

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ALLANY CHAVES SALVIANO

INTERFERÊNCIA *in vitro* DE DIURÉTICOS EM EXAME QUÍMICO DE URINA

Juazeiro do Norte – CE
2019

ALLANY CHAVES SALVIANO

INTERFERÊNCIA *in vitro* DE DIURÉTICOS EM EXAME QUÍMICO DE URINA

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Ma. Ana Luiza de Aguiar Rocha Martin

ALLANY CHAVES SALVIANO

INTERFERÊNCIA *in vitro* DE DIURÉTICOS EM EXAME QUÍMICO DE URINA

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Ma. Ana Luiza de Aguiar Rocha Martin

Aprovado em: 12 / 12 / 2019

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^ª. Ma. Ana Luiza de Aguiar Rocha Martin

Examinadora 1: Prof^ª. Esp. Fabrina de Moura Alves Correia

Examinadora 2: Prof^ª. Esp. Amanda Gonçalves da Silva

Dedico este trabalho aos meus familiares
e à todas as pessoas também importantes
em minha vida.

INTERFERÊNCIA *in vitro* DE DIURÉTICOS EM EXAME QUÍMICO DE URINA

Allany Chaves Salviano¹, Ana Luiza de Aguiar Rocha Martin².

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar interferência *in vitro* de diuréticos (furosemida e hidroclorotiazida) nos parâmetros do exame químico de urina. Os compostos ativos foram adicionados nas amostras urinárias nas concentrações subterapêutica, terapêutica e supraterapêutica e a análise realizada após 30 minutos. Foi utilizada amostra negativa (parâmetros dentro dos valores de normalidade), positivo fraco (menor detecção) e positivo forte (maior detecção). As amostras foram positivas para parâmetros glicose, proteína, grupo heme e nitrito. A hidroclorotiazida não provocou interferência no exame químico de urina, enquanto a furosemida apresentou alteração apenas no parâmetro densidade nas concentrações terapêutica e supraterapêutica em todas as amostras urinárias (negativo, positivo fraco e positivo forte). A ausência de interferência por parte da hidroclorotiazida em exame químico de urina permite que essas análises sejam feitas de forma segura e fiel pelo analista laboratorial. Como a furosemida apresentou interferência no parâmetro densidade, se faz necessária maior atenção dos analistas clínicos para interpretação do exame químico de urina em pacientes que fazem uso desse medicamento.

Palavras-chave: Diuréticos. Interferência. Urina.

INTERFERENCE *in vitro* OF DIURETICS IN THE URINE CHEMICAL TEST

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the interference *in vitro* of diuretics (furosemide and hydrochlorothiazide) in the parameters of the urine chemical test. The active compounds were added in urine samples at subtherapeutic, therapeutic and supratherapeutic concentrations and analyzed after 30 minutes. It was used negative (parameters within normal values), weak positive (lower detection) and strong positive samples (higher detection). The samples were positive to glucose, protein, heme group and nitrite parameters. The hydrochlorothiazide did not cause interference in urine chemical test, while furosemide cause change only in density parameters at therapeutic and supratherapeutic concentrations in all urine samples (negative, weak positive and strong positive). Absence of interference by hydrochlorothiazide in urine chemical test allows these analyses to be performed safely and accurately by laboratory analyst. As furosemide showed changes in density parameters, it's required more attention of clinical analysts to interpretation of urine chemical test in patients taking this medicine.

Key-words: Diuretics. Interference. Urine.

¹Discente, Centro Universitário Leão Sampaio - UNILEÃO, allanychaves@gmail.com

²Docente, Centro Universitário Leão Sampaio - UNILEÃO, analuiza@leaosampaio.edu.br

1 INTRODUÇÃO

Os laboratórios de análises clínicas tem um papel fundamental no processo de diagnóstico de diversas patologias e participam de cerca de 70% das decisões clínicas do paciente, para isso é necessário seguir importantes processos de controle de qualidade e aplicar normas de boas práticas laboratoriais que vão permitir a liberação mais fidedigna dos resultados e maior segurança ao paciente (VIEIRA; SANTOS; MARTINS, 2008; CAMPANA; OPLUSTIL; FARO, 2011; MENDES, 2019).

O processo de realização de exames consiste de algumas etapas: fase pré-analítica, analítica e pós-analítica. Vários fatores estão relacionados às interferências em cada uma dessas etapas, seja pela inadequação da amostra, manejo ou processamento incorreto dela. No entanto, a presença de substâncias exógenas, como os medicamentos, é a principal causa de interferência do tipo pré-analítica, podendo causar eventuais resultados falso-positivos ou falso-negativos nos parâmetros dosados por interações *in vitro* ou *in vivo* (BRASIL, 2005; MARTELLI, 2011; MOURA, 2014).

A alteração no funcionamento normal de alguma função fisiológica, modificando a dosagem de algum parâmetro por interação no metabolismo corporal é chamado de interferência *in vivo*. Já a interferência *in vitro* é a reação entre uma substância exógena ingerida pelo paciente com o reagente de teste laboratorial, alterando o resultado do exame (MARTINELLO; SILVA, 2003; MOTTA, 2003; STRASINGER, 2009).

Para as análises laboratoriais, diversos tipos de amostras são utilizadas como: soro, sangue total, plasma, urina, dentre outros (NEVES, 2012).

A análise da urina permite identificar patologias renais e auxilia na identificação de indícios de anormalidades extrarrenais e, atualmente, é realizada pela interpretação de três etapas: etapa física, química e sedimentoscópica. Pela facilidade de acesso a esse material biológico, atualmente é considerado um exame de rotina, mas devido a coleta geralmente ser caseira, está muito suscetível a interferências (HEILBERG; SCHOR, 2003; ABNT, 2005; COLOMBELI; FALKENBERG, 2006).

A urina está diretamente relacionada com a liberação de metabólito após processamento hepático de compostos químicos presentes nos medicamentos, o que torna a análise desse material biológico suscetível a alterações e possíveis erros na leitura, emissão dos laudos e interpretação dos resultados (FONTOURA, 2014).

São muitas as interferências no exame químico de urina, como o ácido ascórbico e a aspirina, que quando ingeridos podem causar resultados falso-negativos em determinação de

glicose, grupo heme, bilirrubina, pois esse composto que está presente na vitamina C interage com o reagente da fita de química seca. Já o tempo de espera para realização dos testes, sem um correto armazenamento, influencia nas dosagens de nitrito (falso-positivo), bilirrubina (falso-negativo), cetona (falso-negativo). No entanto, não existem muitos estudos que avaliam as interferências de outras substâncias no exame químico de urina (STRASINGER, 2009).

A utilização do sumário e outras análises de urina são importantes no acompanhamento de pacientes com risco de desenvolvimento de danos renais (hipertensos, diabéticos), pacientes com sucessivas infecções urinárias e gestantes (UTSCH; KLAUS, 2014; CAMERON, 2015).

Pacientes que fazem uso de anti-hipertensivos da classe dos diuréticos tem o volume urinário alterado, assim como o aumento da eliminação de sais a fim de reduzir a pressão arterial normalizando-a. A exemplo disso tem-se dois diuréticos que são muito usados no tratamento de hipertensão arterial sistêmica, hidroclorotiazida e furosemida, disponíveis pelo Sistema Único de Saúde (SUS) para a população e ambos são altamente excretados na sua forma inalterada na urina (NOBRE et al., 2013; SILVA et al., 2014).

Essa relação entre fármaco e produção urinária, ou a eliminação de seus metabólitos, pode causar interferências na análise laboratorial dessa amostra, portanto a investigação dessa relação é fundamental para que a liberação de resultados de exames de pacientes, que fazem uso destes medicamentos, seja fiel e permita uma interpretação correta dos resultados, resguardando-os de possíveis erros de diagnóstico e/ou farmacoterapias desnecessárias ou incorretas (SHCOLNIK, 2012).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi analisar interferência *in vitro* de anti-hipertensivos (furosemida e hidroclorotiazida) nos parâmetros do exame químico de urina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 TIPO DE ESTUDO

Este presente trabalho foi do tipo experimental, com análise do resultado de forma semiquantitativa. Houve realização de experimento de método a rigor científico com interpretações dos resultados por intensidade de presença do analito na amostra (ROTHMAN; GREENLAND; LASH, 2011).

De acordo com Galteau e Siest (1984), a metodologia empregada seguiu o protocolo adotado para estudos de interferência analítica com adição de fármacos em amostras

biológicas nas concentrações subterapêuticas, terapêuticas e supraterapêuticas, e foi adaptada de Colombeli (2006).

2.2 FÁRMACOS

Os ativos furosemida e hidroclorotiazida, adquiridos de uma farmácia de manipulação local, sendo eles diurético de alça (furosemida) e diurético tiazídico (hidroclorotiazida) na forma de pó, conseguindo as concentrações subterapêuticas, terapêuticas e supraterapêuticas para realização dos testes.

2.3 REAGENTES

A tira reativa de exame químico de urina utilizada para realização desse experimento foi a Uriquest Plus da Labtest® que possui 11 parâmetros de avaliação: densidade, pH, leucócitos, nitrito, grupo heme, proteína, glicose, cetona, urobilinogênio, bilirrubina e ácido ascórbico.

A leitura foi feita após 30 minutos da adição do composto ativo por meio da visualização de mudança de coloração da química seca e comparação com bula fornecida pelo fabricante. Para positivar as amostras, foram utilizados os reagentes: solução de glicose, solução de hemácias lavadas, albumina bovina e solução de nitrito.

2.4 MATERIAL BIOLÓGICO

As amostras urinárias obtidas de pacientes do Laboratório Escola de uma instituição de ensino superior em Juazeiro do Norte (Ceará) que disponibilizaram seu material para pesquisa, e de indivíduos estudantes desse mesmo centro acadêmico que também disponibilizaram a amostra, não devendo ter realizado o uso de qualquer medicamento. Para realização dos testes foram utilizadas urinas selecionadas com resultados normais, não ultrapassando 24 horas do momento da coleta.

2.5 SELEÇÃO DOS FÁRMACOS

A escolha dos medicamentos (Hidroclorotiazida e Furosemida) foi feita por levantamento de dados relacionados à dose terapêutica, biodisponibilidade, metabolismo e porcentagem de excreção urinária na forma inalterada.

Esses medicamentos foram escolhidos por serem bastante utilizados pela população brasileira como tratamento de hipertensão arterial, disponibilizado gratuitamente pelo Ministério da Saúde através do programa “Aqui tem Farmácia Popular” (BRASIL).

2.6 PADRONIZAÇÃO DOS CONTROLES E POSITIVIDADE DAS AMOSTRAS

Foram utilizados três tipos de urina controle (sem o fármaco): controle negativo sem tratamento, controle positivo fraco e controle positivo forte. Na amostra positivada, foram adicionadas quantidades previamente estabelecidas de glicose, hemoglobina e proteína para produzir reações positivas nas fitas reativas nesses parâmetros.

Para positivar as amostras nos parâmetros nitrito, grupo heme, proteína e glicose foram adicionadas solução diluída de nitrito (solução a 9%), solução de hemácias lavadas (100µL de sangue em 4mL de solução salina), albumina bovina 22% e solução de glicose (75g de glicose diluídos em 350mL). Foram produzidas soluções positiva fraca (+ sendo o mínimo de detecção) e positiva forte (++, +++, +++++ ou ++++++ sendo o máximo de detecção) em cada parâmetro, mostradas no quadro a seguir.

Quadro 01: Valores adicionados na amostra de urina para produzir positividade fraca e positividade forte nos parâmetros glicose, grupo heme, nitrito e proteína.

| PARÂMETRO | POSITIVO FRACO (+) | POSITIVO FORTE |
|-------------------|--------------------|----------------|
| Glicose | 50µL | (+++++) 1000µL |
| Grupo heme | 0,1µL | (++++++) 0,5µL |
| Nitrito | 0,5µL | (++) 1µL |
| Proteína | 15µL | (+++) |

Fonte: primária.

2.7 CÁLCULO DAS CONCENTRAÇÕES DE TESTE

Os fármacos escolhidos possuem alta porcentagem de eliminação na sua forma inalterada. Para padronizar os valores de concentração terapêutica, este foi calculado com

base nos percentuais de absorção (A), excreção urinária na forma inalterada (Eu), concentração do fármaco (mg/dL de urina) que um adulto de 70 kg utilizasse a dose máxima terapêutica (mg) em 24 horas e considerando o volume urinário diário de 1300 mL/24h. Portanto a concentração urinária terapêutica (C_{ut}) estimada correspondeu ao resultado da seguinte fórmula, disponibilizada por Colombeli (2006):

$$C_{ut} = \frac{A \times Eu \times Dose \times 100}{1300}$$

A partir desse valor, foi estimada a concentração subterapêutica com valor 10 vezes menor e para a concentração supratherapêutica será 10 vezes maior.

2.8 ANÁLISE DOS RESULTADOS

O experimento foi analisado após 30 minutos da adição dos fármacos e os resultados foram dispostos em tabelas com posterior discussão.

2.9 COMITÊ DE ÉTICA

O projeto foi submetido para apreciação do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Centro Universitário Leão Sampaio através da Plataforma Brasil sob número de protocolo de submissão 25425219.0.0000.5048, aplicando o Termo de Fiel Depositário e solicitando a Carta de Anuência à instituição que cedeu as amostras, contemplando os preceitos previstos pela Declaração de Helsinki e da resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466/12 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2012).

O risco desta pesquisa consiste no possível constrangimento do paciente, no entanto foram utilizadas siglas que impediram qualquer tipo de identificação e foi mantido o sigilo do paciente.

O benefício está diretamente ligado ao aproveitamento dos resultados dessa pesquisa pelos profissionais de saúde que poderão identificar a possibilidade de ocorrer interferência laboratorial dos anti-hipertensivos furosemida e hidroclorotiazida no exame químico de urina, evitando interpretações clínicas inadequadas e beneficiando diretamente os pacientes que fazem uso desses medicamentos.

3 RESULTADOS

Para padronização das amostras, o controle negativo foi composto pela amostra sem adição de nenhum componente, e utilizada como comparativo para as amostras normais com adição da hidroclorotiazida ou furosemida em dosagens subterapêuticas, terapêuticas e supraterapêutica do medicamento. O controle positivo fraco foi utilizado para comparação da possível interferência nas urinas após adição do medicamento, e semelhante foi realizado com o controle positivo forte.

Para o composto ativo hidroclorotiazida, adicionado nas amostras normais e analisados após 30 minutos, não houve mudança em nenhum dos parâmetros da fita reativa quando comparado com resultados encontrados no controle negativo. A tabela a seguir (tabela 01) demonstra a estabilidade dos resultados após adição do composto.

Tabela 01: Resultado da interferência do ativo hidroclorotiazida em concentrações subterapêutica, terapêutica e supraterapêutica nas amostras urinárias normais.

| PARÂMETROS | CONTROLE NEGATIVO | NEGATIVO SUBTERAP. | NEGATIVO TERAP. | NEGATIVO SUPRATERAP. |
|-----------------------|--------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|
| Densidade | 1015 | 1015 | 1015 | 1015 |
| Leucócitos | - | - | - | - |
| Nitrito | - | - | - | - |
| pH | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Grupo Heme | - | - | - | - |
| Proteína | - | - | - | - |
| Glicose | Normal | Normal | Normal | Normal |
| Ác. Ascórbico | - | - | - | - |
| Cetona | - | - | - | - |
| Urobilinogênio | Normal | Normal | Normal | Normal |
| Bilirrubina | - | - | - | - |

Fonte: primária.

Legenda: subterap. (subterapêutica); terap. (terapêutica); supraterap. (supraterapêutica); ác. (ácido).

Semelhantes resultados foram obtidos com as amostras positivas fraca e forte. Na amostra positiva fraca e forte foi realizada a adição do composto ativo hidroclorotiazida e a visualização foi feita após 30 minutos não sendo observada nenhuma alteração nos parâmetros, como é possível identificar a estabilidade dos resultados na tabela 02 e 03.

Tabela 02: Resultado da adição do composto ativo hidroclorotiazida em concentrações subterapêutica, terapêutica e supraterapêutica nas amostras urinárias positivo fraco.

| PARÂMETROS | CONTROLE | POSITIVO | POSITIVO | POSITIVO |
|-----------------------|----------|-----------|----------|-------------|
| | POSITIVO | FRACO | FRACO | FRACO |
| | FRACO | SUBTERAP. | TERAP. | SUPRATERAP. |
| Densidade | 1015 | 1015 | 1015 | 1015 |
| Leucócitos | - | - | - | - |
| Nitrito | + | + | + | + |
| pH | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Grupo Heme | + | + | + | + |
| Proteína | + | + | + | + |
| Glicose | + | + | + | + |
| Ác. Ascórbico | - | - | - | - |
| Cetona | - | - | - | - |
| Urobilinogênio | Normal | Normal | Normal | Normal |
| Bilirrubina | - | - | - | - |

Fonte: primária.

Legenda: subterap. (subterapêutica); terap. (terapêutica); supraterap. (supraterapêutica); ác. (ácido).

Tabela 03: Resultado da adição do composto ativo hidroclorotiazida em concentrações subterapêutica, terapêutica e supraterapêutica nas amostras urinárias positivo forte.

| PARÂMETROS | CONTROLE | POSITIVO | POSITIVO | POSITIVO |
|-----------------------|----------|-----------|----------|-------------|
| | POSITIVO | FORTE | FORTE | FORTE |
| | FORTE | SUBTERAP. | TERAP. | SUPRATERAP. |
| Densidade | 1015 | 1015 | 1015 | 1015 |
| Leucócitos | - | - | - | - |
| Nitrito | ++ | ++ | ++ | ++ |
| pH | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Grupo Heme | +++++ | +++++ | +++++ | +++++ |
| Proteína | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Glicose | +++++ | +++++ | +++++ | +++++ |
| Ác. Ascórbico | - | - | - | - |
| Cetona | - | - | - | - |
| Urobilinogênio | Normal | Normal | Normal | Normal |

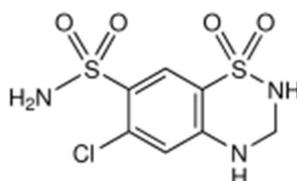
Bilirrubina

-

Fonte: primária.

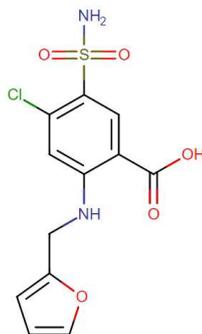
Legenda: subterap. (subterapêutica); terap. (terapêutica); supratrap. (supratrapêutica); ác. (ácido).

O composto isolado de hidroclorotiazida (6-cloro-3,4-dihidro-2H-1,2,4- benzotiadiazina-7-sulfonamida-1,2-dióxido, de fórmula química $C_7H_8ClN_3O_4S_2$, ver figura 01) é pouco solúvel em meio aquoso, sendo mais utilizado na forma de cloridrato. Seu uso clínico consiste em aumentar a diurese ao diminuir a reabsorção de íon sódio e água no túbulo contorcido distal, e pode ser usado em situações como hipertensão leve e redução de estados edematosos. Devido baixa taxa de metabolização, é excretada cerca de 97% na sua forma inalterada (FERRARO et al., 2002; MAHLE et al., 2009).

Figura 01: Estrutura química do Hidroclorotiazida.

Fonte: Drugbank/DB00999

Os mesmos testes foram realizados com a substância também diurética Furosemida (Ácido 4-cloro-2 - [(furan-2-ilmetil) amino] -5-sulfamoilbenzóico, de fórmula química $C_{12}H_{11}ClN_2OS$, ver figura 02). Também possui alta taxa de excreção urinária (cerca de 70%) devido a sua baixa metabolização hepática, possui baixa solubilidade em água e baixa permeabilidade à membrana. Atua inibindo a reabsorção de sódio e cloreto na alça de Henle, resultando na excreção destes solutos, água, magnésio e cálcio consequentemente aumentando bastante a diurese (LAMOLHA et al., 2012).

Figura 02: Estrutura química do Furosemida.

Fonte: Drugbank/DB00695

Como é possível verificar na tabela 04, houve interferência do furosemida apenas no parâmetro densidade em suas concentrações terapêutica e supraterapêutica.

Tabela 04: Resultado da adição do composto ativo furosemida em concentrações subterapêutica, terapêutica e supraterapêutica nas amostras urinárias normais.

| PARÂMETROS | CONTROLE | NEGATIVO | NEGATIVO | NEGATIVO |
|-----------------------|----------|-----------|----------|-------------|
| | NEGATIVO | SUBTERAP. | TERAP. | SUPRATERAP. |
| Densidade | 1030 | 1030 | >1030 | >1030 |
| Leucócitos | - | - | - | - |
| Nitrito | - | - | - | - |
| pH | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Grupo Heme | - | - | - | - |
| Proteína | - | - | - | - |
| Glicose | Normal | Normal | Normal | Normal |
| Ác. Ascórbico | - | - | - | - |
| Cetona | - | - | - | - |
| Urobilinogênio | Normal | Normal | Normal | Normal |
| Bilirrubina | - | - | - | - |

Fonte: primária.

Legenda: subterap. (subterapêutica); terap. (terapêutica); supraterap. (supraterapêutica); ác. (ácido).

O segundo teste com o furosemida foi a sua adição nas urinas positivadas fraca e forte, e a análise feita após 30 minutos da adição. Resultados semelhantes foram encontrados, em que o composto furosemida causou interferência no parâmetro densidade nas suas concentrações terapêutica e supraterapêutica (tabela 05 e 06).

Tabela 05: Resultado da adição do composto ativo furosemida em concentrações subterapêutica, terapêutica e supraterapêutica nas amostras urinárias positivo fraco.

| PARÂMETROS | CONTROLE | POSITIVO | POSITIVO | POSITIVO |
|-------------------|----------|-----------|----------|-------------|
| | POSITIVO | FRACO | FRACO | FRACO |
| | FRACO | SUBTERAP. | TERAP. | SUPRATERAP. |
| Densidade | 1030 | 1030 | >1030 | >1030 |
| Leucócitos | - | - | - | - |
| Nitrito | + | + | + | + |
| pH | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Grupo Heme | + | + | + | + |

| | | | | |
|-----------------------|--------|--------|--------|--------|
| Proteína | + | + | + | + |
| Glicose | + | + | + | + |
| Ác. Ascórbico | - | - | - | - |
| Cetona | - | - | - | - |
| Urobilinogênio | Normal | Normal | Normal | Normal |
| Bilirrubina | - | - | - | - |

Fonte: primária.

Legenda: subterap. (subterapêutica); terap. (terapêutica); supraterap. (supraterapêutica); ác. (ácido).

Tabela 06: Resultado da adição do composto ativo furosemida em concentrações subterapêutica, terapêutica e supraterapêutica nas amostras urinárias positivo forte.

| PARÂMETROS | CONTROLE | POSITIVO | POSITIVO | POSITIVO |
|-----------------------|-----------------|------------------|-----------------|--------------------|
| | POSITIVO | FORTE | FORTE | FORTE |
| | FORTE | SUBTERAP. | TERAP. | SUPRATERAP. |
| Densidade | 1030 | 1030 | >1030 | >1030 |
| Leucócitos | - | - | - | - |
| Nitrito | ++ | ++ | ++ | ++ |
| pH | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Grupo Heme | ++++++ | ++++++ | ++++++ | ++++++ |
| Proteína | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Glicose | +++++ | +++++ | +++++ | +++++ |
| Ác. Ascórbico | - | - | - | - |
| Cetona | - | - | - | - |
| Urobilinogênio | Normal | Normal | Normal | Normal |
| Bilirrubina | - | - | - | - |

Fonte: primária.

Legenda: subterap. (subterapêutica); terap. (terapêutica); supraterap. (supraterapêutica); ác. (ácido).

Vale ressaltar que os testes foram realizados com os ativos puros, sem a presença de excipientes, no entanto, após os resultados negativos para as interferências, os testes foram repetidos com a hidroclorotiazida e furosemida proveniente de comprimidos adquiridos em farmácia comercial, ou seja, agora juntamente com os excipientes e o resultado foi o mesmo (não mostrado), evidenciando que os excipientes não são responsáveis por alterar parâmetros urinários, bem como os ativos contidos nos comprimidos.

4 DISCUSSÃO

De acordo com os diuréticos testados, a hidroclorotiazida não apresentou interferência nos parâmetros do exame químico urinário e a furosemida foi capaz de provocar interferência apenas no parâmetro densidade, quando adicionada nas concentrações terapêutica e supraterapêutica em todas as amostras urinárias.

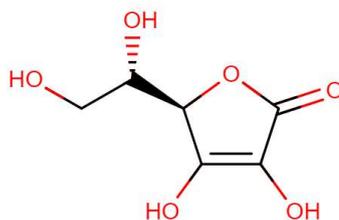
Estudos mostram que a Hidroclorotiazida é capaz de provocar diminuição, por efeito fisiológico (*in vivo*), de componentes da urina alterando a dosagem de fenolsulfonftaleína, cálcio, ácido úrico e cortisol (FERREIRA et al., 2009; SOUZA; SANTIAGO; ALMEIDA, 2016). No entanto, esse tipo de alteração não pôde ser observada nesse estudo, devido ao fato do princípio ativo ter sido diretamente adicionado na urina, o que permite apenas a avaliação da interferência *in vitro*.

Devido a grande escassez de estudos sobre interferências de ativos farmacológicos na urina, sobretudo de diuréticos, a discussão desse estudo se baseou na comparação das estruturas químicas de moléculas testadas nesse estudo com outras capazes de provocar alteração nos parâmetros urinários.

Embora a hidroclorotiazida e a furosemida não tenham provocado alterações significativas nos parâmetros urinários, outras moléculas químicas promovem interferências importantes na urinálise. Costa; Mendes; Sumita (2011) mostrou que a ingestão e excreção na urina de ácido ascórbico (vitamina C) pode causar interferência na detecção de glicosúria e esterase leucocitária por efeito falso-negativo. O mecanismo proposto por eles é que a ação antioxidante do ácido ascórbico pode impedir a oxidação do cromógeno na fita, tornando oculta a visualização da mudança de coloração.

O ácido ascórbico (figura 03) apresenta grupos funcionais com alto grau de eletronegatividade como o grupo carbonila (C=O) e isso é responsável por tornar a molécula um agente redutor, com potencial antioxidante importante.

Figura 03: Fórmula química do ácido ascórbico.



Como a reação da fita reativa depende de processos de oxi-redução, podem haver interferência de agentes na urina que sejam oxidantes e estimulem a glicose-oxidase ou a hidrólise do carboxilato (interferência falso-positiva) e, também, pela presença urinária de substâncias redutoras que impedem a oxidação desses reagentes (interferência falso-negativa) (BRITO, 2014).

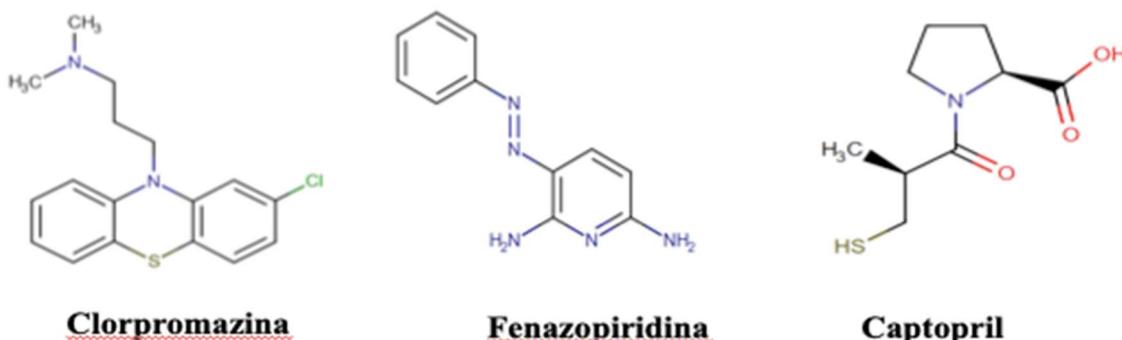
O fabricante da fita reagente Uriquest Plus, a Labtest® esclarece que o ácido ascórbico pode causar interferência na detecção de bilirrubina e nitrito, também por efeito falso negativo. A mesma demonstra outras possíveis interferências com a presença de alguns medicamentos na urina: clorpromazina e a fenazopiridina interferem no parâmetro bilirrubina e captopril no parâmetro cetona.

O parâmetro bilirrubina pode sofrer interferência a partir da reação de copulação diazótica entre o sal diazônio reagente e o fenol ou anilina. Por exemplo, a Clorpromazina e a Fenazopiridina (Figura 04) quando presentes na urina podem interagir com o sal diazônio da fita química e provocar efeito falso-positivo, por presença de grupo semelhante na sua estrutura. Portanto há interferência em reações colorimétricas com esse tipo de cromógeno (RAPKIEWICZI, 2018; LABTEST®).

A diazotação é a formação de um sal a partir de aminas primárias aromáticas na presença de nitrito de sódio em meio ácido. Um sal diazônio é qualquer composto com fórmula geral $ArN^+=NX$, onde Ar é m radical aromático e X é um anion inorgânico (HINO; OMORI, 2015).

A fita Uriquest Plus® possui um sal diazônio necessário para avaliação da bilirrubina em amostra de urinárias. No entanto, fármacos como clorpromazina e Fenazopiridina (figura 04) por possuírem aminas aromáticas podem afetar a análise desse parâmetro. Em contrapartida, nem a hidroclorotiazida nem a furosemida apresentam formação de sal diazônico na interação com o reagente da fita, o que parece justificar a ausência desse tipo de interferência de ambos os fármacos na avaliação da bilirrubina no teste urinário.

Figura 04: Fórmula química do Clorpromazina, Fenazopiridina e Captopril, respectivamente.



Fonte: Drugbank/DB00477/ DB01438/ DB01197.

O Captopril (Figura 04), quando eliminado na urina, pode causar interferência no parâmetro químico cetona, e Colombeli (2006) correlaciona a presença de grupos sulfidrilas livre interagindo com o reagente presente na fita, impedindo a reação com a cetona presente na urina, o que provoca falso negativo. Citando ainda, que a presença de grupos ácidos presentes na estrutura química do captopril intensifica essa reação.

Embora a estrutura molecular da hidroclorotiazida (figura 01) e furosemida (figura 02) apresente também enxofre, estes são provenientes de grupamentos sulfonamidas e estão estericamente protegidas pelos oxigênios muito eletronegativos que estão ligados através de duplas ligações com o enxofre, o que possivelmente impede essa reação do enxofre com a cetona da urina e parece justificar a ausência da interferência por parte do composto testado (VOLLHARDT; SCHORE, 2013).

Como mostrado nos resultados, o ativo isolado Hidroclorotiazida (figura 01) não foi capaz de causar interferência nas três concentrações analisadas, o que garante segurança e fidelidade nos resultados nos exames que utilizam essa fita como material de análise.

De acordo com Colombeli (2006), os fármacos quando se apresentam na forma protonada, ou seja, com carga, podem interagir com o reagente azul de bromotimol presente na fita (este reagente classificado como ácido orgânico fraco), e fundamental na avaliação do parâmetro densidade. O valor da densidade aumenta à medida que há formação de formas protonadas do ativo. O grau de ionização, ou protonação, de uma substância depende do seu pKa e do pH do meio em que ela se encontra (RODRIGUES, 2009).

A hidroclorotiazida é um ácido fraco e possui três constantes de dissociação ácida (pKa), tendo se pKa médio 7,9 (SANGSTER, 1994). No nosso estudo, a urina se apresentou com pH=5, dentro da normalidade, portanto, a molécula de hidroclorotiazida encontra-se

predominantemente na forma molecular, ou seja, sem carga, o que parece justificar a ausência da interferência com o azul de bromotimol, por exemplo.

Em contrapartida, a furosemida (ver figura 02) foi capaz de interferir no parâmetro densidade, possivelmente por interagir com o corante presente na fita. Esse ativo é classificado como ácido fraco e possui constante de dissociação pKa 3,8 (BARBOSA, 2014). Um ácido fraco com pKa baixo, como é o caso da furosemida, quando se localiza em meio com pH menos ácido que se pKa, apresenta-se predominantemente na forma protonada ou ionizada, aumentando a disponibilidade de H⁺ reagindo com o cromógeno azul de bromotimol e possivelmente afetando o resultado do parâmetro densidade. Esse tipo de interferência é classificada como *in vitro*. Embora não se configure como uma interferência clínica importante, esse resultado deve ser conhecido pelos analistas clínicos.

5 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a hidroclorotiazida não é capaz de causar interferência nos parâmetros do exame químico urinário, e essa ausência pode se dever a uma estrutura química estável com grupos funcionais reativos protegidos estericamente. Em contrapartida, a furosemida foi capaz de interagir com o parâmetro químico densidade. Esses compostos ativos não causaram alterações significativamente importantes nos resultados do exame químico. Portanto, esses fármacos ainda são considerados seguros do ponto de vista analítico para realização de exames de urina pelos pacientes usuários desse medicamento.

Há necessidade de mais estudos que avaliem a presença de interferência de fármacos no exame químico de urina, bem como o mecanismo dessas alterações, para que permitam ao profissional analista uma maior segurança quanto a interpretação dos resultados e liberação dos resultados.

REFERÊNCIAS

- ABNT, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 15268: **Laboratório clínico** – Requisitos e recomendações para o exame de urina. ABNT, Rio de Janeiro, 2005.
- BARBOSA, S. F. **Nanocristais de furosemida: preparação, caracterização físico-química e avaliação *in sílico* de absorção oral e pulmonar**. 2014. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2014.
- BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 302, 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, 2005.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996. Dispõe sobre diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, 2012.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Lista de medicamentos disponibilizados pelo “Aqui tem farmácia popular”. Arquivo disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/07/Lista-Medicamentos.pdf>. Acesso em: 27/10/2019.
- BRITO, H. E. M. **Estudo dos medicamentos como interferentes nos exames laboratoriais bioquímicos: uma revisão literária**. 2014. Monografia (Graduação em Farmácia) – Graduação em Farmácia pela Universidade Federal da Paraíba, UFPB, João Pessoa, 2014.
- CAMERON, J. S. A history of urine microscopy. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v.53, p. 1453-1264, 2015.
- CAMPANA, G. A.; OPLUSTIL, C. P.; DE FARO, L. B. Tendências em medicina laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 4, p. 399-408, 2011.
- COLOMBELI, A. S. S.; FALKENBERG, M. Comparação de bulas de duas marcas de tiras reagentes utilizadas no exame químico de urina. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 42, n. 2, p. 85-93, 2006.
- COLOMBELI, A. S. S. **Avaliação do potencial de interferência analítica de fármacos na análise química do exame de urina**. 2006. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, 2006.
- COSTA, J. M. F.; MENDES, M. E.; SUMITA, N. M. Avaliação da interferência do ácido ascórbico na detecção da glicosúria. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, n. 1, p. 11-14, 2012.
- FERRARO, M. C. F.; CASTELLANO, P. M.; KAUFMAN, T. S. Determinação simultânea de cloridrato de amiloreto e hidrocortizida em amostras sintéticas e formulações farmacêuticas por análise multivariada de dados espectrofotométricos. **Revista de análise farmacêutica e biomédica**, v. 30, n. 4, p. 1121-1131, 2002.

FERREIRA, B. et al. Estudo dos medicamentos utilizados pelos pacientes atendidos em laboratório de análises clínicas e suas interferências em testes laboratoriais: uma revisão da literatura. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 1, 2009.

FONTOURA, C. C. **Estudo da interferência do ácido ascórbico na análise bioquímica da urina**. 2014. Monografia (Graduação em Biomedicina) – Graduação em Biomedicina na Universidade Católica de Brasília, Taguatinga (DF), 2014.

GALTEAU, M. M.; SIEST, G. Drugs effects in clinical chemistry. Part 2, Guidelines for evaluation of analytical interference. IFCC: Document Stage 1, draft 4. **Annales de Biologie Clinique**, n. 42, p. 137-144, 1984.

HEILBERG, I. P.; SCHOR, N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário: ITU. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.49, n.1, p. 109-116, 2003.

HINO, K. N.; OMORI, Á. T. Método de síntese de azidas aromáticas usando vinagre. **Quim. Nova**, v. 38, n. 1, p. 156-158, 2015.

LABTEST®. **Uriquest Plus I**. Vista Alegre: LABTEST DIAGNÓSTICA S.A., 2009.

LAMOLHA, M. A. et al. Avaliação da equivalência farmacêutica de furosemida em comprimidos de 40 mg. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 1, p. 17-21, 2012.

MAHLE, F. et al. Avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de hidroclorotiazida comercializados no Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, p. 265-271, 2009.

MARTELLI, A. Gestão de qualidade em laboratórios de análises clínicas. **UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 13, n. esp., p. 363-368, 2011.

MARTINELLO, F.; SILVA, E. L. da. Interferência do ácido ascórbico nas determinações de parâmetros bioquímicos séricos: estudos *in vivo* e *in vitro*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 4, p. 323-334, 2003.

MENDES, M. E. Study of specimen stability in clinical laboratories: ensuring quality of results and patients' safety. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 55, n. 3, p. 242-245, 2019.

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica Para o Laboratório Princípios e interpretações**. 4. ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau, 2003.

MOURA, J. A. P. de. **Interferência de medicamentos em exames laboratoriais**. 2014. Monografia (Graduação em Farmácia) – Graduação em Farmácia pela Universidade Federal da Paraíba, UFPB, João Pessoa, 2014.

NEVES, P. A. **Manual Roca de Técnicas de Laboratório Líquidos Biológicos**. São Paulo: Roca, 2012.

NOBRE, F. et al. Hipertensão arterial sistêmica primária. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 46, n. 3, p. 256-272, 2013.

RAPKIEWICZI, J. C. et al. **Interação de fármacos com exames de laboratório**. Boletim do Centro de Informação sobre medicamentos do Conselho Regional de Farmácia do Estado do Paraná. 4 ed. 2018.

RODRIGUES, A. E. S. **Importância do Conhecimento das Interações Fármaco-Nutrientes**. 2009. Monografia (Licenciatura em Ciências Farmacêuticas) - Licenciatura em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2009.

ROTHMAN, K.; GREENLAND, S.; LASH, T. **Epidemiologia Moderna-3ª Edição**. Artmed Editora, Porto Alegre, 2011.

SANGSTER J; LOGKOW Databank. **Montreal, Quebec, Canada: Sangster Research Laboraories**, 1994.

SHCOLNIK, W. **Erros laboratoriais e segurança do paciente: Revisão Sistemática**. 2012. Dissertação (Mestrado) – Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2012.

SILVA, et al. Avaliação do impacto de laboratórios de análises clínicas de hospitais de urgência e emergência do município de Belém-PA na saúde. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 1, p. 127-132, 2014.

SOUZA, A. S.; SANTIAGO, E. C.; ALMEIDA, L. C. Interferências nos exames laboratoriais causados pelo anti-hipertensivos usados no brasil. **Revista Eletrôn. Atualiza Saúde**, v. 3, n. 3, p. 101-113, 2016.

STRASINGER, S. K. **Uroanálise e Fluidos Biológicos**. 5. ed. São Paulo. Livraria Médica Paulista Editora, 2009.

UTSCH, B.; KLAUS, G. Urinalysis in children and adolescents. **Deutsches Ärzteblatt international**, v. 111, n. 37, p. 617, 2014.

VIEIRA, R. G. L.; SANTOS, B. M. de O.; MARTINS, C. H. G. Riscos físicos e químicos em laboratório de análises clínicas de uma universidade. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 41, n. 4, 2008.

VOLLHARDT, P.; SCHORE, N. E. **Química Orgânica: Estrutura e Função**. Bookman Editora, Porto Alegre, 6 ed., 2013.