilustrado na figura 34 os limites de concordância da percentagem de acantócitos submetido à coloração de papanicolaou observado no microscópio óptico convencional em relação à percentagem de acantócitos observados no microscópio de contraste de fase foi de  $-22\%$  a  $+12\%$  e a média das divergências de  $-5\%$ . A percentagem de acantócitos submetidos à coloração de Papanicolaou observada no microscópio óptico convencional subestimou em  $5\%$  a percentagem acantócitos no microscópio de contraste de fase.

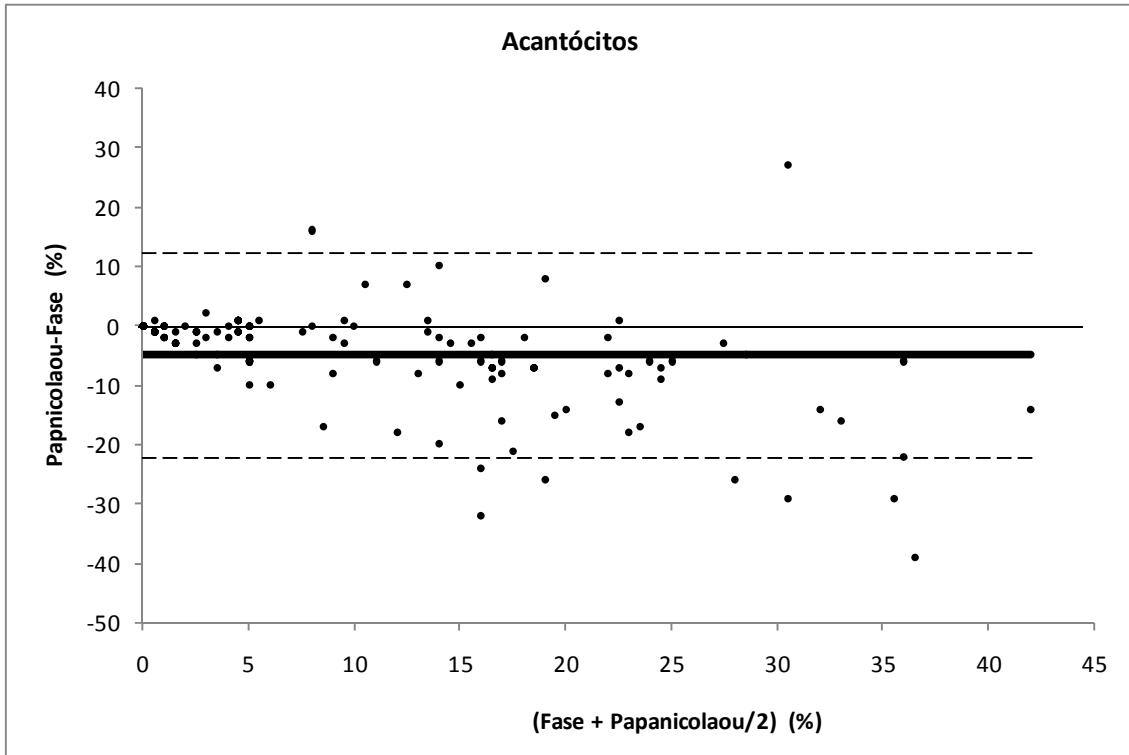


Figura 34: Diagrama de Bland-Altman referente ao número de Acantócitos (Papanicolaou-Fase) (%) e (Fase+Papanicolaou/2) (%)

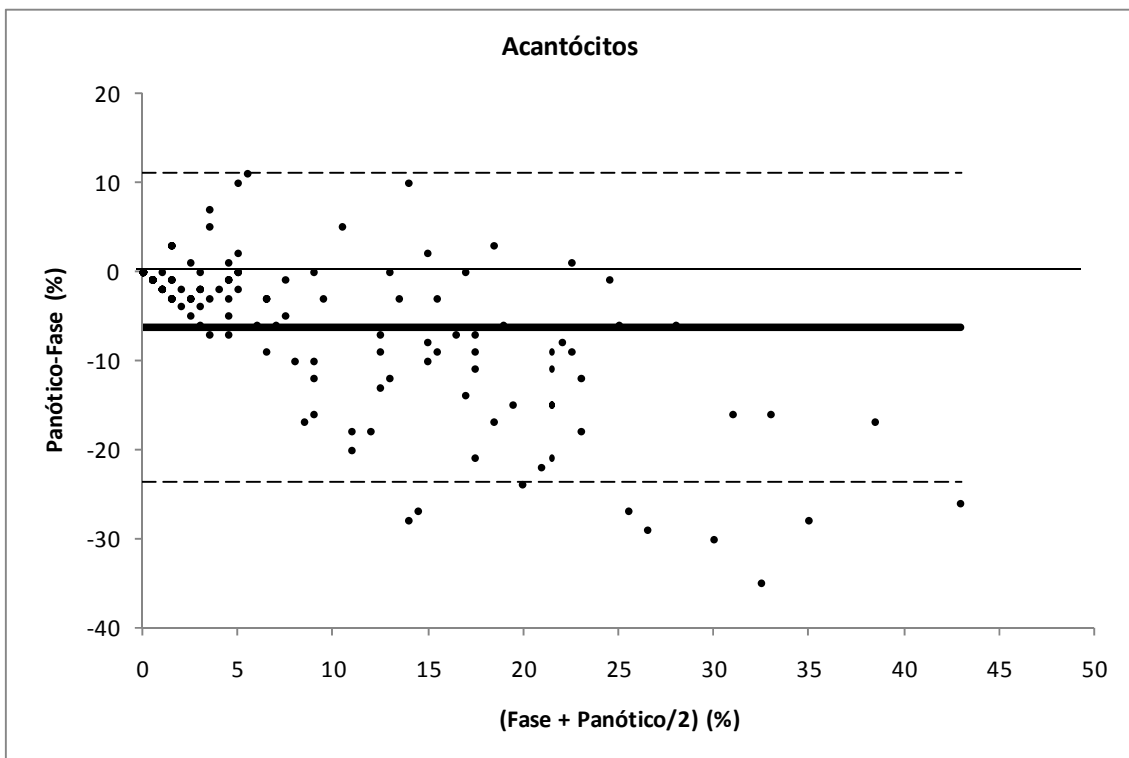


Figura 35: Diagrama de Bland-Altman referente ao número de Acantócitos (Panótico-Fase) (%) e (Fase+Panótico/2) (%)

Os limites de concordância observados na figura 35 pelo diagrama de Bland-Altman da porcentagem de acantócitos com sedimento fixado na coloração de Panótico observados no microscópio óptico convencional em relação à porcentagem de acantócitos observados no microscópio de contraste de fase foi de - 24% a + 11% e a média das divergências de - 6%. A porcentagem de acantócitos submetido à coloração de Panótico rápido LB observado no microscópio óptico convencional subestimou em 6% a porcentagem acantócitos no microscópio de contraste de fase.



---

*Discussão*

---

comparar o microscópio de contraste de fase com o microscópio óptico convencional, observaram que a taxa de dismorfismo eritrocitário variou de 4-98% no microscópio óptico convencional e ao traçar a curva ROC referente a esta análise, observaram um ponto de corte de 40% de hemácias dismórficas, com uma sensibilidade de 90% e especificidade de 100%, entretanto esse autor utilizou um método discretamente diferente do utilizado neste trabalho, a saber, realizou a leitura com a lente condensadora abaixada.

Singbal e Mittal (1996) realizaram um estudo com 80 pacientes, e comparou três métodos de avaliação, microscópio de contraste de fase, microscópio óptico convencional (sedimento fresco) e microscópio óptico convencional na análise do sedimento fixado pela coloração de Wright's e utilizando a literatura determinou um ponto de corte de 20%. Com uma porcentagem de 37% de células dismórficas em microscópio óptico convencional, esses autores encontraram uma sensibilidade de 93%, e concluíram que este método pode ser mais bem aproveitado, pois apresenta um menor custo que o microscópio de contraste de fase, porém o microscópio de contraste de fase apresentou uma sensibilidade de 96% sendo mais sensível que o microscópio óptico convencional, pois apresentou melhor visualização.

Mehta *et al.* (1994) estudaram 87 casos de crianças com hematúria, sendo 45 de origem glomerular, também compararam os três métodos utilizados por Singbal e Mittal e adotaram um ponto de corte de 40% na diferenciação do dismorfismo eritrocitário sendo que no microscópio óptico convencional, encontraram uma sensibilidade de 66% sugerindo que este método é menos sensível em relação ao microscópio de contraste de fase que apresentou uma sensibilidade de 91%.

No correte trabalho, quanto aos codócitos avaliados em microscópio óptico convencional, foi encontrado um ponto de corte de 15%, sensibilidade de 88% e

especificidade de 82%, O achado de mais de 32% da porcentagem de codócitos, neste estudo confirma a hematúria glomerular (especificidade de 100%). Assim como o achado de menos que 8% da porcentagem de codócitos, excluiu o diagnóstico de hematúria glomerular (sensibilidade de 100%). Não se pôde encontrar na literatura trabalhos que avaliassem o valor diagnóstico dos codócitos isoladamente em sedimento fresco analisado em microscópio óptico convencional.

Quanto aos acantócitos em microscópio óptico convencional, o ponto de corte encontrado foi de 6%, com sensibilidade de 85% e especificidade de 83%. Quando se fixou um ponto de corte maior que 36%, confirmamos a hematúria glomerular, pois este ponto apresentou uma especificidade de 100%, assim como, apenas a ausência de acantócitos apresentou uma sensibilidade de 100%, excluindo assim o diagnóstico de hematúria glomerular.

Dinda *et al.* (1997) em um estudo duplo cego com 250 amostras sendo 122 amostras com hematúria, usando microscópio de contraste de fase, microscópio óptico convencional (sedimento fresco) e sedimento fixado pela coloração de Wright's avaliado em microscópio óptico convencional, mostrou que a presença de acantócitos ou células G1, é mais específica que o dismorfismo eritrocitário total no diagnóstico da hematuria glomerular com uma porcentagem de 4% apresentou uma sensibilidade de 100%. Esses autores concluíram que a avaliação do dismorfismo eritrocitário pode ser feita utilizando o microscópio óptico convencional, porém o microscópio de contraste de fase é um método mais sensível nessa avaliação.

Dessa maneira, todos esses parâmetros foram capazes de discriminar a presença de hematúria glomerular. Estes dados mostram que é possível avaliar o dismorfismo eritrocitário no microscópio óptico convencional, o que corrobora dados da literatura (BARROS SILVA, 2010; MEHTA, 1994, SINGBAL, 1996, DINDA, 1997)

No presente estudo, quando avaliado o dismorfismo eritrocitário em microscópio de contraste de fase, o acantócito apresentou a melhor associação com a origem da hematúria (melhor área sob a curva), tendo como ponto de corte, o achado de 8% das hemácias totais, com sensibilidade de 94% e especificidade de 89%. O achado de mais de 29% da porcentagem de acantócitos, neste estudo confirma a hematúria glomerular (especificidade de 100%). Assim como, a ausência de acantócitos excluiu o diagnóstico de hematúria glomerular (sensibilidade de 100%).

Köhler *et al.*(1991) avaliaram amostras de 351 pacientes com hematúria analisando a morfologia dos eritrócitos em microscopia de contraste de fase, este estudo demonstrou que nos pacientes glomerulopatas comprovados por biópsia renal, os acantócitos representavam 12,4% de todos os eritrócitos presentes, e nos pacientes não glomerulares a porcentagem foi inferior a 2%, a contagem de acantócitos igual ou superior a 5% foi encontrada em 75 dos 143 pacientes com glomerulopatia comprovada por biópsia renal, apresentando uma sensibilidade de 52% e especificidade de 98% dos 187 pacientes não glomerulares, sugerindo que a presença de acantócitos acima de 5% é um bom marcador de hematuria glomerular. Estes dados, de certo modo, diferem do presente estudo, porém concordam na medida em que demonstram uma baixa sensibilidade deste tipo de células.

.Esses dados diferem pouco de Catala *et al.*(2002) que em seu estudo com 170 pacientes, sendo 73 pacientes glomerulares e 97 não glomerulares compararam a porcentagem de hemácias dismórficas e de acantócitos e com um ponto de corte acima de 35% de células dismórficas apresentou uma sensibilidade de 69% e especificidade de 100% e quando a hematúria glomerular foi definida pela contagem

de acantócitos igual ou superior a 5% a sensibilidade aumentou para 88% e a especificidade permaneceu em 100%.

Entretanto, os dados de Catala *et al.*(2002) diferem sensivelmente de Tomita *et al.* (1992) que em seu estudo com 113 pacientes sendo 73 glomerulares observou a porcentagem de acantócitos ou células G1 em microscopia de interferência diferencial e determinou um ponto de corte de 1% com sensibilidade de 89% e especificidade de 95%. As doenças renais avaliadas por esses autores diferiram significativamente das doenças avaliadas no presente estudo. Esta pode ser a fonte de discordância entre os respectivos resultados.

Em nosso trabalho, ao avaliar a porcentagem do dismorfismo eritrocitário total, encontrou-se um melhor ponto de corte de 41%, com sensibilidade de 80% e especificidade de 88%. O achado de mais de 89% de dismorfismo eritrocitário total confirmou a hematúria glomerular, pois apresentou uma especificidade de 100%. Assim como o achado de menos de 13% de hemácias dismórficas, excluiu o diagnóstico de hematúria glomerular, pois este ponto apresentou uma sensibilidade de 100%.

Estes dados diferem de Barros Silva *et al.* (2010) que realizou um estudo com 39 pacientes, que também adotou a análise estatística da curva ROC, encontrou uma taxa de dismorfismo eritrocitário de 20 a 94% com um ponto de corte de 30% com uma sensibilidade de 95% e especificidade de 100% no microscópio de contraste de fase. Fogazzi *et al.* (1989) estudaram a porcentagem de hemácias dismórficas e acantócitos em pacientes com hematuria microscópica isolada e utilizando o padrão descrito na literatura adotou um ponto de corte de 40% de dismorfismo eritrocitário com uma sensibilidade de 59% que após a constatação da

hematúria glomerular foram submetidos à biópsia renal para confirmação do diagnóstico.

Esses dados se assemelham a Mehta *et al.* (1994) em seu estudo também utilizaram o microscópio de contraste de fase no diagnóstico da hematúria, com um ponto de corte de 40% na avaliação do dismorfismo eritrocitário apresentou uma sensibilidade de 91%, e diferem de Mohammad *et al.* (1993) que em um estudo com 109 pacientes, adotaram um ponto de corte de 20% na avaliação do dismorfismo eritrocitário, com uma sensibilidade de 90% e especificidade de 100% no diagnóstico da hematúria, esses autores afirmam que o microscópio de contraste de fase parece ser o melhor método para o diagnóstico da hematúria, porém, esses autores não estabeleceram nenhum método estatístico para determinar este ponto de corte de 20%.

Singbal *et al.* em 1996 adotando um ponto de corte de 20% baseado na literatura observaram 60% de hemácias dismórficas, com uma sensibilidade de 96% no diagnóstico da hematúria glomerular. Pillsworth *et al.* (1987), em um estudo com 69 pacientes usando o microscópio de contraste de fase na diferenciação de hematúria adotou um ponto de corte de 14% determinado por análise de curva ROC com uma sensibilidade de 88 % e especificidade de 94% Assim a presença de um valor de hemácias dismórficas inferior a 14% foi sugestivo de doença extra-rena e um valor acima de 14% foi sugestivo de doença intra-renal.

Quanto à porcentagem de codócitos em nosso trabalho, o ponto de corte de 27% apresentou uma sensibilidade de 73%, especificidade 78%. Um ponto de corte acima de 82% da porcentagem de codócitos confirmou a hematúria glomerular, pois apresentou uma especificidade de 100%. Assim como, um ponto de corte inferior a 9% de hemácias dismórficas, excluiu o diagnóstico de hematúria glomerular, pois

apresentou uma sensibilidade de 100%. Na literatura não foi encontrado um trabalho que determinasse especificamente a porcentagem de codócitos na avaliação do dismorfismo eritrocitário para que pudesse comparar os dados com o presente estudo.

Em relação ao método fixado, a vantagem da análise do sedimento urinário fixado e corado é que pode ser executada em qualquer laboratório com um menor custo, além de fornecer uma lâmina que pode ser revista sempre que desejar.

Bottini (2005) em seu estudo com 56 pacientes fixou o sedimento urinário em uma solução tampão de sódio fosfato formaldeído 3% e analisou esta lâmina no mesmo dia, depois no sétimo dia e após 90 dias. A análise estatística desses resultados mostrou nenhuma diferença entre as células vistas no primeiro dia até o 90º dia de armazenamento com conservação da amostra. O mesmo ocorreu com Anpalaham *et al.*(1994) que mostraram também que o sedimento fixado em solução de glutaraldeído ou formaldeído se manteve inalterado durante três meses. Esses autores afirmam que o sedimento fixado pode ser usado na avaliação do dismorfismo eritrocitário, além de ser um método barato a lâmina pode ser observada sempre que precisar.

No presente estudo, quando avaliado o dismorfismo eritrocitário em microscópio óptico convencional com sedimento urinário fixado submetido à coloração de Papanicolaou o dismorfismo eritrocitário total, apresentou a melhor correlação com a origem da hematúria (melhor área sob a curva), tendo como ponto de corte, o achado de 20% das hemácias totais, com sensibilidade de 82% e especificidade de 85%. O achado de mais de 48% do dismorfismo eritrocitário total, neste estudo confirmou a hematúria glomerular, pois apresentou uma especificidade de 100%. Assim como o achado de menos de 6% de hemácias dismórficas, excluiu

o diagnóstico de hematúria glomerular, pois apresentou neste ponto uma sensibilidade de 100%.

Esses dados corroboram os achados de Singbal *et al.* (1996) que adotaram com 80 pacientes a coloração de Wright's na avaliação do dismorfismo eritrocitário em lâminas fixadas e, também encontraram um ponto de corte de 20% com uma sensibilidade de 90% e diferem de Mehta *et al.* (1994), que adotaram a mesma coloração, porém um ponto de corte de 40% com uma sensibilidade de 82% na avaliação da hematúria glomerular. Huussen, *et al.*, (2004) e Van der Snoek *et al.*(1994) adotaram um método de fixação diferente do presente estudo, esses autores utilizaram CelFix, um formaldeído como fixador na análise do dismorfismo eritrocitário. Os autores do primeiro estudo, com 107 pacientes apresentaram um ponto de corte similar ao presente estudo, sendo o mesmo de 20% com uma sensibilidade de 82% e especificidade de 100% sendo o padrão ouro do estudo a biópsia renal. Os autores do segundo estudo utilizaram um ponto de corte de 40% de hemácias dismórficas, incluindo, em seu estudo, a presença de cilindros eritrocitários e observaram uma sensibilidade de 88% e especificidade de 100% na diferenciação da hematúria glomerular.

Neste trabalho quando avaliada à porcentagem de codócitos na coloração de Papanicolaou observado em microscópio óptico convencional foi obtido um ponto de corte de 15%, sensibilidade de 92%, especificidade de 75%. Quando se encontrou um ponto de corte acima de 31% da porcentagem de codócitos, confirmou a hematúria glomerular, pois apresentou uma especificidade de 100%. Assim como, um ponto de corte inferior a 5% da porcentagem de codócitos excluiu o diagnóstico de hematúria glomerular, pois apresentou uma sensibilidade de 100%. Também não

## 5- Discussão

A avaliação do dismorfismo eritrocitário é fundamental no diagnóstico diferencial das hematúrias. Não há dados conclusivos na literatura acerca da melhor maneira de avaliação das diferentes formas das hemácias: codócitos, acantócitos ou dismorfismo eritrocitário total, e em que microscópio elas devam ser avaliadas. Assim como também não há clareza de qual o melhor ponto de corte para diferenciação da origem da hematúria para cada forma de hemácia em cada tipo de microscópio, óptico convencional ou contraste de fase.

Em nosso trabalho, nos pacientes não glomerulares, as hemácias mais comumente encontradas foram as do tipo isomórficas e nos pacientes glomerulares, os tipos de hemácias dismórficas avaliadas foram os codócitos e acantócitos. Também foi possível avaliar as diferentes formas de hemácias nos diferentes métodos a fresco e fixado, sendo possível inclusive determinar o melhor ponto de corte para cada avaliação, o ponto no qual a sensibilidade era de 100% e o ponto no qual a especificidade era de 100%.

No presente estudo, quando avaliado o dismorfismo eritrocitário em microscópio óptico convencional, o dismorfismo eritrocitário total apresentou a melhor correlação com a origem da hematúria (melhor área sob a curva), tendo como ponto de corte, o achado de 26% das hemácias totais, com sensibilidade de 82% e especificidade de 94%. O achado de mais de 58% de dismorfismo, neste estudo confirma a hematúria glomerular (especificidade de 100%). Assim como o achado de menos que 9% de hemácias dismórficas, excluiu o diagnóstico de hematúria glomerular (sensibilidade de 100%).

Esses dados diferem de outros autores que avaliaram o dismorfismo pela microscopia de luz. Barros Silva *et al.* (2010) em um estudo com 39 pacientes, ao

há na literatura trabalhos que tratem especificamente da porcentagem de codócitos na coloração de Papanicolaou para possíveis comparações.

Para os acantócitos submetidos a essa coloração neste trabalho, o melhor ponto de corte foi de 9%, neste ponto a sensibilidade foi de 73%, a especificidade de 92%. O achado de mais de 22% da porcentagem de acantócitos, neste estudo confirmou a hematúria glomerular (especificidade de 100%). Assim como, a ausência de acantócitos excluiu o diagnóstico de hematúria glomerular (sensibilidade de 100%).

. Esses dados diferem de Chang *et al.* (1984) que, utilizando o corante de Wright's em seu estudo fixaram um ponto de corte de 20-25% na avaliação dos acantócitos e verificaram que este método de coloração foi mais sensível que o microscópio óptico convencional.

Em nosso estudo, quando avaliado o dismorfismo eritrocitário em microscópio óptico convencional com sedimento urinário submetido à coloração de Panótico rápido LB o dismorfismo eritrocitário total, apresentou a melhor correlação com a origem da hematúria (melhor área sob a curva), tendo como ponto de corte, o achado de 20% das hemácias totais, com sensibilidade de 86% e especificidade de 85%. O achado de mais de 73% do dismorfismo eritrocitário total, neste estudo confirmou a hematúria glomerular, pois apresentou uma especificidade de 100%. Assim como o achado de menos de 7% de hemácias dismórficas, excluiu o diagnóstico de hematúria glomerular, pois apresentou neste ponto uma sensibilidade de 100%.

Esses dados também corroboram os dados de Singbal *et al.* (1996) que adotaram em seu estudo com 80 pacientes a coloração de Wright na avaliação do

dismorfismo eritrocitário em lâminas fixadas e, também encontraram um ponto de corte de 20% com uma sensibilidade de 90%

Neste estudo, quanto à porcentagem de codócitos na coloração de Panótico rápido LB observado em microscópio óptico convencional apresentou um ponto de corte de 16%, sensibilidade de 80%, especificidade 85%. O achado de um ponto de corte acima de 46% da porcentagem de codócitos confirmou a hematúria glomerular, pois apresentou uma especificidade de 100%. Assim como, um ponto de corte inferior a 5% excluiu o diagnóstico de hematúria glomerular, pois apresentou uma sensibilidade de 100%.

Também não há na literatura trabalhos que tratem especificamente da porcentagem de codócitos na coloração de Panótico rápido LB para possíveis comparações.

No corrente trabalho os acantócitos também submetidos a essa coloração apresentaram um ponto de corte de 8%, sensibilidade 67%, especificidade de 93%. Com um ponto de corte acima de 24% da porcentagem de acantócitos confirmou a hematúria glomerular, pois apresentou uma especificidade de 100%. Assim como, a ausência de acantócitos no sedimento urinário excluiu o diagnóstico de hematúria glomerular, pois apresentou uma sensibilidade de 100%.

Os achados deste estudo diferem dos de Hussen,*et al* (2004) ,Birch (1979), Nagahama *et al* (2005), Osmani *et al* (1987), Tomita *et al* (1992), que relataram que para a diferenciação entre hematúria urológica e nefrológica, a microscopia de contraste de fase parece ser o melhor método de análise do sedimento urinário, principalmente para o estudo do dismorfismo eritrocitário. No corrente estudo os métodos avaliados em microscópio de contraste de fase e em microscópio óptico convencional foram equivalentes quanto ao dismorfismo eritrocitário total, com

discreta vantagem para avaliação dos codócitos no microscópio óptico convencional, contrabalançada por discreta vantagem para avaliação dos acantócitos no microscópio de contraste de fase.

Diante destes resultados, podemos afirmar que é possível avaliar o dismorfismo eritrocitário no microscópio óptico convencional, com urina fresca, bem como com urina fixada, mas com pontos de corte diferentes: dessa maneira é necessário considerar o melhor ponto de corte para cada avaliação, como preditor de hematúria glomerular.

Ao analisar as curvas ROC que foram traçadas para avaliar os índices de proteinúria e albuminúria como preditores de hematúria glomerular, verifica-se que esses métodos de avaliação também foram eficientes no diagnóstico da hematúria.

Neste estudo, quando avaliado o índice de proteinúria, também foi possível verificar uma associação com a origem da hematúria, tendo como ponto de corte o valor de 300mg/g de creatininúria com uma sensibilidade de 67% e especificidade de 88%. O achado de um ponto de corte acima de 2724,5 mg/g de creatininúria, em nosso estudo confirmou hematúria glomerular, pois neste ponto a especificidade foi de 100%. Assim como, o achado de um ponto de corte menor que 18,8 mg/g de creatininúria, excluiu o diagnóstico de hematúria glomerular pois apresentou uma sensibilidade de 100%.

House e Cattran (2002) relatam em seu estudo que a proteinúria tem relação com o diagnóstico da hematuria, eles relatam que a proteinúria glomerular consiste de albumina > 3,5 g/24hs e afirmam que a coexistência de hematúria microscópica com cilindros eritrocitários ou proteinúria positiva sugere doença glomerular. Ohisa *et al.* (2007) relataram em seu trabalho com 143 amostras de urina, a utilização da albumina em relação ao total de proteínas na diferenciação da hematúria glomerular.

Com um ponto de corte 0,59 de albumina em relação ao total de proteína demonstrou uma sensibilidade de 97% na detecção da doença glomerular e concluíram que a razão de albumina em relação ao total de proteína é potencialmente útil para a diferenciação da hematuria glomerular e não glomerular na presença de hematuria.

No corrente estudo, quando avaliado o índice de albuminúria, também foi possível verificar uma associação com a origem da hematuria, tendo como ponto de corte o valor de 54,4 mg/g de creatininúria com uma sensibilidade de 76% e especificidade de 85%. O achado de albuminúria acima de 624,27 mg/g de creatininúria, em nosso estudo confirmou hematuria glomerular, pois neste ponto a especificidade foi de 100%. Assim como, o achado de albuminúria menor que 0,82 mg/g de creatininúria, excluiu o diagnóstico de hematuria glomerular pois apresentou uma sensibilidade de 100%.

Esses dados diferem de Eardley *et al.*(2004) que ao realizarem um estudo prospectivo em 169 adultos submetidos a biópsia renal, 50 apresentaram albuminúria sendo que a maioria desses pacientes tinham nefropatia por IgA . No momento da biópsia a proteinúria foi > 500 mg/ 24horas. Este estudo não determinou a nefropatia por IgA com grande precisão mas sua prevalência foi quatro vezes maior nos pacientes com excreção urinária de albumina. Esses autores concluíram que este método de avaliação pode auxiliar na decisão de ser fazer biópsia renal para o diagnóstico da hematuria.

Assadi (2005) avaliou a excreção urinária de albumina em 76 crianças com hematuria microscópica assintomática. Todas as crianças foram submetidas a uma biópsia renal percutânea para determinar se a excreção de albumina poderia ser usada como um marcador para prever a fonte de hematuria. Desses pacientes 20

apresentaram nefropatia por IgA e o valor da excreção urinária de albumina variou 40-100 µg/mg. Estes dados sugerem que a determinação da excreção urinária de albumina é essencial no exame de rotina de crianças com hematúria microscópica isolada. Exames de rotina para albuminúria pode ajudar a identificar um subgrupo de pacientes com nefropatia por IgA que são de alto risco para doença renal progressiva e precisa de terapia mais intensiva e acompanhamento mais próximo.

Em outro estudo realizado em 743 pacientes com diabetes tipo 2 (SHEN *et al.*, 2012) 415 pacientes apresentaram albuminúria. Nos 144 pacientes que tinham hematuria a relação albumina/ creatinina foi maior, concluindo que existe uma correlação significativa entre a hematuria e a gravidade da albuminúria. Embora estes pacientes não tenham sido submetidos à biópsia renal, devido à associação positiva entre a presença de hematúria e o grau de albuminúria eram todos glomerulares, mostrando que o aumento do índice de albumina/ creatinina foi o único preditor de hematúria em pacientes com diabetes tipo 2.

Esses dados demonstram que é possível predizer a origem da hematúria do paciente (se glomerular ou não glomerular), mas ao comparar as áreas sob as curvas dos índices de proteinúria e albuminúria em relação à avaliação do dismorfismo eritrocitário em todos os métodos realizados neste estudo. Verifica-se que a avaliação do número de hemácias dismórficas, por quaisquer dos métodos aqui empregados é melhor instrumento no diagnóstico diferencial da hematúria glomerular comparado com a avaliação da proteinúria ou mesmo da albuminúria.

A análise das regressões lineares referentes ao dismorfismo eritrocitário total no microscópio de contraste de fase mostra uma correlação estatisticamente significativa da porcentagem de hematúria com todos os demais métodos avaliados. O mesmo ocorreu nos gráficos de regressão linear referente ao número de codócitos

e acantócitos. Revisão da literatura não resultou em nenhum trabalho que tivesse realizado este tipo de análise.

No corrente trabalho, o diagrama de Bland- Altman também foi realizado para comparar os métodos avaliados. Da mesma maneira, do ocorrido com a análise de regressão, não foi encontrado nenhum trabalho na literatura que realizou este tipo de análise.

Esses dados reforçam a idéia de que todos os métodos podem ser úteis na diferenciação da hematúria glomerular, mas cada um apresentou um ponto de corte diferente para melhor associação com a origem da hematúria. A determinação destes pontos de corte favorece a possibilidade de avaliar a hematúria por diferentes microscópios, exames a fresco ou fixados, determinando os valores de interpretação para o diagnóstico da origem da hematúria.

Em resumo, os resultados deste trabalho indicam que a análise do dismorfismo eritrocitário em todos os métodos aplicados baseados na pesquisa de codócitos e acantócitos foi eficaz na diferenciação da hematúria glomerular e não glomerular. O teste, com atenção dirigida para identificar corretamente estes tipos morfológicos é eficaz e pode evitar métodos mais invasivos.

De qualquer maneira, a urinálise é uma ferramenta que deve ser utilizada como ponto de partida para a investigação da origem da hematúria sem expor o paciente a riscos, além de ser um método de baixo custo, podendo ser repetido diversas vezes ao longo do curso de sua patologia.

É importante salientar que no presente estudo, considerou-se hematúria a presença de cinco ou mais hemácias por campo de grande aumento (400), pois este número encontra apoio em diversos relatos da literatura como sendo de utilidade na prática clínica, além de fornecer um número suficiente de hemácias para observação

morfológica, apesar de valores mais rigorosos de normalidade estarem abaixo deste limite. (CUSHNER & COPLEY, 1989; FIGUEIREDO & PEREIRA, 1991; LARCOM & CARTER, 1948; SCHUMANN & SCHWEITZER, 1991; FOGAZZI *et al.*, 1989).

Qualquer análise de sedimento urinário pressupõe uma coleta estritamente bem feita. Os casos envolvidos na análise final foram suficientemente alicerçados em dados clínicos, laboratoriais e anatomopatológicos que permitiram afirmar com segurança o tipo de hematuria, se eram de origem glomerular ou não glomerular.

O presente trabalho apresenta diversos pontos fortes, é um trabalho prospectivo que testa diversos métodos de avaliação e diversos métodos estatísticos para comprovar as diferentes técnicas utilizadas e utiliza um padrão ouro confiável: a biópsia renal com diagnóstico de glomerulopatia de cada paciente deste grupo ou o achado de litíase em exames de imagem em pacientes do grupo não glomerular.

Outro ponto forte foi estudar separadamente o valor diagnóstico dos diferentes tipos de dismorfismo (total, porcentagem de codócitos e porcentagem de acantócitos) avaliadas separadamente em cada técnica apresentada. Também verificou a frequência de hematúria dismórfica que pôde predizer em 100% dos casos, o diagnóstico ou de doença glomerular ou de doença não glomerular sendo que não foi encontrado na literatura nenhum trabalho que descrevesse estes resultados. Além disso, ressalta a possibilidade de avaliação do dismorfismo por meio de urina fixada pelo Panótico rápido LB, utilizado em colorações de lâminas hematológicas, ressaltando sua sensibilidade e especificidade, não demonstrado em nenhum outro trabalho presente na literatura.

Consideramos limitações deste estudo o fato de ser unicêntrico e as lâminas foram avaliadas por um único observador. Todos os pacientes do grupo não glomerular tinham como etiologia da hematúria, a calculose renal, não havendo

neste estudo outras patologias como doença renal policística, câncer, malformações vasculares, trauma renal, necrose papilar, hipercalcúria, hiperuricosúria, entre outras, porém é improvável que este fato interfira no resultado final.

## **6- Conclusões**

Este estudo mostrou que é possível verificar a origem da hematúria por meio da avaliação do dismorfismo eritrocitário no exame de urina, tanto por meio do microscópio óptico convencional com sedimento fresco ou fixado quanto por intermédio do microscópio de contraste de fase. Este trabalho também determinou o melhor ponto de corte para a avaliação de cada morfologia de hemácia em cada método avaliado, o que credencia esses métodos no diagnóstico diferencial da hematúria. Apesar da proteinúria e albuminúria poderem ser utilizadas no auxílio do diagnóstico da origem da hematúria, a avaliação do dismorfismo eritrocitário foi o melhor método na diferenciação da hematúria glomerular.

---

*Referências Bibliográficas*

---

## 7- Referências Bibliográficas

- ABDURRAHMAN, M. B.; KAMBAL, A. M.; KURBAAN, K. M.; IMAMBACCUS, M. Y.; CHAGLA, A. H. - Diagnostic value of phase contrast microscopy in haematuria. *Trop. Geogr. Med.* 1985, v. 37, p. 171-174.
- ALVES, M. A. R. - Diagnóstico de doença renal crônica: avaliação de proteinúria e sedimento urinário. *J. Bras. Nefrol.* 2004, v. 26, p. 06-08.
- ANPALAHAN, M., BIRCH, D., BECKER, G. - Chemical Preservation of Urine Sediment for Phase-Contrast Microscopic Examination. *Nephron* 1994 v. 68 p. 180-183.
- ASSADI, F. K. - Value of urinary excretion of microalbumin in predicting glomerular lesions in children with isolated microscopic hematuria. *Pediatr. Nephrol.* 2005, v. 20, p. 1131-1135.
- BARROS SILVA, G. E., COSTA, R. S., RAVINAL, R. C, SARAIVA E SILVA, J., DANTAS, M. , COIMBRA, T. M. - Evaluation of erythrocyte dysmorphism by light microscopy with lowering of the condenser lens: A simple and efficient method. *Nephrology* . 2010, v. 15, p.171-177.
- BASTOS, M. G.; MARTINS, G. A.; PAULA, R. B. - Diagnóstico diferencial na hematúria. *J. Bras. Nefrol.*, 1998, v.20, p. 425-40.
- BESSIS, M. - Red cell shapes: an illustrated classification.and its rationale. *Nouvelle Revue Francaise d' Hematologie.* 1972, v.12, p. 721-746.
- BIRCH, D. F, FAIRLEY, K.F.; WHITWORTH, J. A., FORBES, I. K.; FAIRLEY, J.K.; CHESHIRE, G. R.; RYAN, G.B. - Urinary erythrocyte morphology in the diagnosis of glomerular hematúria. *Clin, Nephrology.* 1983, v. 20, p. 78-84.

- BIRCH, D. F., FAIRLEY, K. F. - Hematúria: glomerular or nonglomerular? *Lancet*. 1979, v.2, p.845-6. {editorial}
- BIRCH, D. F., FAIRLEY, K. F., BECKER, G.J. KINCAID-SMITH, P. - A color atlas of urine microscopy. *London, Chapman & Hall*, 1994.
- BOTTINI, P. V., GARLIPP, C. R., LAUAND, J. R., LARA CIOFFI, S. G., AFAZ, S. H, LOPES PRATES, R. - Glomerular and Non-Glomerular Haematuria: Preservation of Urine Sediment *LABMEDICINE*. 2005, v. 36, p. 647-649.
- BRODY, L., WEBSTER, M. C., KARL, R. M. - Identification of elements of urinary sediment with phase contrast microscopy. *J.A.M.A.* 1968, v. 206, p. 1777-178.
- CATALA, J. L. L., FABREGAS, M. B. - Acanthocyturia is more efficient in to differentiate glomerular from non-glomerular hematuria then dysmorphic erythrocytes. *Arch. Esp. Urol.* 2002, v- 55, p.164-166.
- CHANG, B. S. - Red cell morphology as diagnostic ad in hematúria. *J.A.M.A.* 1984, v.252, p.1747-9.
- CHANG, B. S. RBC morphology in glomerular an non-glomerular hematuria *Kidney int.* v.21, 147, 1982 (Abstract)
- COHEN, R. A., BROWN, R. S. - Microscopic Hematuria. *New England Journal of Medicine*. 2003, v.348, p. 2330-2338.
- DANTAS, M.; SILVA, M.; OLIVEIRA, P. C.; FERREIRA FILHO, S. R. - Diagnóstico diferencial das hematúrias através da microscopia de contraste de fase. *J. Bras, Nefrol.* 1985, v. 7 n. 3: p. 91-94.
- DAVIS, L. G. - Microscopia. In: SONNENWYRTH, A. C.; JARETT, L. *Métodos y Diagnósticos del Laboratorio Clínico*. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana AS, 1983, p.7-16.

- DECKERT, T. , RASMUSSEN, FELDT-B. , K-JOHNSEN BORCH, K., JENSEN T. , KOFOED ENEVOLDSES, A. - Albuminuria reflects widespread vascular damage. *The Steno Hypothesis*. *Diabetologia*. 1989, v. 32, p. 219-226.
- DINDA, A. K., SAXENA, S., GULERIA, S., TIWARI, S. C. , TRACO, S. C., SRIVASTAVA, R. N., SINGH, C. - Diagnosis of glomerular hematuria: role of dysmorphic red cell, G1 cell and bright-field microscopy. *Scand j. clin. Investi* 1997, v. 57, p.203-208.
- EARDLEY, K. S. , FERREIRA, M. A. , HOWIE, A. J., GOSLING, P. , LIPKIN, G. W. - Urinary albumin excretion: a predictor of glomerular findings in adults with microscopic haematuria. *Q. J. Med.* 2004, v. 97, p. 297-301.
- FAIRLEY, K. F. & BIRCH, D. F. - Hematuria: a simple method for identifying glomerular bleeding. *Kidney Int.* 1982, v. 21, p. 105-108.
- FASSET, R. G.; HORGAN, B. A.; MATHEW, T. H. - Detection of glomerular bleeding by phase-contrast microscopy. *Lancet*, 1982, v. 1, p. 1432-4.
- FAVARO, S., BONFANTE, L., GIACOMANI, A., SCHIAVON, M., MORANDI, G. MASIERO, M., MUSSUP, M., BORSATTI, A. - Microhematuria associated with micoproteinuria: a intriguing new clinical entity. *Clin.Nephrol.* 1994, p-41-56.
- FOGAZZI, G. B.; PAPARELLA, M.; VIGANO, E.; CURRO, A.; PONTICELLI, C. - Use of high Power Field in the evaluation of formed elements of urine. *J. Nephrol.* 1989, v. 2, p. 107-112.
- GLASSOCK, R. J. - Proteinuria. In MASSRY, S. G., GLASSOCK. RJ eds. *Text Book of Nephrology, 3<sup>rd</sup> ed.*, Baltimore, Williams & Wilkins, 1995, p. 600-604.

- GLASSOCK, R. J.; ADLER, S. G.; WARD, H. J.; COHEN, A. H. - Primary glomerular diseases. In: BRENNER, B. M. & RECTOR, F. C. *The Kidney*. 4<sup>th</sup>. Ed. Philadelphia, Saunders, 1991a , p.1182-1279.
- GLASSOCK, R. J.; COHEN, A. H.; ADLER, S. G.; WARD, H. J. - Secondary glomerular diseases In. BRENNER, B. M. & RECTOR, F. C. *The Kidney*. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Saunders, 1991b, p. 1280-1368.
- GROSSFELD, G. D., LITWIN, M. S., WOLF, S. Jr., HRICAK, H., SHULER, C. L. , AGERTER, D. C., CARROLL, P. R. - Evaluation of asymptomatic microscopic hematuria in adults: the American Urological Association best practice policy – part I: Definition, detection, prevalence, and etiology *Urology*, 2001, v.57, p. 599-603.
- GROSSFELD, G. D., LITWIN, M. S., WOLF, S. Jr., HRICAK, H., SHULER, C. L. , AGERTER, D. C., CARROLL, P. R. - Evaluation of asymptomatic microscopic hematuria in adults: the American Urological Association best practice policy – part II: Patient evaluation, cytology, voided markers, imaging, cystoscopy, nephrology evaluation, and follow-up. *Urology*, 2001, v. 57, p. 604-10.
- GURR, E. - Synthetic dyes in biology, medicine an chemistry. *Academic Press* London& New York, 1971.
- GURR, E. - The rational use of dyes in biology p.115, *Leonard Hill*, London 1965.
- HEINE, G. H., SESTER, U., GIRNDT, M., KÖHLER, H. - Acanthocytes in the urine: useful tool to differentiate diabetic nephropathy from glomerulonephritis? *Diabetes Care*, 2004, v. 27, p.190-194.

- HOUSE, A. A., CATTRAN, D. C. –Nephrology: 2. Evaluation of asymptomatic hematuria and proteinúria in adult primary care. *CMAJ*. 2002, v. 166, p. 348-353.
- HUUSSEN, J. , KOENE, R. A., MEULEMAN, E. J, HILBRANDS, L. B.- Diagnostic approach in patients with asymptomatic haematuria: efficient or not? *J. Clin. Pract.* 2006, v. 60, p. 557-561.
- HUUSSEN, J., KOENE, R. A. P., HILBRANDS, L. B. - The (fixed) urinary sediment, a simple and useful diagnostic tool in patients with haematuria. *The Journal of Medicine*, 2004, v. 62, p-04-09.
- JAI-TRUG, L.; HIROYOSHI, W.; HIROSHI, M.; MASUJI, H.; HISAKO, T.; FUMIKO, U.; AKIRA, S.; KOJI, N.;KIYOUASU, N. - Mechanism of hematuria in glomerular disease *Nephron*. 1983, v. 35, p. 68-72.
- JAYNE, D. - Hematúria and proteinuria. In: Greenberg A, ed. Primer on Kidney diseases. Philadelphia: Saunders Elsevier. 5ª edição: 2009: 33-42.
- KESSON, A. M.; TALBOTT, J. M.; GYÖRY, A. Z. - Microscopic examination of urine. *Lancet*. 1978, v. 14, p. 809-12.
- KITAMOTO, Y., TOMITA, M., AKAMINE, M., INOWE, T., ITOH, L., TAKAMORI, H., SATO, T. - Differentiation of hematuria using a uniquely shaped red cells. *Nephron*. 1993, p.32-36.
- KÖHLER, H.; WANDEL, E. BRUNCK, B. - Acanthocyturia: a characteristic marker for glomerular bleeding. *Kidney International*, 1991, v. 40, p.115-20.
- LARCOM, R. C. Jr & CARTER, G. H. - Erythrocytes in urinary sediment: identification and normal limits. *J. Lab. Clin. Med.* 1948, v. 33, p. 875-883.
- LEVEY, A. S., MADAIO, M. P.,PERRONE, R. D. - Laboratory assessment of renal disease: clearance, urinalysis, an renal biopsy. *In Brenner BM, Rector Jr FC*

eds. *The kidney*, 4<sup>th</sup> ed., Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1991, p-919-968.

LÓPEZ VERDE, L.; RAMO MANCHENO, C.; SÁNCHEZ BAYLE, M. OTERO DE BECERREA, J. - Utilidad Del microscopio de contraste de fase en el diagnóstico de la hematuria em pacientes pediátricos. *Rev. Clin. Esp.* 1988, v. 182, n. 8, p. 403-406.

MALLICK, N. P. & SHORT, C. D. The clinical approach to a haematuria and proteinuria. In: CAMERON, S., DAVISON, A. M., GRÜNFELD, J. P., KERR, D., RITZ, E. *Oxford textbook of clinical nephrology* Oxford, Oxford Univesity Press. 1992, p.227-239.

MEHTA, K., TIRTHANI, D., ALI, U. - Urinary red cell morphology to detect site of hematuria. *Indian Pediatr.*, 1994, v. 46, n. 7, p. 642-645.

MOHAMMAD, K. S.; BDESHA, A. S., SNELL, M. E.; WHITEROW. R. O. N.; COLEMAN, D.V. - Phase contrast microscopy examination of urinary erythrocytes to localize source of bleeding: an overlooked technique? *J. Clin. Pathol.* 1993, v. 46, p. 642-645.

NAGAHAMA, D., YOSHIKO, K., WATANABE, M., MORITA, Y., IWATANI, Y., MATSUO, S. - A useful new classification of dismorphic urinary erythrocytes. *Clin. Exp. Nephrol.* 2005, v. 9, p. 304-9.

OHISA, N., KANEMITSU, K., MATSUKI, R., SUZUKI, H. MIURA, H., OHISA, Y., YOSHIDA, K., KAKU, M., SATO, H. - Evaluation of hematuria using the urinary albumin-to-total-protein ratio to differentiate glomerular and nonglomerular bleeding *Clin Exp Nephrol.* 2007, v. 11, p. 61–65.

- OSMANI, M. H., WU, A. Y. T., LIM, C. H. - Quantitation of urinary red blood cells by phase-contrast microscopy: its relationship to severity of glomerular damage. *Singapore Med. J.* 1987, v. 5, p. 406-9.
- PENIDO, M. G. M. G. - Estudo da excreção urinária de cálcio, ácido úrico e citrato em pré-escolares, escolares e adolescentes utilizando-se amostras colhidas em 24 horas, em tempo determinado e em micção matinal única com e sem jejum. 1995. *Tese (doutoramento)*. Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- PILLSWORTH, T. J. Jr.; HAVER, V. M.; ABRASS, C. K.; DELANEY, C. J. - Differentiation of renal from non-renal hematuria by microscopic examination of erythrocytes in urine. *Clin. Chem.* 1987, v. 33, p. 1791-1795.
- POLLOCK, C., PEI-LING, L., GYÖRY, A. Z., GRIGG, R., GALLERY, E. D. M., CATERSON, R., ABELS, L., MAHONI, J., WAUGH, D.- Dismorphism, of urinary red blood cells: value in diagnosis. *Kidney Int.* 1989, v. 36, p. 1045-1049.
- RAMAN, G. V.; PEAD, L.; LEE, H. A.; MASKELL, R. - A blind controlled trial of phase-contrast microscopy by two observer for evaluating the source of hematuria. *Nephron.* 1986, v. 44, p. 304-308.
- RATH, B., TURNER, C. , HARTLEY, B., CHANTLER, C. Evaluation of light microscopy to localise the site of haematuria. *Arch Dis Child.* 1991 v. 66, p. 338-40.
- ROTH, S.; RENNER, E.; RATHERT, P. - Microscopic hematúria: advances in identification of glomerular dysmorphic erythrocytes. *J. Urol,* 1991, v. 146, p.680- 684.

- SAYER, J.; MCCARTHY, M. P.; SCHMIDT, J. D. – Identification and significance of dysmorphic versus isomorphic hematuria. *J. Urol.* 1990, v. 143, p. 545-548.
- SCHUETZ, E.; SCHAEFER, R. M.; HEIDBREDER, E. HEIDLAND, A. – Effect of diereses on erythrocyte morphology in glomerulonephritis. *Klin. Wochenschr.* 1985, v. 63, p. 575-577.
- SCUEMANN, G. B. & SCHWEITZER, M. S. – Examination of the urine. In. HENRI, J. B. *Clinical and Diagnosis Management by Laboratory Methods.* Philadelphia, Saunders, 1991, p. 421.
- SHEN, F. C., LEE, C. T., SUN, C. K., CHUNG, M. S., LEE, J. J., CHANG, H. W., HSIEH, C. J., YANG, K. D., LIU, R. T. - Prevalence of haematuria positively associated with urine albumin excretion in Type 2 diabetes *Diabetic Medicine.* 2012, v. 29, p. 1178-1183.
- SINGALA, J. F., BIAVA, C. G., HULTER, H. N. - Red blood cell casts in acute interstitial nephritis, *Arch, Intern. Med.* 1978, v. 138, p.1419-1421.
- SINGBAL, R., MITTAL, B. V. haematuria : glomerular or non- glomerular? *Indian J.: Pathol. Microbiol.* 1996, V. 39, p. 281-286.
- STAPLETON, F. B. – Morphology of urinary red blood cells: a simple guide in localizing the site of hematuria. *Pediatric. Clinic. North Am.* 1987, v. 34, p. 561-569.
- SURITA, J. R. S. – Utilidade da morfologia dos eritrócitos urinários no diagnóstico clínico das hematúrias. 1995, *Tese mestrado*, UNICAMP, 107 páginas.
- TOMITA, M.; KITAMOTO, Y.; NAKAYAMA, M.; SATO, T. - A new morphological classification of urinary erythrocytes for differential diagnosis of glomerular hematúria. *Clin. Nephron.* 1992, v. 37, p. 84-9.

- TROMPETER, R. S., BARRATT, T. M. Clinical evaluation: hematuria. *In*: HOLLIDAY, M. A. *et al. Pediatric nephrology*. 3. 1994 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, p. 366.
- VAN DER SNOEK, B. E., HOITSMA, A. J., VAN WEEL, C., KOENE, R. A. Dysmorphic erythrocytes in urinary sediment in differentiating urological from nephrological causes of hematuria. *Ned Tijdschr Geneeskd*. 1994, v. 138, p. 721-726.
- VAN ISEGHEM, P.; HAUGLUSTAINE, D., BOLLENS, W.; MICHELSEN, P.-Urinary erythrocyte morphology in acute glomerulonephritis. *Br. Med. J.*, 1983, v. 287, p.1183.
- VASCONCELLOS, L. D. S., PENIDO, M. G. M. G., VIDIGAL, P. G. - Importância do dismorfismo eritrocitário na investigação da origem da hematuria: revisão da literatura. *J. Bras Pato. Med. Lab*. 2005, v. 41, p.83-94.
- VIBERTI, G. C.; HILL, R. D.; JARRETT, R. J., ARGYROPOULOS, A., NAHMUD, U.; KEEN, H. - Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetics. *Lancet*, 1982, v.1, p. 1430-1432.
- YOU DEN, W. J.: Index for rating diagnostic tests. *Cancer* 1950, v. 3, p. 32-35.
- ZERNIKE, F. - How I discovered phase contrast. *Science* 1955, v. 121, p. 345-349.

### **7.1 - Referências da Web**

<http://www.childrens-mercy.org/stats/size/diag.asp>

<http://www.anaesthetist.com/mnm/stats/roc/Findex.htm>

<http://vsites.unb.br/fs/citovirtual/html/metodo.html>

[http://www.laborclin.com.br/produtos/620100/620115\\_bl.pdf](http://www.laborclin.com.br/produtos/620100/620115_bl.pdf)

---

*Apêndice*

---

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
**(TERMINOLOGIA OBRIGATÓRIA EM ATENDIMENTO A RESOLUÇÃO 196/96 -**  
**CNS-MS)**

Venho, por meio desta, convidá-lo a participar do projeto de pesquisa “Avaliação dos diferentes métodos de análise do dismorfismo eritrocitário, assim como a quantificação da proteinúria e a albuminúria na determinação da origem de hematúria”, com o objetivo de verificar se através da análise da sua urina podemos diferenciar doenças dos rins (glomerulonefrites) das doenças das vias urinárias. O seu papel neste estudo é apenas fornecer uma amostra de urina. O senhor (a) poderá ou não aceitar a proposta, recusar ou retirar o consentimento em qualquer momento do trabalho sem prejuízo para o seu tratamento com garantia da manutenção integral do seu tratamento nesta instituição, garante-se também sigilo e privacidade de maneira que a divulgação dos dados desta pesquisa será feita de maneira que não se possa identificar os sujeitos participantes. Esse trabalho tem como objetivo, evitar posteriormente métodos mais invasivos aos pacientes. Informe-me também que não receberá nenhum tipo de favor de ordem financeira ou de quaisquer outras origens para participar do presente estudo. Este documento será elaborado em 2 (duas) vias, sendo uma para o paciente e a outra para o pesquisador.

Declaro também que fui suficientemente esclarecido e concordo com minha participação, autorizando o fornecimento de uma amostra de minha urina para a pesquisa.

---

Paciente

---

Pesquisador

Marila Gaste Martinez – General Julio Marcondes Salgado, 256 – Centro  
– Botucatu  
Tel: 97984178; marila@fmb.unesp.br  
Luis Cuadrado Martin - Av.Raphael Laurindo, 1371 - Jd. Paraíso II –  
Botucatu  
Tel: 96866211; cuadrado@fmb.unesp.br