

Ana Carla Campos dos Santos Botelho

INTERVALOS DE REFERÊNCIA PARA SÓDIO, CLORETO E POTÁSSIO  
EM AMOSTRAS URINÁRIAS ISOLADAS

Universidade Federal de Minas Gerais  
Programa de Pós-Graduação em Patologia  
Belo Horizonte – MG

2015

Ana Carla Campos dos Santos Botelho

INTERVALOS DE REFERÊNCIA PARA SÓDIO, CLORETO E POTÁSSIO  
EM AMOSTRAS URINÁRIAS ISOLADAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Patologia - área de concentração: Patologia Investigativa.

Orientadora: Profa. Dra. Silvana Maria Elói Santos  
Co-orientador: Prof .Dr. Leonardo de Souza Vasconcellos

Belo Horizonte – MG  
2015

B748i Botelho, Ana Carla Campos dos Santos.  
Intervalos de referência para sódio, cloreto e potássio em amostras urinárias isoladas [manuscrito]. / Ana Carla Campos dos Santos Botelho. -- Belo Horizonte: 2015.  
76f.: il.  
Orientador (a): Silvana Maria Elói Santos.  
Coorientador (a): Leonardo de Souza Vasconcellos.  
Área de concentração: Patologia Investigativa.  
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Urina. 2. Sódio. 3. Cloretos. 4. Potássio. 5. Valores de Referência. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Elói-Santos, Silvana Maria . II. Vasconcellos, Leonardo de Souza. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título

NLM : QY 25

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca J. Baeta Vianna – Campus Saúde UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

UFMG

### FOLHA DE APROVAÇÃO

**Estabelecimento de intervalos de referência para sódio, cloreto e potássio em amostras urinárias.**

#### **ANA CARLA CAMPOS DOS SANTOS BOTELHO**

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em PATOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Mestre em PATOLOGIA, área de concentração PATOLOGIA INVESTIGATIVA.

Aprovada em 11 de fevereiro de 2015, pela banca constituída pelos membros:

  
Prof(a). Silvana Maria Elói Santos - Orientador

UFMG

  
Prof(a). Leonardo de Souza Vasconcellos

UFMG

  
Prof(a). Maria Goretti Moreira Guimarães Penido

UFMG

  
Prof(a). Pedro Guatimosim Vidigal

UFMG

  
Prof(a). Gifone Aguiar Rocha

UFMG

Belo Horizonte, 11 de fevereiro de 2015.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

UFMG

## ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA

### **ANA CARLA CAMPOS DOS SANTOS BOTELHO**

Realizou-se, no dia 11 de fevereiro de 2015, às 14:00 horas, Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *Estabelecimento de intervalos de referência para sódio, cloreto e potássio em amostras urinárias*, apresentada por ANA CARLA CAMPOS DOS SANTOS BOTELHO, número de registro 2013655767, graduada no curso de FARMACIA E BIOQUIMICA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em PATOLOGIA, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Silvana Maria Elói Santos - Orientador (Faculdade de Medicina da UFMG), Prof(a). Leonardo de Souza Vasconcellos (UFMG), Prof(a). Maria Goretti Moreira Guimarães Penido (UFMG), Prof(a). Pedro Guatimosim Vidigal (UFMG), Prof(a). Gifone Aguiar Rocha (UFMG),

A Comissão considerou a dissertação:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 11 de fevereiro de 2015.

  
Prof(a). Silvana Maria Elói Santos ( Doutora )

  
Prof(a). Leonardo de Souza Vasconcellos ( Doutor )

  
Prof(a). Maria Goretti Moreira Guimarães Penido ( Doutora )

  
Prof(a). Pedro Guatimosim Vidigal ( Doutor )

  
Prof(a). Gifone Aguiar Rocha ( Doutor )

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**REITOR:** PROF. DR. JAIME ARTURO RAMÍREZ

**VICE-REITORA:** PROFA. DRA. SANDRA REGINA GOULART ALMEIDA

**PRÓ-REITOR DE PÓS-GRADUAÇÃO:** PROF. DR. ANTÔNIO DE PAIVA DUARTE

**PRÓ-REITORA DE PESQUISA:** PROFA. DRA. ADELINA MARTHA DOS REIS

### **FACULDADE DE MEDICINA**

**Diretor:** Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

**Vice-diretor:** Prof. Dr. Humberto José Alves

**Coordenadora Geral do Centro de Pós-graduação:** Profa. Dra. Sandhi Maria Barreto

**Coordenador do Programa de Pós-graduação em Patologia:** Prof. Dr. Wagner Luiz Tafuri

#### **Colegiado de Pós-graduação em Patologia:**

Prof. Dr. Wagner Luiz Tafuri

Prof. Dr. Giovanni Dantas Cassali

Profa. Dra. Rosa Maria Esteves Arantes

Prof. Dr. Pedro Guatimosim Vidigal

Profa. Dra. Tatiane Alves da Paixão

Profa. Dra. Milene Alvarenga Rachid

Conrado de Oliveira Gamba (Representante discente)

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu esposo Lucas e à minha filha Maria Luísa pela compreensão, paciência e amor constantes.

À minha mãe Clea e à minha irmã Flávia pelo carinho e confiança.

À minha orientadora Profa. Silvana Maria Elói Santos pelos ensinamentos e valorosa orientação.

Ao meu co-orientador Prof. Leonardo de Souza Vasconcellos pelo grande incentivo e disponibilidade.

Ao Dr. William Pedrosa pelo apoio e direcionamento constantes.

Ao Laboratório Hermes Pardini, em especial à Assessoria Científica, aos meus colegas bioquímicos, ao Dr. Fabiano, à Dra. Lílian, Dra. Júnia, ao Watson, à Elisânia, à Rutyanne, ao Antônio e aos colegas da distribuição e coleta da Unidade Aimorés.

Aos colegas da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte – Laboratório Distrital Oeste

A todos os voluntários que contribuíram tão generosamente para a consolidação deste projeto.

## RESUMO

Os intervalos de referência são usados na prática clínica como auxílio na interpretação dos testes laboratoriais. Contudo, alguns mensurados não possuem intervalos de referência consolidados na literatura, como o sódio, cloreto e potássio determinados em urinas isoladas (elemento/creatinina), sendo tradicionalmente realizados na urina 24 de horas (mEq/24h). O objetivo desse estudo é correlacionar a excreção urinária desses íons na urina de 24h com a urina isolada para posterior estabelecimento de intervalos de referência em tais amostras.

Trata-se de um estudo transversal composto por 99 indivíduos adultos saudáveis. Foram realizadas correlações entre as excreções urinárias de sódio (Na), cloreto (Cl) e potássio (K) em amostras isoladas e de 24h através do coeficiente de correlação de *Spearman* para definição do horário mais adequado para obtenção das amostras isoladas. Posteriormente, foram estabelecidos intervalos de referência, para as esses íons conforme recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*.

A partir dos dados de correlação, as amostras urinárias colhidas entre 6h-9h após jejum alimentar e entre 18h-21h foram elegidas para o estabelecimento dos intervalos de referência de Na e Cl urinários. Para o potássio, selecionou-se apenas a amostra colhida entre 18h-21h, uma vez que a amostra colhida entre 6h-9h não apresentou correlação estatisticamente significativa com a urina de 24h.

Para amostras colhidas entre 6h-9h, os intervalos de referência para Na e Cl foram de 29-268 mEq/g creatinina e 27-291 mEq/g creatinina, respectivamente. Para as amostras de 18h-21h, para Na, Cl e K, obtiveram-se os intervalos 40-325 mEq/g creatinina, 30-307 mEq/g creatinina e 12 a 81 mEq/g creatinina.

Concluimos que as excreções de sódio, potássio e cloreto em amostras isoladas correlacionam-se com urina de 24h, possibilitando o estabelecimento de seus intervalos de referência.

**Palavras-chave:** Urina, sódio, cloreto, potássio, valores de referência.

## ABSTRACT

Reference intervals are used in clinical practice as support for the interpretation of laboratory tests. However, some measured analytes lack reference intervals established in literature, such as sodium, chloride and potassium determined in spot urine (element/creatinine) that is traditionally done in 24h urine (mEq/24h). The objective of this study is to correlate the urinary excretion of these ions in the 24h urine with the spot urine for later establishment of reference intervals in these samples.

This is a cross-sectional study composed of 99 healthy adults individuals. Correlations between sodium (Na), chloride (Cl) and potassium (K) urinary excretions were calculated on spot samples and in 24h samples through *Spearman's* correlation coefficient for the definition of the most appropriate time for spot samples to be obtained. The reference intervals were later established according to the *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* recommendations.

From the correlation data, the urinary samples collected between 6am-9am after breakfast and between 6pm-9pm were chosen for the establishment of the reference intervals of urinary sodium and chloride. For the potassium, the only sample selected was the collected between 6pm-9pm, since the sample collected between 6am-9am did not correlate with the 24h urine.

For the samples collected between 6am-9am, the reference intervals for the sodium and chloride were 29-268 mEq/g creatinine and 27-291 mEq/g creatinine, respectively. For the 6pm-9pm samples, sodium, chloride and potassium obtained the intervals of 40-325 mEq/g creatinine, 30-307 mEq/g creatinine and 12 and 81 mEq/g creatinine.

In conclusion the sodium, potassium and chloride excretions in spot samples correlated with 24-h urine, enabling the establishment of their reference intervals.

**Key-words:** Urine, sodium, chloride, potassium, reference intervals.

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

<b>QUADRO 1:</b> Especificações analíticas dos íons sódio, potássio, cloreto e creatinina urinários realizados no equipamento Modular P800® (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha). .....	35
<b>QUADRO 2:</b> Especificações analíticas dos íons sódio, potássio, cloreto e creatinina séricos realizados no equipamento Modular P800® (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha). .....	35
<b>TABELA 1:</b> Dados demográficos dos participantes da Etapa 1 e Etapa 2. ....	38
<b>TABELA 2:</b> Correlações ( $r_s$ ) entre as excreções de sódio, cloreto e potássio em urina de 24h e em urinas isoladas (n=40). ....	42
<b>TABELA 3:</b> Correlações ( $r_s$ ) entre a excreção de sódio e cloreto na urina de 24h e em amostras isoladas colhidas entre 6h e 9h, na presença e na ausência de jejum alimentar. .....	43
<b>TABELA 4:</b> Intervalos de referência para Na/Cr, Cl/Cr e K/Cr em amostras urinárias isoladas (mEq/g creatinina) - Modular P800® (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha). ....	48
<b>TABELA 5:</b> Comparação entre os intervalos de referência obtidos no presente estudo e aqueles obtidos por Fuentes-Arderiu <i>et al.</i> (2005). ....	55

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1:** Excreção do íon sódio (mEq/g creatinina) ao longo de 24h (n=40). Dados apresentados como box plots, onde os boxes representam os percentis de 25 a 75, a linha horizontal dentro de cada box representa a mediana e as linhas verticais representam o título mínimo e o máximo. Os círculos representam *outliers* e o quadrado indica *far outlier*. .....39
- FIGURA 2:** Excreção do íon cloreto (mEq/g creatinina) ao longo de 24h (n=40). Dados apresentados como box plots, onde os boxes representam os percentis de 25 a 75, a linha horizontal dentro de cada box representa a mediana e as linhas verticais representam o título mínimo e o máximo. Os círculos representam *outliers* e os quadrados indicam *far outliers*. .....40
- FIGURA 3:** Excreção do íon potássio (mEq/g creatinina) ao longo de 24h (n=40). Dados apresentados como box plots, onde os boxes representam os percentis de 25 a 75, a linha horizontal dentro de cada box representa a mediana e as linhas verticais representam o título mínimo e o máximo. Os círculos representam *outliers*. .....41
- FIGURA 4:** Gráfico de dispersão da excreção de sódio na urina de 24h (mEq/24h) e na urina isolada (mEq/g creatinina), colhida entre 6h e 9h, na ausência do jejum alimentar, em 21 indivíduos. As linhas tracejadas laterais representam os intervalos de confiança da predição da reta de regressão (Passing & Bablok). .....44
- FIGURA 5:** Gráfico de dispersão da excreção de sódio na urina de 24h (mEq/24h) e na urina isolada (mEq/g creatinina), colhida entre 18h e 21h, em 40 indivíduos. As linhas tracejadas laterais representam os intervalos de confiança da predição da reta de regressão (Passing & Bablok). .....44
- FIGURA 6:** Gráfico de dispersão da excreção de cloreto na urina de 24h (mEq/24h) e na urina isolada (mEq/g creatinina), colhida entre 6h e 9h, na ausência do jejum alimentar em 21 indivíduos. As linhas tracejadas laterais representam os intervalos de confiança da predição da reta de regressão (Passing & Bablok). .....45

**FIGURA 7:** Gráfico de dispersão da excreção de cloreto na urina de 24h (mEq/24h) e na urina isolada (mEq/g creatinina), colhida entre 18h e 21h, em 40 indivíduos. As linhas tracejadas laterais representam os intervalos de confiança da predição da reta de regressão (Passing & Bablok). .....45

**FIGURA 8:** Gráfico de dispersão da excreção de potássio na urina de 24h (mEq/24h) e na urina isolada (mEq/g creatinina), colhida entre 18h e 21h, em 40 indivíduos. As linhas tracejadas laterais representam os intervalos de confiança da predição da reta de regressão (Passing & Bablok). .....46

**FIGURA 9:** Distribuição dos dados obtidos na excreção dos íons sódio (mEq/g creatinina), e cloreto (mEq/g creatinina), em amostras isoladas colhidas entre 6h e 9h, após a transformação box-cox. Dados apresentados como box plots, onde os boxes representam os percentis de 25 a 75, a linha horizontal dentro de cada box representa a mediana e as linhas verticais representam o título mínimo e o máximo dos dados transformados. Os círculos representam *outliers*. .....49

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

24h	24 horas
a.C	Antes de Cristo.
ADH	Hormônio antidiurético
ANP	Peptídeo natriurético atrial
CAP	<i>College of American Pathologists</i>
Cl	Cloreto
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
Cr	Creatinina
d.C	Depois de Cristo
ELSA-Brasil	Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto
EUA	Estados Unidos da América
FE <sub>Na</sub>	Fração de excreção de sódio
g	Gramma
IC95%	Intervalo de confiança de 95%
ICC:	Coeficiente de correlação intraclasse
IMC	Índice de massa corporal
INTERSALT	International Cooperative Study on Salt, Other Factors, and Blood Pressure
ISE	<i>Ion-Selective Electrode</i> (Eletrodo Íon-Seletivo)
K	Potássio
kg	Quilograma
L	Litro
MDRD	<i>Modification of Diet in Renal Disease</i>
mEq	Miliequivalente
mL	Mililitro
Na	Sódio
NaCl	Cloreto de sódio
PABA	Ácido p-aminobenzóico
PELM	Proficiência em Ensaios Laboratoriais
r <sub>s</sub>	Coeficiente de correlação de <i>Spearman</i>

SBPC	Sociedade Brasileira de Patologia Clínica
TFGe	Taxa de Filtração Glomerular estimada
U <sub>NA</sub>	Sódio urinário
U <sub>Cr</sub>	Creatinina urinária
P <sub>NA</sub>	Sódio sérico
P <sub>Cr</sub>	Creatinina sérica
WHO	<i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO-----	14
1.1 HISTÓRICO -----	14
1.2 AMOSTRAS URINÁRIAS ISOLADAS E CRONOMETRADAS (URINA DE 24 HORAS) ----	15
1.3 VERIFICAÇÃO DA ADEQUAÇÃO DA COLETA DA URINA DE 24 HORAS-----	16
1.4 FISIOLOGIA DOS ELETRÓLITOS-----	18
1.4.1 SÓDIO-----	18
1.4.2 CLORETO-----	19
1.4.3 POTÁSSIO-----	19
1.5 INDICAÇÕES DA DOSAGEM LABORATORIAL DOS ELETRÓLITOS URINÁRIOS -----	19
1.5.1 SÓDIO-----	19
1.5.2 CLORETO-----	20
1.5.3 POTÁSSIO-----	20
1.6 AVALIAÇÃO DA EXCREÇÃO URINÁRIA DE SÓDIO E POTÁSSIO COMO MARCADOR DO CONSUMO ALIMENTAR DIÁRIO-----	21
1.7 METODOS LABORATORIAIS PARA DOSAGEM DOS ELETRÓLITOS URINÁRIOS -----	25
1.8 IMPORTÂNCIA DO ESTABELECIMENTO DE INTERVALOS DE REFERÊNCIA -----	26
2 OBJETIVOS-----	30
2.1 OBJETIVO GERAL:-----	30
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:-----	30
3 MATERIAIS E MÉTODOS -----	31
3.1 ASPECTOS ÉTICOS-----	31
3.2 POPULAÇÃO E DADOS DO ESTUDO -----	31
3.3 ETAPA 1-----	31
3.4 ETAPA 2-----	33
3.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO EMPREGADOS-----	33

3.5 DOSAGENS LABORATORIAIS -----	34
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA -----	36
4 RESULTADOS -----	37
4.1 CARACTERÍSTICAS DAS AMOSTRAS E DOS PARTICIPANTES -----	37
4.2 DETERMINAÇÃO DO PERFIL CIRCADIANO DE EXCREÇÃO URINÁRIA DE Na, Cl E K	39
4.3 CORRELAÇÕES ENTRE AMOSTRAS URINÁRIAS ISOLADAS E AMOSTRAS DE 24H ---	42
4.4 GERAÇÃO DOS INTERVALOS DE REFERÊNCIA -----	47
5 DISCUSSÃO -----	50
6 CONCLUSÕES -----	57
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----</b>	<b>58</b>
<b>ANEXO A - Parecer da Câmara do Departamento de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) -----</b>	<b>63</b>
<b>ANEXO B - Parecer do Núcleo de Apoio à Pesquisa do Laboratório Hermes Pardini--</b>	<b>64</b>
<b>ANEXO C - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)-----</b>	<b>66</b>
<b>ANEXO D - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO -----</b>	<b>67</b>
<b>ANEXO E- FORMULÁRIO DE PESQUISA-----</b>	<b>69</b>
<b>ANEXO F - INSTRUÇÕES PARA COLETA DE SANGUE E AMOSTRAS URINÁRIAS, DURANTE 24 HORAS -----</b>	<b>71</b>
<b>ANEXO G - INSTRUÇÕES PARA COLETA DE URINA ISOLADA E SANGUE ----</b>	<b>73</b>
<b>ANEXO H - INQUÉRITO NEFROLOGISTAS -----</b>	<b>74</b>
<b>ANEXO I - TRANSFORMAÇÃO DE BOX-COX-----</b>	<b>76</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 HISTÓRICO

A medicina laboratorial teve sua origem a partir da análise da urina. Há referências ao estudo da urina em desenhos rupestres e em hieróglifos egípcios. Embora não dispusessem de procedimentos analíticos sofisticados, os médicos da antiguidade eram capazes de obter informações diagnósticas a partir da observação da cor, da turbidez, do odor, do volume, da viscosidade e do sabor adocicado da urina. Atualmente, a maioria dessas características ainda é pesquisada pelos laboratórios clínicos, embora o exame de urina atual contemple a análise química e microscópica do sedimento urinário (STRASINGER, 2000).

Hipócrates, no século V a.C descreveu sobre as características físicas da urina (“uroscopia”). Por volta de 1140 d.C., tabelas de cores foram criadas para descrever o significado de vinte cores diferentes de urina. Já em 1964, Frederic Dekkers desenvolveu a detecção de albuminúria por meio da fervura da urina. Mesmo com o passar dos anos, o exame de urina se manteve como um dos testes mais frequentemente solicitados na rotina laboratorial (STRASINGER, 2000), seja para pacientes com diferentes condições clínicas, seja para indivíduos saudáveis que se submetem à avaliação periódica (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLINICA – SBPC, 2010).

As amostras de urina são caracterizadas como sendo de obtenção relativamente fácil e traduzem informações sobre as principais funções metabólicas do organismo. Contudo, como qualquer outro procedimento laboratorial, a coleta da urina necessita ser cuidadosamente padronizada uma vez que a valorização do resultado está estritamente relacionada com as condições pré-analíticas, dentre elas o preparo adequado para coleta e o armazenamento da amostra biológica.

## **1.2 AMOSTRAS URINÁRIAS ISOLADAS E CRONOMETRADAS (URINA DE 24 HORAS)**

Vários são os tipos de amostras urinárias utilizadas na avaliação laboratorial. Amostras isoladas (também chamadas amostras recentes, únicas ou aleatórias), são obtidas facilmente e com mínimo desconforto, sendo as mais utilizadas na triagem de desordens metabólicas (HARRINGTON & COHEN, 1975; SIMIKIN *et al.*, 1979; PENIDO *et al.*, 2002; SAFARINEJAD, 2003).

A amostra isolada colhida na primeira micção matinal é a mais empregada. Para verificação de enfermidades uretrais, utiliza-se o primeiro jato urinário. O jato médio é utilizado nas demais avaliações. Já a urina colhida duas horas após a refeição (pós-prandial) foi muito utilizada na avaliação de glicosúria em indivíduos portadores de Diabetes Mellitus (STRASINGER, 2000).

As urinas cronometradas são caracterizadas como amostras emitidas durante intervalos específicos de tempo (por exemplo: 12 e 24 horas), sendo úteis na determinação de vários mensurados cuja excreção varia ao longo do dia, conforme o ritmo circadiano, a alimentação, o exercício físico e o metabolismo corpóreo, como é o caso da excreção de sódio, cloreto e potássio (SBPC, 2010). A utilização dessa amostra pressupõe necessidade de instruções verbais, escritas e em algumas situações, acompanhamento presencial a fim de se evitar erros de coleta. É necessário iniciar a coleta com a bexiga vazia e terminá-la também com a bexiga vazia. A conservação da amostra durante e após a coleta é uma etapa fundamental e requer a refrigeração da urina ou utilização de conservantes como ácido clorídrico ou acético.

A urina de 24 horas (24h) tem sido considerada como amostra padrão na determinação urinária de vários analitos, dentre eles, sódio, cloreto e potássio. Contudo, vários autores têm relatado inadequação na obtenção da urina de 24h, o que resulta em recoleta da amostra ou até erros de resultados dos testes quantitativos (PRICE *et al.*, 2005; HONG *et al.*, 2010; MANN & GERBER, 2010; MILL *et al.*, 2012).

As principais inadequações observadas estão relacionadas com marcação incorreta do tempo, preservação inapropriada da amostra e perda de volume urinário durante o procedimento da coleta. Para indivíduos que se encontram hospitalizados, a supervisão da coleta auxilia na obtenção da amostra adequada, enquanto em pacientes pediátricos, exige-se atenção especial para evitar contato direto da urina com as fezes, além de demandar atenção constante do cuidador. A mesma dificuldade de coleta é encontrada em indivíduos adultos com dificuldade de controle de esfíncteres.

A integralidade da coleta da urina de 24h também é difícil de ser determinada e sempre que houver divergência entre os resultados laboratoriais e a clínica do paciente, deve-se suspeitar de coleta inadequada da amostra.

### **1.3 VERIFICAÇÃO DA ADEQUAÇÃO DA COLETA DA URINA DE 24 HORAS**

Embora a urina de 24h seja considerada a amostra ideal para determinação de alguns analitos, há registros na literatura de grande número de coletas obtidas inadequadamente e rejeitadas (MILL *et al.*, 2012; MENTE *et al.*, 2014; TOFT, *et al.*, 2014). Além da dificuldade enfrentada com a coleta da amostra, também existe complexidade na conclusão de sua adequação.

Alguns autores utilizam o relatório de coleta realizado pelo indivíduo como ferramenta para avaliar a adequação da urina de 24h, a partir de informações como perda de volume urinário e tempo de duração da coleta (TANAKA *et al.*, 2002). Outros optam pela avaliação do volume urinário excretado em 24h, sendo considerada amostra adequada, aquela colhida com volume superior a 500 mL (WANG *et al.*, 2013).

A avaliação creatinina urinária também é um dos parâmetros utilizados na adequação da coleta urina 24h, pelo fato de sua excreção ser considerada constante (KAWASAKI *et al.*, 1993; MENTE *et al.*, 2014).

O método considerado padrão para avaliação da adequação da coleta da urina de 24h é a determinação da recuperação do ácido p-aminobenzóico (PABA), pois trata-se de um composto excretado rápida e completamente na urina (MURAKAMI *et al.*, 2008; HOOFT VAN HUYSDUYNEN *et al.*, 2014). Após a ingestão de três tabletes de PABA durante a

coleta da urina de 24h, faz-se a determinação da concentração urinária desse composto. Recuperação inferior a 85% definiria a coleta como inadequada (MURAKAMI *et al.*, 2008). Utilizando essa definição, Murakami *et al.*(2008) compararam outras estratégias propostas por cinco autores diferentes, que definiam a inadequação quando:

- $Cr\ U < 5\ mmol/dia$  ou  $Cr\ U < 6\ mmol/dia + volume\ urinário\ 24h < 1000\ mL/dia$  (Reinivuo *et al.*, 2006);
- $Cr\ U(mg/dia) / Peso\ corporal\ (Kg) < 10,8$  ou  $> 25,2$  (WHO, 1984);
- $Cr\ U(mg/dia) / Peso\ corporal\ (Kg) < 11$  ou  $> 20$  (Malekshah *et al.*, 2006);
- $Cr\ U(mmol/dia) \times 113 / 21 \times peso\ corporal\ (Kg) < 0,6$  (Joossens; Geboers, 1984);
- $Cr\ U(mmol/dia) \times 113 / 21 \times peso\ corporal\ (Kg) < 0,7$  (Knuiman *et al.*, 1986).

O estudo permitiu concluir que as estratégias utilizadas para avaliação da adequação de coleta urinária a partir da excreção de creatinina possuem desempenhos diferentes. A concordância entre a identificação de amostras incompletas identificadas simultaneamente pelo PABA considerado como método de referência e confirmadas pela excreção da creatinina variou de 11 a 47%, sendo observado o melhor desempenho com a proposta por Knuiman *et al.*, (1986) com reconhecimento de 47% de amostras incompletas. Enquanto a proposta da WHO (1984) reportou o índice mais baixo com resultado de 11% de reconhecimento de amostras incompletas. As estratégias de Malekshah *et al.*, e de Joossens; Geboers, 1984 reconheceram 17% e 19% de amostras inadequadas, respectivamente.

Diante do exposto, fica claro que além da dificuldade enfrentada pelos indivíduos durante a coleta da urina de 24h também é necessário avaliar a complexidade da precisão dessa coleta. A utilização do PABA não é rotineira e não é viável do ponto de vista financeiro para utilização em estudos epidemiológicos e em laboratórios clínicos.

## 1.4 FISIOLÓGIA DOS ELETRÓLITOS

Os eletrólitos são designados como elementos capazes de conduzir eletricidade quando em solução e desempenham funções na homeostase da água, no balanço ácido-base, na função cardíaca, muscular e como cofatores enzimáticos. O termo eletrólitos é mais comumente empregado para se referir ao sódio (Na), cloreto (Cl) e potássio (K), mas, dependendo do contexto, pode ser extensivo a outros elementos (BURTIS *et al.*, 2012).

### 1.4.1 SÓDIO

O sódio é o principal cátion do fluido extracelular, responsável por quase metade da osmolaridade do plasma e tem importante função na regulação da volemia corporal. Em condições fisiológicas, as concentrações séricas variam de 136 a 145 mEq/L enquanto a excreção urinária varia de 120 a 240 mEq/dia em adultos saudáveis com uma ingestão média diária de 7 a 14g de cloreto de sódio (BURTIS *et al.*, 2012). Em situação de equilíbrio, a excreção de sódio reflete a ingestão (HARRINGTON; COHEN, 1975; KIRSZTAJN, 2010).

O sódio é livremente filtrado pelos glomérulos renais e reabsorvido principalmente nos túbulos proximais (cerca de 70%) e na alça de Henle (25%) juntamente com o cloreto e água, enquanto os túbulos distais e ductos coletores são responsáveis pela reabsorção da maior parte restante (GUYTON & HALL, 2011).

A regulação precisa dos volumes corporais e das concentrações de soluto exige que os rins excretem solutos diferentes em quantidades variáveis. O hormônio aldosterona possui um papel importante na secreção tubular de potássio e na reabsorção de sódio, enquanto o hormônio antidiurético (ADH) controla a concentração urinária através da excreção renal de água, independente da excreção de soluto. Já a angiotensina II promove reabsorção de sódio nos túbulos renais. O peptídeo natriurético atrial (ANP) atua na diminuição da secreção de renina e, portanto de angiotensina II.

#### 1.4.2 CLORETO

O cloreto é considerado o principal ânion extracelular. Assim como o sódio, auxilia na manutenção do controle osmótico e na volemia, sendo absorvido predominantemente no trato gastrointestinal. A principal via de excreção é a renal, sendo reabsorvido passivamente junto com o sódio nos túbulos proximais e ativamente na alça de Henle (BURTIS *et al.*, 2012).

#### 1.4.3 POTÁSSIO

Já o potássio é considerado o principal cátion intracelular, com uma concentração sérica normal de 3,5 a 5,1 mEq/L. Em indivíduos saudáveis, a concentração desse íon reflete o equilíbrio entre a ingestão e a eliminação. Cerca de 65% do potássio filtrado pelos glomérulos renais são reabsorvidos nos túbulos proximais e cerca de 25 a 30% são reabsorvidos na alça de Henle. Nos túbulos distais, o potássio é secretado, enquanto o sódio é reabsorvido sob ação da aldosterona. Assim como o sódio, a excreção de potássio é dependente da dieta alimentar. Em indivíduos saudáveis, a sua excreção média varia de 42 a 86 mEq/dia nos homens e de 33 a 70 mEq/dia nas mulheres (BURTIS *et al.*, 2012).

### **1.5 INDICAÇÕES DA DOSAGEM LABORATORIAL DOS ELETRÓLITOS URINÁRIOS**

#### 1.5.1 SÓDIO

Harrington & Cohen (1975) consideravam que as aplicações clínicas mais relevantes para a determinação urinária do sódio encontravam-se na avaliação de pacientes com depleção de volume, oligúria aguda e hiponatremia.

Contudo, observa-se hipernatriúria no hiperaldosteronismo primário, na insuficiência adrenal, na nefrite com perda de sal, na terapêutica com diuréticos e na síndrome da secreção inapropriada de hormônio antidiurético.

O cálculo da fração de excreção de sódio ( $FE_{Na}$ ) na urina recente tem sido utilizado como medida da excreção urinária de sódio ajustada pela carga filtrada, a partir da utilização de informações da concentração de sódio urinário ( $U_{Na}$ ), sódio sérico ( $P_{Na}$ ), creatinina urinária ( $U_{Cr}$ ) e creatinina sérica ( $P_{Cr}$ ):  $FE_{Na} = (U_{Na} / P_{Na}) \times (P_{Cr} \times U_{Cr}) \times 100$ . Valores inferiores a 1% sugerem oligúria pré-renal (KIRSZTAJN, 2010). Em casos de desidratação, onde ocorre débito urinário reduzido, a  $FE_{Na}$  encontra-se abaixo de 1%, em função do hiperaldosteronismo secundário. Já em casos de lesão tubular aguda, não ocorre reabsorção máxima de sódio e a  $FE_{Na}$  geralmente encontra-se superior a 1%, enquanto em casos de produção máxima de aldosterona os valores da  $FENa$  são próximos de 0,1% (HENRY, 2008).

Alguns trabalhos têm demonstrado que a ingestão elevada de sódio induz a hipercalcúria em pessoas saudáveis (PENIDO *et al.*, 2002) e que crianças hipercalcúricas possuem melhor prognóstico frente à menor ingestão de sódio (TRINDADE *et al.*, 2007).

Outros autores têm utilizado a relação sódio/potássio (Na/K) urinário no acompanhamento de pacientes hipercalcúricos e também como marcador da qualidade da alimentação, ou seja, uma alimentação equilibrada não deve ser rica em sódio que se encontra presente em grandes quantidades nos alimentos industrializados e ao mesmo tempo deve ser rica em potássio, presente em frutas e hortaliças (MOLINA, 2003; OSORIO & ALON; 1997; TRINDADE *et al.*, 2007).

### 1.5.2 CLORETO

A principal relevância clínica para determinação urinária do cloreto é na avaliação de pacientes com alcalose metabólica persistente, causada pela perda de cloreto na urina. (HARRINGTON & COHEN, 1975).

### 1.5.3 POTÁSSIO

A principal indicação clínica da determinação urinária de potássio encontra-se na avaliação de indivíduos com hipocalcemia de etiologia obscura, e na definição de perda renal ou extrarrenal de potássio (HARRINGTON & COHEN, 1975). Também é útil na estimativa da ingestão

alimentar desse eletrólito, sendo considerada a urina de 24h como amostra biológica ideal para essa avaliação (MILL *et al.*, 2012).

A hipercaliúria pode ser observada também em casos de inanição, no hiperaldosteronismo primário e secundário, nas doenças renais primárias, nas síndromes tubulares renais e durante as fases de recuperação da nefrose tubular aguda, acidose metabólica e alcalose metabólica, enquanto a excreção diminuída de potássio ocorre na insuficiência renal aguda, na oligúria ou na anúria e em casos de acidose (HARRINGTON & COHEN, 1975; KIRSZTAJN, 2010).

A alta ingestão de potássio promove elevação da excreção urinária de potássio e diminuição da excreção de cálcio, constituindo um importante recurso terapêutico na hipercaliúria idiopática em crianças (TRINDADE *et al.*, 2007).

## **1.6 AVALIAÇÃO DA EXCREÇÃO URINÁRIA DE SÓDIO E POTÁSSIO COMO MARCADOR DO CONSUMO ALIMENTAR DIÁRIO**

O sódio tem sido objeto de interesse das políticas de saúde pública por décadas, principalmente pela associação de sua alta ingestão com aumento da incidência de doenças crônicas. Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2012) o consumo de sal (NaCl) superior a cinco gramas diários, aumenta a prevalência de hipertensão e conseqüentemente maior risco de doenças cardiovasculares como infarto, acidente cerebrovascular, falência cardíaca e doença renal. Diante do exposto, vários países têm instituído políticas públicas incentivando a redução do consumo diário de sal pela população (JIANWEI, X. *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2014).

O potássio, por sua vez, é obtido de alimentos como as hortaliças, frutas, leguminosas e oleaginosas. Desta forma, a relação sódio/potássio pode ser utilizada como marcador da qualidade da alimentação, com resultados satisfatórios diante de um maior consumo de frutas e hortaliças e menor consumo de alimentos industrializados, ricos em sódio e gordura (TRINDADE *et al.*, 2007).

A avaliação precisa do consumo de sódio e potássio pela população é uma difícil tarefa, pois os métodos disponíveis apresentam limitações. Os recordatórios alimentares de 24h dependem da memória do indivíduo e das tabelas de composição nutricional, que nem sempre contemplam preparações regionais. Sendo assim, a excreção urinária de 24h vem sendo utilizada como marcador do consumo diário de sódio e de potássio, pois 95% do sódio e 80% do potássio ingeridos são excretados na urina (MILL *et al.*, 2012). No entanto, a coleta da urina de 24h é considerada como método inconveniente e pouco prático, sendo o armazenamento de grande volume de urina visto como transtorno para alguns indivíduos (TANAKA *et al.*, 2002). Assim, métodos alternativos foram sugeridos para avaliação da ingestão do consumo desses nutrientes como a utilização de fórmulas matemáticas que permitem estimar a excreção de sódio e de potássio em um período de 24h, a partir de uma amostra de urina isolada (KAWASAKI *et al.*, 1993; TANAKA *et al.*, 2002; MILL *et al.*, 2012).

Kawasaki *et al.* (1993) propuseram a avaliação da excreção desses eletrólitos a partir da segunda urina da manhã, na presença de jejum alimentar. Foram recrutados 159 japoneses saudáveis com idade entre 20 e 79 anos. Os autores formularam equações para prever a excreção de 24h de creatinina a partir de informações antropométricas. Também foram propostas fórmulas preditoras para excreção de 24h de sódio e de potássio. As correlações obtidas entre as excreções de sódio (Na) e potássio (K) estimadas em amostra de urina isolada e aquelas determinadas na urina de 24h foram 0,728 ( $p < 0,001$ ) e 0,780 ( $p < 0,001$ ), respectivamente. Embora os autores tenham observado uma tendência a resultados mais elevados para as estimativas de excreção de potássio, a urina recente (segunda urina da manhã) foi considerada uma alternativa satisfatória para avaliação da excreção de sódio e potássio em estudos populacionais.

Tanaka *et al.* (2002) desenvolveram fórmulas para prever a excreção de 24h de sódio e de potássio a partir de amostras urinárias isoladas, porém diferentes da segunda urina do dia, conforme proposto por Kawasaki *et al.* (1993). Os autores não pré-definiram o horário da coleta sendo permitido que a urina isolada fosse colhida entre 8h e 19h. Fizeram parte do estudo 581 indivíduos provenientes de Toyama, Osaka e Tochigi com idade entre 20 e 59 anos. Os autores utilizaram modelos de regressão para propor as fórmulas preditoras da excreção de creatinina, sódio e potássio, de modo semelhante ao modelo proposto por

Kawasaki *et al.* (1993). As correlações entre as excreções determinadas na urina de 24h e aquelas preditas foram de 0,54 para o sódio ( $p < 0,01$ ) e de 0,56 para o potássio ( $p < 0,01$ ), sendo assim inferiores às correlações obtidas por Kawasaki *et al.* (1993). Contudo, os indivíduos recrutados por Tanaka *et al.* (2002) colheram as amostras isoladas em horários diversos, refletindo assim variações nas concentrações dos íons, influenciados pelo ritmo circadiano e dieta alimentar. Os autores consideraram as estimativas de excreção de sódio e de potássio como alternativas viáveis para avaliação da ingestão populacional dos íons, porém os métodos não foram considerados adequados para acompanhamento individual, sendo nesses casos sugerido o acompanhamento através da determinação da excreção dos íons na urina de 24h.

Em um estudo multicêntrico recente, Mente *et al.* (2014) compararam a excreção de 24h de sódio e potássio com as excreções estimadas pelas fórmulas de Kawasaki *et al.* (1993), Tanaka *et al.* (2002) e INTERSALT (International Cooperative Study on Salt, Other Factors, and Blood Pressure) (BROWN, 2013). O estudo contou com a participação de 1083 indivíduos provenientes de 11 países, que colheram urina de 24h e a primeira urina da manhã, na presença de jejum alimentar. A média de idade dos participantes foi de 57 anos. As análises de correlações entre as excreções estimadas e determinadas na urina de 24h foram quantificadas pelo coeficiente de correlação intraclassa (ICC).

Na avaliação da excreção de sódio, os resultados demonstraram ICC significativamente mais altos para as fórmulas propostas por Kawasaki *et al.* (1993) (ICC=0,71; intervalo de confiança de 95% (IC95%): 0,65 – 0,76), comparado com o INTERSALT (BROWN, 2013) (ICC=0,49; IC95%: 0,29-0,62) e Tanaka *et al.* (2002) (ICC=0,54; IC95%=0,42-0,62). Para o potássio, os ICC entre as estimativas e determinações também foram maiores para as fórmulas propostas por Kawasaki *et al.* (ICC=0,55; 95% CI: 0,31-0,69), comparado com a fórmula de Tanaka *et al.* (ICC=0,36 95% CI: 0,07-0,60). Contudo, ambos os métodos subestimaram a excreção de potássio na presença de altas excreções determinadas na urina de 24h. Já para o sódio, houve uma superestimação da excreção na presença de baixas excreções diárias e uma subestimação para altas concentrações, nas três fórmulas avaliadas.

Também com o objetivo de determinar a validade das equações preditoras da excreção de 24h de sódio, Cogswell *et al.* (2014) compararam a excreção de sódio determinada na urina de 24h com as equações propostas por Kawasaki *et al.* (1993), Tanaka *et al.* (2002), Mage (MAGE; ALLEN; KODALI, 2008) e INTERSALT (BROWN, 2013). A população estudada foi

composta por 407 adultos com idades entre 18 e 39 anos, provenientes de Washington. Os participantes colheram amostras isoladas no período matutino; período da tarde; período da noite e após longo período de sono. O agrupamento das amostras compôs a urina de 24h.

A adequação da coleta da urina de 24h foi determinada pela observação de um volume urinário igual ou superior a 500 mL; duração da coleta com tempo igual ou superior a 20 horas; possibilidade de perda de micção restrita a uma única amostra.

Do ponto de vista individual, as equações avaliadas não apresentaram bons desempenhos. Com a equação do INTERSALT (BROWN, 2013) e de Tanaka *et al.* (2002) houve superestimação de sódio na presença de baixas concentrações excretadas na urina de 24h e subestimação na presença de altas concentrações. Quando a fórmula de Kawasaki *et al.* (1993) foi utilizada, nas amostras matinais observou-se uma superestimação frente a moderadas excreções de sódio. Já com relação à fórmula de Mage *et al.* (2008) ocorreu subestimação de sódio na presença de baixas concentrações excretadas e superestimação na presença de altas concentrações excretadas.

Os autores concluíram que a fórmula proposta pelo INTERSALT apresentou-se mais adequada para acompanhamentos populacionais, sendo capaz de fornecer menor diferença entre as concentrações de sódio estimado e sódio determinado nas amostras colhidas no período da manhã, tarde e noite.

Embora as fórmulas predictoras estejam sendo extensivamente pesquisadas, ainda não há um consenso sobre a amostra isolada ideal para realização da estimativa da excreção de sódio e de potássio por um período de 24h. O trabalho de Kawasaki *et al.* (1993) utilizou a segunda urina da manhã na presença de jejum alimentar, já Tanaka *et al.* (2002) não predefiniram um momento de coleta da amostra urinária, enquanto Mentz *et al.* (2014) utilizaram a primeira urina da manhã, na presença de jejum alimentar, para validar as fórmulas propostas por Kawasaki, Tanaka e INTERSALT, ou seja, uma amostra isolada diferente daquelas propostas pelos autores nos artigos originais.

## **1.7 METODOS LABORATORIAIS PARA DOSAGEM DOS ELETRÓLITOS URINÁRIOS**

Os métodos laboratoriais utilizados para a dosagem de eletrólitos baseiam-se nas propriedades dos eletrólitos de emitir ou absorver luz e conduzir eletricidade quando submetidos a condições especiais. Os principais métodos disponíveis são fotometria de chama, espectrofotometria de absorção atômica e potenciometria, que utilizam analisadores com eletrodos seletivos (KIRSZTAJN, 2010).

A fotometria de chama é uma técnica que permite a quantificação dos íons com base na capacidade do átomo de receber energia por meio de exposição a uma chama de alta temperatura e emitir luz com características de cada elemento. Sob condições constantes e controladas, a intensidade da luz é diretamente proporcional ao número de átomos estimulados e à concentração da substância de interesse na amostra. Essa técnica foi bastante utilizada no passado, e hoje foi substituída por técnicas eletroquímicas que apresentam melhor desempenho (BURTIS *et al.*, 2012).

A espectrofotometria de absorção atômica também é utilizada na quantificação de íons em solução, embora seja considerada técnica dispendiosa. Pressupõe a utilização de lâmpadas diferentes para cada íon pesquisado. Cada bulbo emite luz em comprimento de onda específico, conforme o elemento pesquisado. Essa técnica utiliza amostras volatilizadas, necessitando de chamas de alta potência. A quantidade de luz absorvida é proporcional à quantidade de elemento na solução (KIRSZTAJN, 2010).

Outra técnica é a potenciometria, na qual os analisadores usam eletrodos seletivos (ISE) que, por sua vez, são sensores que convertem a atividade de um íon em solução em um potencial elétrico que pode ser medido em um voltímetro. A seletividade é determinada pelo eletrodo que permite que o íon de interesse interaja com o circuito elétrico. (KIRSZTAJN, 2010).

Embora a fotometria de chama e a espectrofotometria de absorção atômica tenham sido bastante empregadas no passado para a determinação de sódio, potássio e cloreto, atualmente a maioria dos laboratórios de análises clínicas utiliza eletrodos íon seletivos (ISE) para determinação desses íons. O *College of American Pathologists* (CAP) relata que aproximadamente 90% dos laboratórios avaliados utilizam a potenciometria (BURTIS *et al.*, 2012).

## **1.8 IMPORTÂNCIA DO ESTABELECIMENTO DE INTERVALOS DE REFERÊNCIA**

Os resultados de exames laboratoriais são comumente comparados com os intervalos de referência para diagnóstico, acompanhamento e predição de doenças. De acordo com *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008), o valor de referência é definido como aquele obtido pela observação ou mensuração quantitativa de um analito em um grupo de indivíduos selecionados, com base em critérios bem estabelecidos.

A *International Federation of Clinical Chemistry* foi pioneira na teoria e na determinação dos intervalos de referência, através de publicações realizadas entre 1979 e 1987. Enquanto o *CLSI* apresentou diretrizes para determinação de intervalos de referência em 1992, com aprovação em 1995 e revisões em 2001 (HORN, 2005) e 2008 (CLSI, 2008).

Convencionalmente, o diagnóstico de uma doença é realizado pela avaliação da clínica do indivíduo e quando necessário, por exames complementares, ambos interpretados por comparação com dados de referência.

No contexto laboratorial, o estabelecimento de intervalos de referência pode ser realizado a partir da validação de dados presentes em manuais de instruções de fabricantes de reagentes, de dados disponíveis na literatura ou da determinação de intervalos próprios, sendo a última opção a mais trabalhosa e onerosa. Em uma publicação realizada em 2007, nos Estados Unidos, Friedberg *et al.* avaliaram os métodos utilizados para o estabelecimento de intervalos de referência em 163 laboratórios clínicos. Os resultados demonstraram que aproximadamente 50% dos laboratórios conduziram estudos internos com indivíduos saudáveis para estabelecimento de intervalos de referência e 50% baseavam-se em informações externas

como fornecedores de kits de reagentes, publicações de literatura e informações oriundas de outros laboratórios.

Embora existam diretrizes desenvolvidas para estabelecimento de intervalos de referência, pouco se sabe sobre a rotina desse procedimento em laboratórios clínicos. Ferreira e Andriolo, em 2008, relataram que no Brasil, uma parcela significativa desses laboratórios utiliza os intervalos de referência oferecidos pelos fabricantes dos kits reagentes e também de informações extraídas de literaturas nacionais e internacionais.

A definição de intervalos de referência envolve a seleção de indivíduos provenientes de uma população referência, a partir de critérios de inclusão (HORN, 2003). Esse procedimento deve ser conduzido conforme protocolos sugeridos pelo CLSI (2008), levando em conta os potenciais interferentes pré-analíticos, analíticos e fontes de variabilidade biológicas. Esses interferentes podem causar inadequabilidade dos intervalos estabelecidos. Sendo assim, a fase pré-analítica deve ser cuidadosamente planejada: preparo do indivíduo antes da coleta (jejum, uso de medicação, atividade física, dentre outros), o procedimento de coleta (amostra biológica utilizada, duração da coleta, local, técnica e período do dia) e manipulação da amostra colhida (transporte, armazenamento, separação da amostra). A fase analítica também exige protocolos claros e bem definidos: descrição do método, equipamento, imprecisão analítica, limite de detecção e controles de qualidade.

Embora o estabelecimento de intervalos de referências próprios seja uma tarefa complexa e desafiadora, essa prática reflete a condição da população para a qual os testes serão aplicados rotineiramente, permitindo assim, interpretação fidedigna e aplicação de condutas médicas adequadas.

As determinações urinárias de sódio, potássio e cloreto são realizadas diariamente nos laboratórios clínicos, contudo os valores de referência disponibilizados referem-se predominantemente às amostras de urina colhidas durante um período de 24h. Diante das dificuldades enfrentadas com a coleta e armazenamento dessa amostra, vários autores têm sugerido a utilização da urina isolada como alternativa (razão soluto/creatinina), em função de correlações satisfatórias entre essas duas amostras urinárias. A necessidade de utilização da creatinina deve-se ao fato de sua excreção ser constante (NORDIN, 1959; KAWASAKI *et al.*, 1993). Em condições fisiológicas, a creatinina é excretada quase exclusivamente pelo rim,

sendo 85% por filtração glomerular e o restante por secreção tubular, sendo por isso considerada como marcador da filtração glomerular (ERICHESEN *et al.*, 2009).

Ginsberg *et al.* (1983) pesquisaram a excreção de proteínas em amostras isoladas colhidas ao longo do dia e sua correlação com a proteinúria de 24h, em 46 indivíduos. Os resultados demonstraram correlações estatísticas entre as amostras urinárias. Gökçe *et al.* (1991) observaram correlação entre as dosagens de cálcio e fósforo realizadas na urina de 24h com a razão cálcio/creatinina e fósforo/creatinina realizadas na amostra isolada, sugerindo a possibilidade de substituição da coleta de 24h pela coleta de urina recente. Já em 2002, Penido *et al.* avaliaram a excreção de cálcio, ácido úrico e citrato em 125 crianças e adolescentes, na urina de 24h e na urina isolada. Os resultados demonstraram correlações razoáveis entre as amostras urinárias na avaliação da excreção de cálcio e ácido úrico. Entretanto para o citrato urinário não houve correlação entre as amostras avaliadas.

Além da possibilidade de substituição da urina de 24h pela amostra única, alguns autores também procuraram estabelecer intervalos de referência desses analitos excretados em amostra isolada (SAFARINEJAD, 2003; FUENTES-ARDERIU, *et al.*, 2005). Para isso, torna-se necessária a definição do melhor período para a coleta da amostra urinária, uma vez que ainda não há consenso na literatura. Alguns autores sugerem coletar no início da manhã (ILIACH, *et al.*, 2009; NORDIN, 1959), outros à tarde (MANN & GERBER, 2010). Há também autores adeptos à coleta noturna (MILL, *et al.*, 2012).

Diante desse cenário, a possibilidade da substituição da coleta de urina de 24h pela coleta de amostra isolada, na avaliação de sódio, cloreto e potássio urinários, caso haja correlação entre esses dois tipos de amostras, poderia trazer benefícios aos pacientes, pois será realizada com menor desconforto e menor possibilidade de interferências pré-analíticas, como perda de volume urinário e conservação inadequada da amostra.

Até o momento, não há registros de intervalos de referência para os íons pesquisados para a população adulta brasileira. Assim, os resultados são liberados sem os respectivos intervalos de referência, gerando desconforto e insatisfação por parte dos médicos solicitantes. O número de exames solicitados é expressivo. No ano de 2014, um laboratório particular localizado na região metropolitana de Belo Horizonte, realizou 1824 exames para determinação da concentração urinária de sódio, 467 para o cloreto e 865 para o potássio em amostras isoladas (dados não publicados).

Assim, torna-se necessário a definição de intervalos para a excreção de sódio, cloreto e potássio em urinas isoladas a fim de fornecer subsídios para a interpretação dos resultados laboratoriais obtidos no cenário clínico.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL:

- Estabelecer intervalos de referência para os íons sódio, cloreto e potássio em amostras de urinas isoladas.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar o ritmo circadiano dos íons sódio, cloreto e potássio urinários.
- Avaliar a correlação entre a excreção dos íons sódio, cloreto e potássio em urina de 24 horas e em amostras de urinas isoladas dosadas ao longo de 24 horas.
- Definir qual o melhor período do dia para a coleta de urina isolada com finalidade de estabelecer os intervalos de referência para os íons sódio, cloreto e potássio.

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 ASPECTOS ÉTICOS

O presente trabalho foi aprovado na Câmara do Departamento de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da UFMG em 26/11/2012 (Anexo A), no Núcleo de Apoio a Pesquisa do Laboratório Hermes Pardini, em 11/03/2013 (Anexo B) e no Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP em 09/04/2013(CAAE: 14200113.1.0000.5149) (Anexo C).

Os sujeitos da pesquisa foram convidados a aderir ao projeto de pesquisa por meio de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (Anexo D). Todos foram orientados a preencher um formulário, contendo informações sobre o seu estado geral de saúde, sem interferência do pesquisador (Anexo E).

### 3.2 POPULAÇÃO E DADOS DO ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal, composto por 99 indivíduos selecionados entre maio de 2013 e fevereiro de 2014, na Região Metropolitana de Belo Horizonte.

O projeto foi realizado em duas etapas

- Primeira etapa (Etapa 1): avaliação do ritmo circadiano dos íons sódio, cloreto e potássio urinários e avaliação das correlações entre as amostras de urinas isoladas e a urina de 24h.
- Segunda etapa (Etapa 2): estabelecimento de intervalo de referência para os íons sódio, cloreto e potássio em amostras urinárias isoladas (mEq/g creatinina).

### 3.3 ETAPA 1

Foram recrutados 41 indivíduos para compor a Etapa 1 deste estudo. Os participantes foram submetidos à coleta venosa para dosagem de creatinina, sódio, cloreto, potássio e coletas de urina de 24h, fracionada em seis intervalos de tempo, para dosagem dos mesmos mensurados.

Os participantes receberam orientações verbais e escritas, por meio de um formulário com informações a respeito do procedimento correto de coleta das amostras urinárias e séricas

(Anexo F).

Às seis horas da manhã, o participante deveria desprezar toda a urina armazenada na bexiga, no vaso sanitário. A partir daí, deveria colher as amostras urinárias subsequentes, a cada três horas, em recipientes distintos, conforme horários pré-estabelecidos:

Manhã: 6h às 9h –	amostra A
Manhã: 9h às 12h –	amostra B
Tarde: 12h às 15h –	amostra C
Tarde: 15h às 18h –	amostra D
Noite: 18h às 21h –	amostra E
Noite: 21h às 06h –	amostra F

As amostras de urina de 24h foram consideradas adequadas, se atendessem simultaneamente a três critérios:

- Tempo de coleta informado pelo voluntário restrito a 24 horas  $\pm$  30 minutos;
- Volume coletado igual ou superior a 500 mL;
- Relato verbal do voluntário com informações sobre a adequação da coleta.

O material entregue foi identificado e os volumes urinários aferidos em provetas graduadas com capacidade para 1000 mL. Após homogeneização por inversão de cinco vezes, foram separadas alíquotas (20 mL) para a determinação do sódio, cloreto, potássio e creatinina, realizadas no mesmo dia da coleta. As amostras urinárias fracionadas foram agrupadas para formarem a urina de 24h, que também foram separadas alíquotas.

A escolha dos horários para as coletas de urinas isoladas foi arbitrária, tentando conciliar o período de 24h, especialmente o repouso noturno, e a facilidade em se obter a amostra num período de até três horas.

A influência do jejum alimentar foi avaliada nas amostras colhidas no período de 6h às 9h, correspondendo essa amostra à segunda urina da manhã.

O índice de massa corporal foi calculado a partir do peso e altura autorreferidos. Foi utilizada a fórmula  $IMC = \text{peso (Kg)} / \text{altura(m)}^2$ .

### **3.4 ETAPA 2**

A Etapa 2 do projeto contou com a participação de 99 indivíduos, incluindo os participantes da etapa anterior. Foram realizadas dosagens de sódio, cloreto, potássio e creatinina nas urinas isoladas (horários definidos na Etapa 1), bem como no sangue venoso de todos os indivíduos recrutados. Os participantes receberam orientações verbais e escritas, por meio de um formulário com informações a respeito do procedimento de coleta das amostras urinárias e séricas (Anexo G).

Para amostras séricas, cerca de 10 mL de sangue foram obtidos por punção venosa, utilizando sistema de tubo a vácuo com gel separador (Z serum Sep C/A 50, VACUETTE® Greiner Bio-One, Americana, SP, Brasil). Após aguardar 30 minutos para a formação do coágulo, as amostras foram centrifugadas a 1.600 g (força centrífuga relativa) por minuto por 10 minutos para realização de dosagens de sódio, cloreto, potássio e creatinina.

As urinas isoladas obtidas na Etapa 2 foram homogeneizadas por inversão de cinco vezes e separadas alíquotas (20 mL) para determinação laboratorial do sódio, cloreto, potássio e creatinina, realizados no mesmo dia da coleta.

As amostras séricas e urinárias foram mantidas sob refrigeração entre 2° e 8°C do momento da coleta até a execução dos exames laboratoriais.

### **3.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO EMPREGADOS**

Foram incluídos indivíduos adultos, provenientes da região metropolitana de Belo Horizonte com idade entre 20 e 60 anos, de ambos os sexos, sem distinção de raça, com dieta, ingestão hídrica e atividade física habituais, que se autodeclararam saudáveis.

Foram excluídos do estudo:

- Gestantes; trabalhadores braçais e indivíduos que praticaram exercícios físicos intensos.
- Indivíduos que relataram estar em uso de medicamentos que interfiram com o equilíbrio-hidroeletrolítico.

- Indivíduos que se autodeclararam ser portadores de comorbidades tais como hipertensão arterial sistêmica, diabetes melito, insuficiência renal, síndrome nefrótica, hiperaldosteronismo, doença tubulointersticial, síndrome de Bartter, síndrome da secreção inapropriada do hormônio antidiurético, doença de Addison, acidose tubular renal, alcalose metabólica e acidose metabólica.
- Indivíduos que tenham relatado desidratação ou vômitos nos sete anteriores ao exame.
- Indivíduos com taxa de filtração glomerular estimada (TFGe) pela equação desenvolvida no estudo *Modification of Diet in Renal Disease* - MDRD inferior a 60 mL/min (STEVENS *et al.*, 2006).
- Indivíduos que colheram amostras urinárias em desacordo com os horários pré-estabelecidos.
- Mulheres menstruadas ou em uso de medicações/cremes vaginais.

### 3.5 DOSAGENS LABORATORIAIS

Nas amostras urinárias de 24h, foram determinadas as quantidades de sódio, cloreto e potássio excretados em mEq/24h. Nas amostras urinárias isoladas, foram determinadas as razões sódio/creatinina (mEq/g creatinina), cloreto/creatinina (mEq/g creatinina) e potássio/creatinina (mEq/g creatinina).

A construção dos intervalos de referência foi realizada segundo protocolo sugerido pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008).

As dosagens séricas e urinárias foram realizadas no Núcleo Técnico Operacional do Instituto Hermes Pardini, em Vespasiano, Minas Gerais, Brasil.

A creatinina foi dosada no equipamento Modular P800<sup>®</sup> (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha) pelo método de Jaffé modificado. Trata-se de um ensaio colorimétrico cinético com formação do complexo creatinina-ácido pícrico. A dosagem desse mensurado foi realizada para o cálculo da Taxa de Filtração Glomerular estimada (TFGe) pela equação MDRD (STEVENS *et al.*, 2006).

O sódio, o cloreto e o potássio foram medidos diretamente por Eletrodo Íon-Seletivo (ISE, do inglês *Ion-Selective Electrode*) no Modular P800<sup>®</sup> (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha). O eletrodo íon seletivo é um sensor que converte a atividade de um íon em solução em um potencial elétrico, que pode ser medido em um voltímetro (KIRSZTAJN, 2010). As especificações analíticas dos mensurados laboratoriais encontram-se disponíveis nos quadros 1 e 2.

**Quadro 1:** Especificações analíticas dos íons sódio, potássio, cloreto e creatinina urinários realizados no equipamento Modular P800<sup>®</sup> (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha).

	SÓDIO	CLORETO	POTÁSSIO	CREATININA
INTERVALO DE MEDIÇÃO	10-250 mEq/L	10-250 mEq/L	1-100 mEq/L	4-650 mg/dL
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO INTERENSAIO	< 2,2%	< 2,5%	< 1,4%	< 3,4%

**Quadro 2:** Especificações analíticas dos íons sódio, potássio, cloreto e creatinina séricos realizados no equipamento Modular P800<sup>®</sup> (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha).

	SÓDIO	CLORETO	POTÁSSIO	CREATININA
INTERVALO DE MEDIÇÃO	80-180 mEq/L	60-140 mEq/L	1,5-10,0 mEq/L	0,2-25 mg/dL
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO INTERENSAIO	< 1,0%	< 1,7%	< 2,9%	< 3,3%

Os resultados foram validados após análise dos controles internos de qualidade, sendo utilizado *Lyphochek Quantitative Urine Control* (Bio-Rad) para amostras urinárias e *Lyphochek Unassayed Chemistry* (Bio-Rad) para amostras séricas. O Instituto Hermes Pardini participa mensalmente de programa de proficiência PELM (Proficiência em Ensaios Laboratoriais), da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica. Possui certificação ISO 9001:2008, acreditação PALC/SBPC (Sociedade Brasileira de Patologia Clínica) e DICQ/SBAC (Sociedade Brasileira de Análises Clínicas).

Todo o descarte das amostras biológicas foi realizado conforme as normas internas de biossegurança definidas pelo laboratório de análises clínicas.

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O cálculo amostral para composição da Etapa 1 foi realizado utilizando-se o trabalho de Mann & Gerber (2010), que encontraram uma correlação de *Pearson* de 0,67 entre a amostra de urina isolada para dosagem de sódio colhida no período da tarde e a urina de 24h. No presente estudo, foi especificado um alfa (erro tipo I) de 0,05 e um beta (erro tipo II) de 0,01, estabelecendo-se um número mínimo de 32 indivíduos para avaliação das correlações urinárias.

A distribuição gaussiana foi avaliada pelo Teste *Kolmogorov-Smirnov*. Diante da necessidade de normalização da distribuição dos dados foi utilizada transformação de Box-Cox (Anexo I).

Os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio-padrão para variáveis contínuas com distribuição normal. Os dados com distribuição não gaussiana foram expressos em mediana e intervalo interquartil.

A correlação de *Spearman* foi utilizada para o estudo das correlações entre as amostras de urinas isoladas e de 24h.

Os intervalos de referência para os íons sódio, cloreto e potássio em urinas isoladas foram estabelecidos segundo protocolo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008). Foi utilizado método computacional para amostras inferiores a 120 indivíduos, denominado método robusto. O método robusto realiza um ajuste central dos dados permitindo que desta forma o resultado final sofra menos influência dos valores extremos. A necessidade de estratificação dos dados entre os gêneros masculino e feminino foi realizada pelo teste Z, conforme proposto por Harris e Boyd (CLSI, 2008). A presença de *outliers*, isto é, a presença de indivíduos com resultados muito discrepantes em relação aos demais componentes do grupo foi avaliada pelo teste proposto por Dixon/Reed e pelo teste de Tukey.

O nível de significância estatística adotado foi de 5% ( $p < 0,05$ ) e intervalo de confiança de 95%. Para análise estatística dos dados, foi utilizado o programa *MedCalc for Windows*<sup>®</sup>, (*Oldsten, Bélgica*) versão 13.3.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 CARACTERÍSTICAS DAS AMOSTRAS E DOS PARTICIPANTES

As coletas das urinas de 24h foram realizadas principalmente aos domingos (37,5%), terças-feiras (22,5%), quintas-feiras (20%) e quartas-feiras (17,5%). Aqueles indivíduos que optaram pela coleta da urina no domingo foram orientados a manterem o hábito alimentar semelhante àquele realizado durante a semana.

Dos 41 indivíduos que fizeram parte da etapa 1, quatro demandaram recoleta da urina de 24 horas. Dois indivíduos haviam colhido a urina em período inferior a 24 horas (19h e 22h) e os outros dois colheram as amostras em desacordo com os horários pré-estabelecidos. Apenas um indivíduo teve sua amostra de urina de 24h rejeitada por perda de volume urinário. A média e o intervalo interquartil da diurese de 24h (mL/24h) dos 40 participantes da Etapa 1 foi 1676,4(1127,0 - 1895,0).

As características dos indivíduos participantes deste estudo encontram-se disponíveis na tabela 1.

**Tabela 1:** Dados demográficos dos participantes da Etapa 1 e Etapa 2.

PARÂMETROS		PARTICIPANTES DA ETAPA 1	PARTICIPANTES DA ETAPA 2
Amostra (n)		40	99
Idade (anos)		33 <sup>§</sup> ± 8,9 <sup>†</sup>	33 <sup>§</sup> (25-42)
Gênero (%)	Feminino n	29 (73%)	62 (63%)
	Masculino n	11 (27%)	37 (37%)
IMC *		24±5 <sup>†</sup>	25±4 <sup>†</sup>

<sup>†</sup>Média (desvio padrão)

<sup>§</sup>Mediana (intervalo interquartil)

\* Índice de Massa Corpórea (IMC)

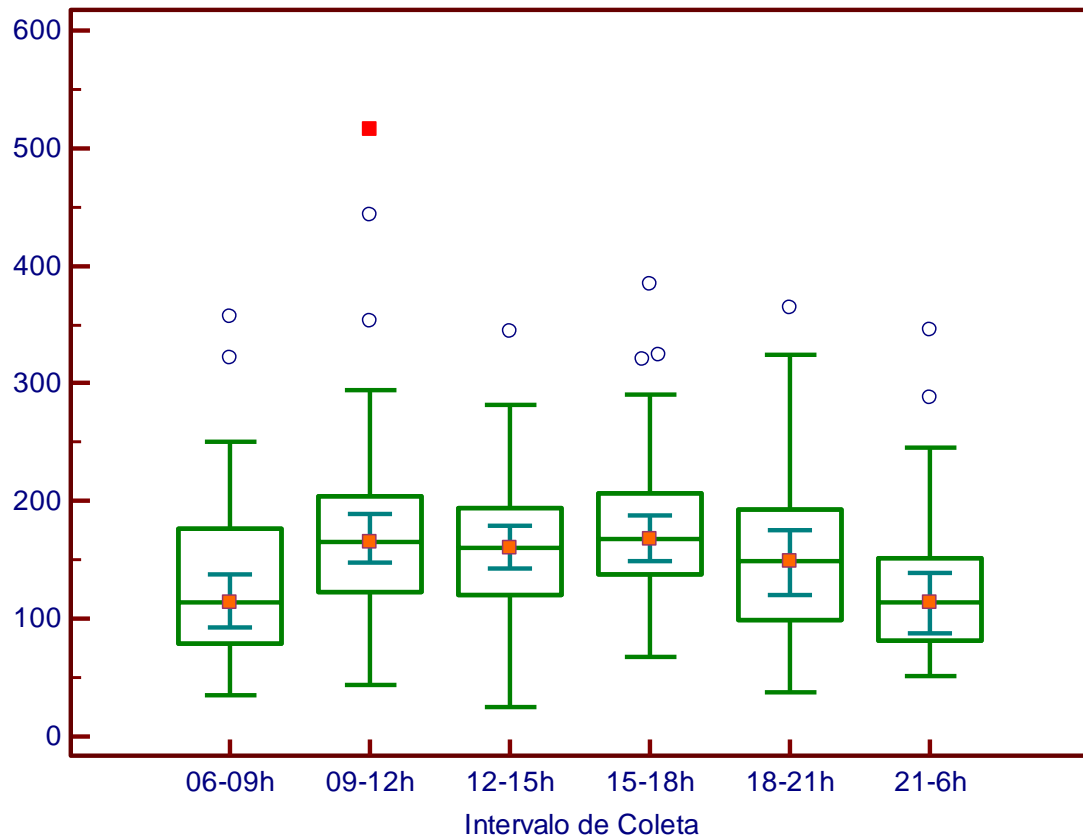
Todos os indivíduos apresentaram taxa de filtração glomerular estimada superior a 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

As determinações laboratoriais do sódio, cloreto, potássio e creatinina séricos apresentaram resultados dentro de seus respectivos intervalos de referência. A média da concentração sérica de sódio foi de 140 ± 2,0 mEq/L, para o cloreto foi de 101 ± 2,5 mEq/L, para o potássio 4,2 ± 0,3 mEq/L e para creatinina foi de 0,88 ± 0,2 mg/dL.

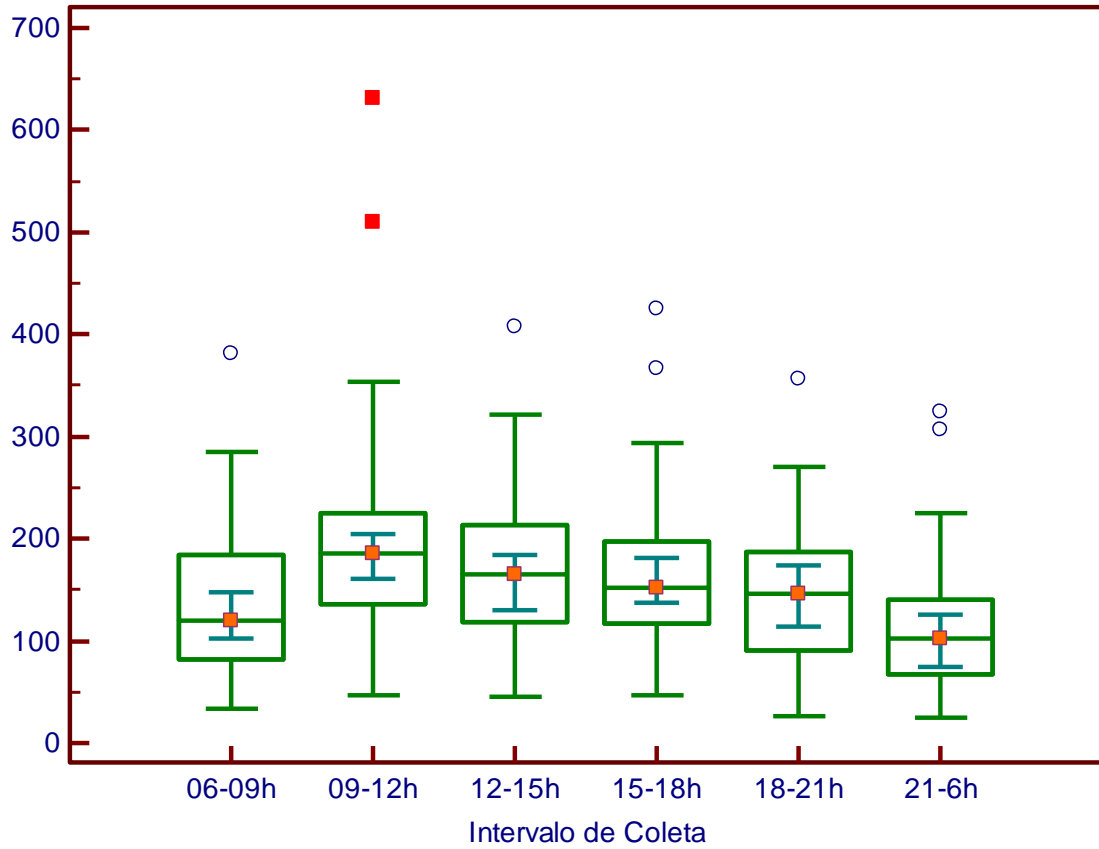
## 4.2 DETERMINAÇÃO DO PERFIL CIRCADIANO DE EXCREÇÃO URINÁRIA DE Na, Cl E K

A determinação da variação circadiana dos eletrólitos urinários foi verificada nas amostras isoladas. As representações gráficas das medianas e dos intervalos interquartis das dosagens urinárias (soluto/creatinina) estão demonstradas nas figuras 1 (Na), 2 (Cl) e 3 (K).

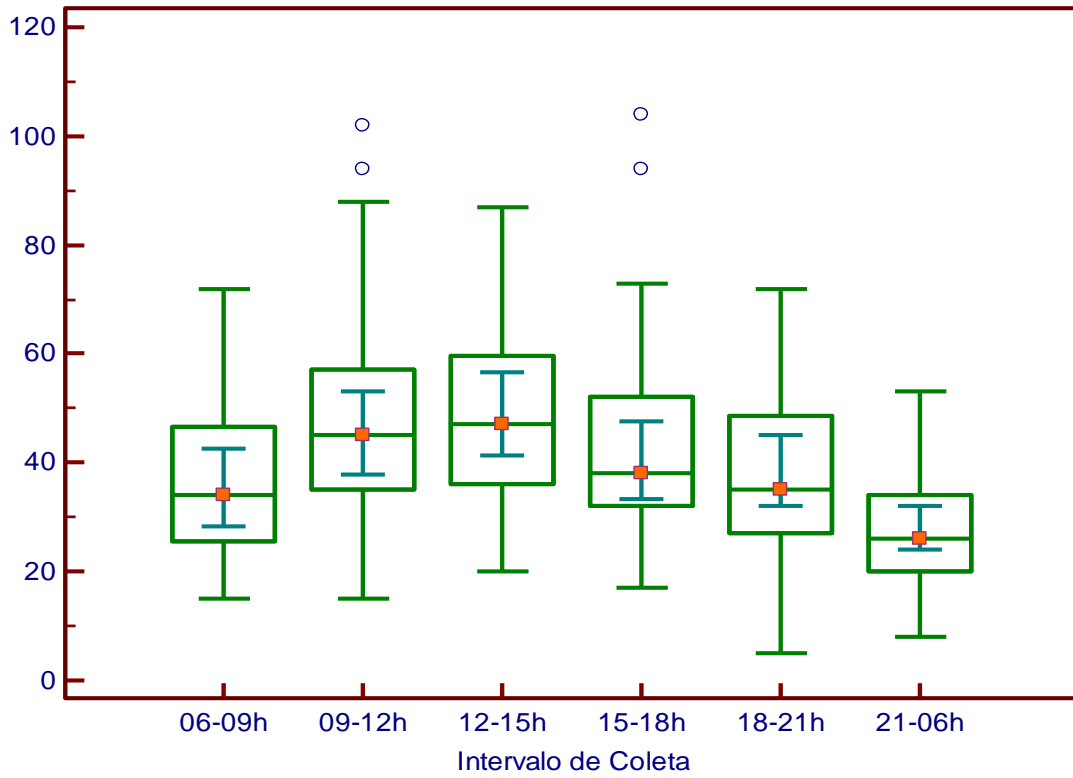
Os três íons apresentaram perfis semelhantes de excreção, com os valores mais baixos situando-se no período noturno e no primeiro intervalo da manhã.



**Figura 1:** Excreção do íon sódio (mEq/g creatinina) ao longo de 24h (n=40). Dados apresentados como box plots, onde os boxes representam os percentis de 25 a 75, a linha horizontal dentro de cada box representa a mediana e as linhas verticais representam o título mínimo e o máximo. Os círculos representam *outliers* e o quadrado indica *far outlier*.



**Figura 2:** Excreção do íon cloreto (mEq/g creatinina) ao longo de 24h (n=40). Dados apresentados como box plots, onde os boxes representam os percentis de 25 a 75, a linha horizontal dentro de cada box representa a mediana e as linhas verticais representam o título mínimo e o máximo. Os círculos representam *outliers* e os quadrados indicam *far outliers*.



**Figura 3:** Excreção do íon potássio (mEq/g creatinina) ao longo de 24h (n=40). Dados apresentados como box plots, onde os boxes representam os percentis de 25 a 75, a linha horizontal dentro de cada box representa a mediana e as linhas verticais representam o título mínimo e o máximo. Os círculos representam *outliers*.

### 4.3 CORRELAÇÕES ENTRE AMOSTRAS URINÁRIAS ISOLADAS E AMOSTRAS DE 24H

As correlações entre a urina de 24 horas e as urinas isoladas podem ser observadas na tabela 2. Para os íons sódio e cloreto foram observadas correlações positivas e significativas entre todas as amostras urinárias avaliadas. Já para o potássio, as correlações não demonstraram significância estatística para as amostras colhidas nos intervalos entre 6h e 9h e entre 9h e 12h.

**Tabela 2:** Correlações ( $r_s$ ) entre as excreções de sódio, cloreto e potássio em urina de 24h e em urinas isoladas (n=40).

URINAS ISOLADAS	SODIO ( $r_s$ )*	CLORETO ( $r_s$ )*	POTASSIO ( $r_s$ )*
6h às 9h	0,570 (p<0,001)	0,533 (p<0,001)	0,187 (p=0,247)
9h às 12h	0,479 (p<0,002)	0,469 (p=0,002)	0,255 (p=0,113)
12h às 15h	0,542 (p<0,001)	0,525 (p<0,001)	0,428 (p=0,006)
15h às 18h	0,595 (p<0,001)	0,645 (p<0,001)	0,433 (p=0,005)
18h às 21h	0,558 (p<0,001)	0,596 (p<0,001)	0,573 (p<0,001)
21h às 6 h	0,484 (p<0,002)	0,554 (p<0,001)	0,450 (p=0,004)

\* Coeficiente de correlação de *Spearman* ( $r_s$ )

Em uma análise *post hoc*, avaliou-se a influência do jejum alimentar nas amostras urinárias colhidas entre 6h e 9h por meio de correlações com a urina de 24h, conforme descrito na tabela 3.

**Tabela 3:** Correlações ( $r_s$ ) entre a excreção de sódio e cloreto na urina de 24h e em amostras isoladas colhidas entre 6h e 9h, na presença e na ausência de jejum alimentar.

HORÁRIO DA COLETA	SODIO ( $r_s$ )*	CLORETO ( $r_s$ )*
6h às 9h com jejum alimentar (n=28)	0,350 (p=0,068)	0,128 (p=0,517)
6h às 9h sem jejum alimentar (n=21)	0,552 (p=0,009)	0,583 (p=0,006)

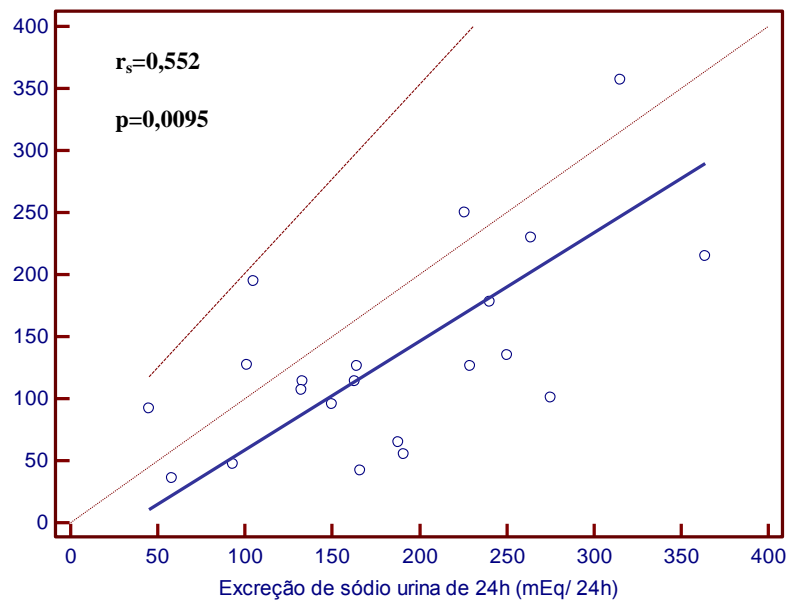
\* Coeficiente de correlação de *Spearman* ( $r_s$ )

Foram então selecionados os horários compreendidos entre 6h e 9h (ausência de jejum alimentar) para estabelecimento dos intervalos de referência para sódio e cloreto e o horário entre 18h e 21h para o intervalo do potássio, além de novamente sódio e cloreto.

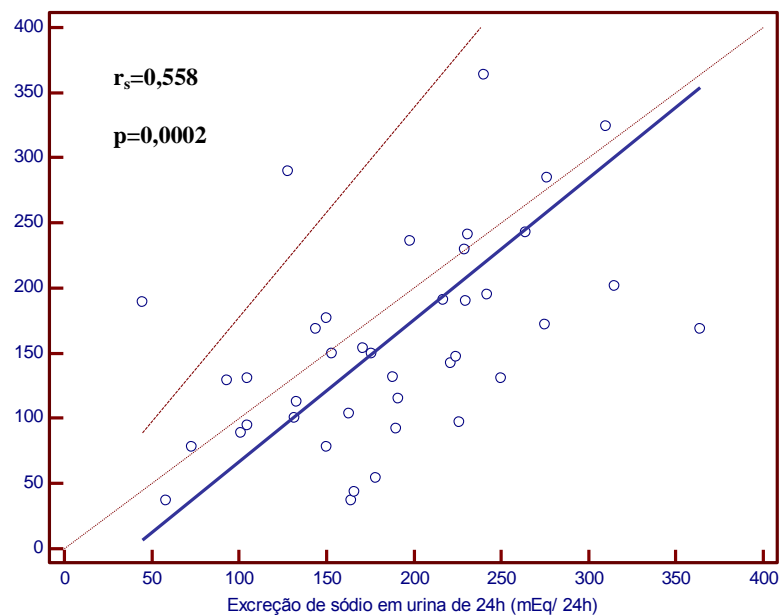
Não foram observadas diferenças estatísticas entre as correlações obtidas com as amostras isoladas colhidas entre 6h e 9h, na ausência do jejum alimentar, e os demais horários avaliados, tanto para a excreção de sódio, quanto para a excreção de cloreto.

Na avaliação da excreção de potássio também não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as correlações realizadas com a amostra isolada obtida entre 18h e 21h e as demais amostras urinárias.

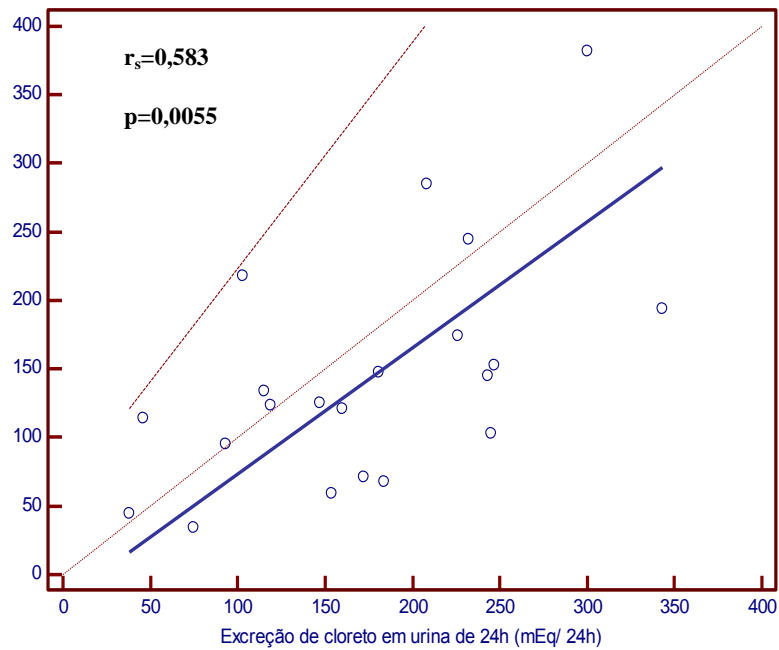
As figuras 4, 5, 6 e 7 demonstram as correlações entre as excreções urinárias de sódio e cloreto na urina de 24h e nas amostras isoladas colhidas entre 6h e 9h e entre 18h e 21h. A figura 8 refere-se à correlação entre a urina isolada colhida entre 18h e 21h e a urina de 24h na avaliação da excreção de potássio.



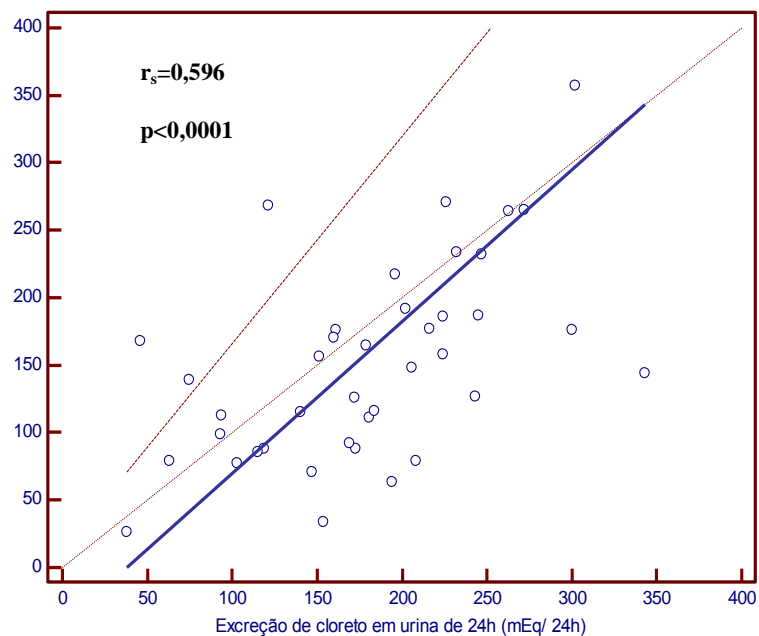
**Figura 4:** Gráfico de dispersão da excreção de sódio na urina de 24h (mEq/24h) e na urina isolada (mEq/g creatinina), colhida entre 6h e 9h, na ausência do jejum alimentar, em 21 indivíduos. As linhas tracejadas laterais representam os intervalos de confiança da predição da reta de regressão (Passing & Bablok).



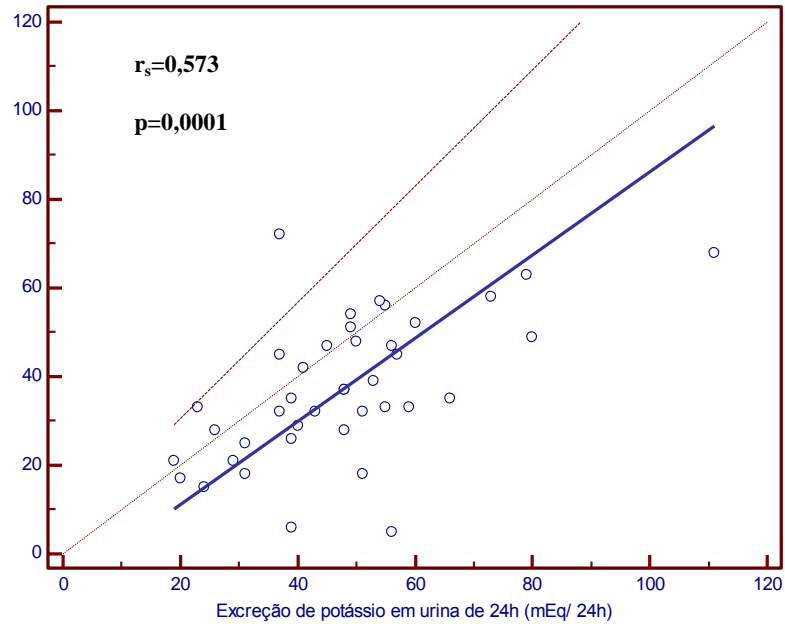
**Figura 5:** Gráfico de dispersão da excreção de sódio na urina de 24h (mEq/24h) e na urina isolada (mEq/g creatinina), colhida entre 18h e 21h, em 40 indivíduos. As linhas tracejadas laterais representam os intervalos de confiança da predição da reta de regressão (Passing & Bablok).



**Figura 6:** Gráfico de dispersão da excreção de cloreto na urina de 24h (mEq/24h) e na urina isolada (mEq/g creatinina), colhida entre 6h e 9h, na ausência do jejum alimentar em 21 indivíduos. As linhas tracejadas laterais representam os intervalos de confiança da predição da reta de regressão (Passing & Bablok).



**Figura 7:** Gráfico de dispersão da excreção de cloreto na urina de 24h (mEq/24h) e na urina isolada (mEq/g creatinina), colhida entre 18h e 21h, em 40 indivíduos. As linhas tracejadas laterais representam os intervalos de confiança da predição da reta de regressão (Passing & Bablok).



**Figura 8:** Gráfico de dispersão da excreção de potássio na urina de 24h (mEq/24h) e na urina isolada (mEq/g creatinina), colhida entre 18h e 21h, em 40 indivíduos. As linhas tracejadas laterais representam os intervalos de confiança da previsão da reta de regressão (Passing & Bablok).

#### 4.4 GERAÇÃO DOS INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Os intervalos de referência das razões sódio/creatinina (mEq/g), potássio/creatinina (mEq/g) e cloreto/creatinina (mEq/g) foram estabelecidos para o ensaio Roche Diagnostics<sup>®</sup>, segundo as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008).

Para os dados que não apresentaram a distribuição gaussiana foi utilizada transformação Box-cox.

Não foram observados *outliers* pela regra de Dixon, para os íons avaliados, embora pela regra de Tukey tenham sido detectados *outliers* para o sódio (três) e cloreto (dois) nas amostras avaliadas. Os *outliers* detectados não foram excluídos na análise final do trabalho, em função do estabelecimento de critérios de inclusão bem definidos para indivíduos selecionados, sendo assim, há a premissa que a população avaliada é composta por indivíduos eminentemente saudáveis.

O teste Z realizado para todos os analitos pesquisados demonstrou a possibilidade de relato de um único intervalo de referência para o gênero masculino e feminino. Tais intervalos podem ser demonstrados na tabela 5.

**Tabela 4:** Intervalos de referência para Na/Cr, Cl/Cr e K/Cr em amostras urinárias isoladas (mEq/g creatinina) - Modular P800® (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha).

ÍONS	HORÁRIO DA COLETA	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
<b>Sódio<sup>a</sup></b>	6 às 9h <sup>b</sup>	<b>29</b> (90%IC 22,7 - 35,8)	<b>268</b> (90%IC 234,5 - 301,6)
	18 às 21h <sup>c</sup>	<b>40</b> (90%IC 33,4 - 47,2)	<b>325</b> (90%IC 286,8 - 365,4)
<b>Cloreto<sup>a</sup></b>	6 às 9h <sup>b</sup>	<b>27</b> (90%IC 20,3 - 36,4)	<b>291</b> (90%IC 258,8 - 324,3)
	18 às 21h <sup>c</sup>	<b>30</b> (90%IC 23,1 - 38,4)	<b>307</b> (90%IC 271,8 - 341,9)
<b>Potássio<sup>a</sup></b>	18 às 21h <sup>c</sup>	<b>12</b> (90%IC 10,6 - 14,1)	<b>81</b> (90%IC 70,5 - 92,4)

**Transformação Box-Cox<sup>a</sup>**

**Outliers:** Na (6 às 9): 3 outliers; Cl (6 às 9): 2 outliers;

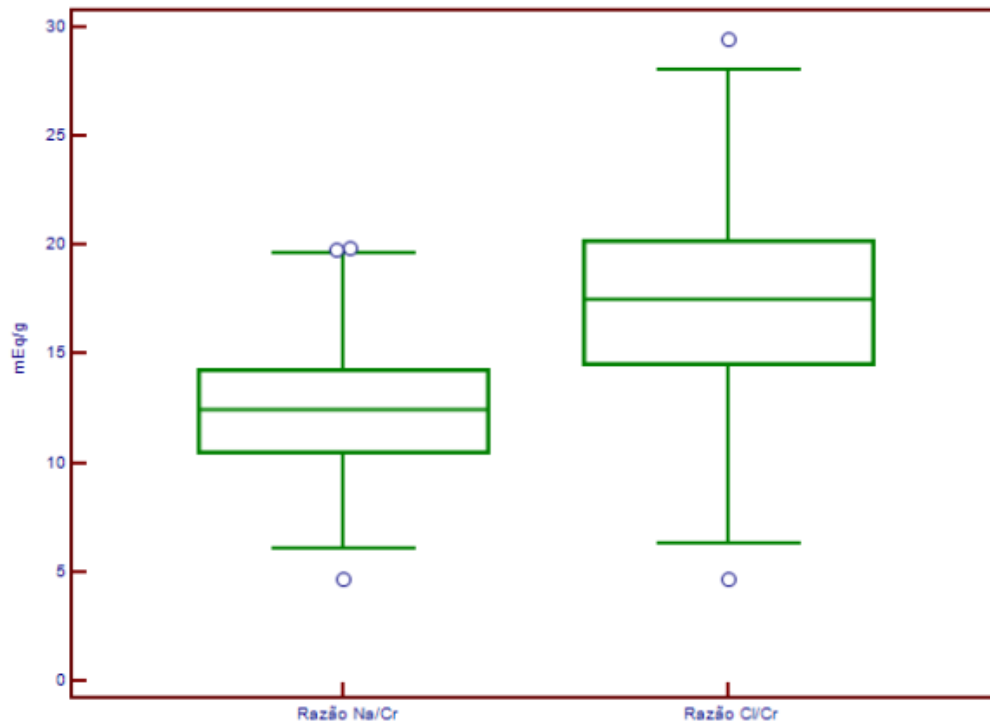
Na (18 às 21); Cl (18 às 21); K (18 às 21): ausência de outliers.

**b:** 99 indivíduos

**c:** 97 indivíduos

**Fator de conversão** 1mEq/g creatinina=11,3 mol/mol

A figura 9 demonstra a presença de três *outliers* para o sódio e dois para o cloreto na urina isolada colhida entre 6h e 9h. Observa-se que esses *outliers* não ficaram muito distantes dos demais resultados.



**Figura 9:** Distribuição dos dados obtidos na excreção dos íons sódio (mEq/g creatinina), e cloreto (mEq/g creatinina), em amostras isoladas colhidas entre 6h e 9h, após a transformação Box-cox. Dados apresentados como box plots, onde os boxes representam os percentis de 25 a 75, a linha horizontal dentro de cada box representa a mediana e as linhas verticais representam o título mínimo e o máximo dos dados transformados. Os círculos representam *outliers*.

## 5 DISCUSSÃO

A dificuldade na obtenção de coletas adequadas de urina de 24h, tanto nas faixas etárias em que os indivíduos possuem rotinas diárias bem estabelecidas assim como na população pediátrica e geriátrica, tem motivado vários pesquisadores a substituir a coleta da urina de 24h pela urina isolada na avaliação de vários mensurados laboratoriais (PENIDO *et al.*, 2002; SAFARINEJAD, 2003; PRICE; NEWALL; BOYD, 2005; ILICH *et al.*, 2009; MCLEAN, 2014; EROL *et al.*, 2009; HONG *et al.*, 2010; MILL *et al.*, 2012). A complexidade nas determinações realizadas na urina de 24h deve-se principalmente ao desconhecimento da precisão do volume excretado pelo indivíduo durante esse período. Isso tem levado ao aumento da solicitação de exames em amostras isoladas, de forma pouco padronizada. Em breve pesquisa realizada com dez nefrologistas do Hospital das Clínicas/UFMG (dados não publicados) verificou-se que as dosagens urinárias de sódio, cloreto e potássio são solicitadas tanto na urina de 24h quanto na urina isolada (Anexo H), sendo que para as solicitações de urina isolada, grande parte dos especialistas (60%) orientam os pacientes a coletar a amostra no período matutino, na presença de jejum alimentar.

O índice de inadequação de coleta de urinas de 24h obtido no presente estudo foi de aproximadamente 10%. Essas inadequações foram causadas por perda de volume urinário e urinas colhidas durante períodos inferiores a 24 horas (19h e 22h). Mill *et al.* (2012) avaliaram as correlações entre a excreção de sódio e de potássio em urinas de 12h e de 24h, e relataram a necessidade de recoleta de aproximadamente 6% das amostras de urinas de 24h, enquanto Hooft Van Huysduynen *et al.*, (2014) relataram a rejeição de 14% de amostras colhidas inadequadamente. Alguns trabalhos relacionam as inadequações das coletas de urina de 24h com o perfil socioeconômico dos indivíduos e com a falta de clareza das instruções de coleta (MURAKAMI *et al.*, 2008). No presente trabalho não atribuímos as inadequações encontradas às variáveis mencionadas pelos autores uma vez que os indivíduos recrutados faziam parte do convívio dos pesquisadores e foram adequadamente orientados verbalmente e por escrito. Esses achados corroboram a necessidade da utilização de amostras alternativas à urina de 24h para dosagens laboratoriais, uma vez que os resultados são muitas vezes comprometidos por erros de coleta.

A partir das coletas urinárias realizadas a cada três horas, ao longo de 24h foi possível a avaliação do ritmo circadiano das relações Na/Cr; Cl/Cr e K/Cr. Foram observados picos de excreção de sódio e de cloreto no final da manhã e uma queda à noite. Para o potássio a maior excreção foi observada à tarde e com diminuição no início da manhã.

Nossos resultados foram semelhantes a estudos anteriores, com menores concentrações de sódio e cloreto obtidas no período noturno e maiores concentrações no final da manhã e no final da tarde. Para o potássio as maiores concentrações são observadas no período da tarde (MINN *et al.*, 1966; KUNITTA *et al.*, 1976; KAWASAKI *et al.*, 1979; TANAKA *et al.*, 2002; COGSWELL *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2013).

Alguns autores têm relatado correlações razoáveis entre a urina isolada (razão soluto/creatinina) e a urina de 24h na avaliação da excreção de eletrólitos, contudo ainda não há um consenso sobre o período do dia mais adequado para a realização da coleta de urina recente (KAWASAKI *et al.*, 1993; TANAKA *et al.*, 2002; MOLINA *et al.*, 2010). Considerando que a excreção urinária de sódio, cloreto e potássio sofrem influência de um ritmo circadiano ligado a variações hormonais e da dieta alimentar, faz-se necessário a padronização de variáveis pré-analíticas como horário de coleta das amostras urinárias assim como a necessidade ou não do jejum alimentar.

Em 2009, Ilich *et al.*, compararam as concentrações dos elementos cálcio, magnésio, sódio, potássio e zinco excretados na urina de 24h e na primeira urina da manhã (razão soluto/creatinina), após jejum noturno. Os resultados demonstraram correlações estatisticamente significativas para todos os elementos avaliados, sendo obtido  $r=0,4517$  e  $r=0,3964$  para o sódio e potássio respectivamente ( $p<0,001$ ). Contudo, o trabalho foi conduzido apenas com indivíduos do sexo feminino.

Mann & Gerber, (2010), avaliaram a excreção de sódio em urina de 24h e em urinas isoladas (razão sódio/creatinina) de 81 americanos, sendo 74 hipertensos. A idade média dos participantes foi 59 anos. Os indivíduos colheram urina isolada no período da manhã (segunda urina do dia), no período vespertino (final da tarde/início da noite) e uma amostra aleatória (colhida no momento da entrega da urina de 24h). A excreção de sódio determinada na urina de 24h apresentou melhor correlação com a urina isolada colhida no período vespertino ( $r=0,67$ ,  $p=0,001$ ), não sendo observada significância estatística para a urina isolada colhida

no período da manhã ( $r=0,14$ ,  $p=0,42$ ) e para amostra aleatória ( $r=-0,01$ ,  $p=0,97$ ). No presente trabalho observamos correlação entre a excreção de sódio na urina de 24h e a urina recente colhida entre 18h e 21h ( $r_s=0,558$ ,  $p=0,0002$ ). Por outro lado, não foi observada significância estatística para a urina isolada colhida no período da manhã, bem como na amostra colhida entre 6h e 9h na ausência do jejum alimentar ( $r_s=0,552$ ,  $p=0,0095$ ). Deve-se ressaltar que Mann & Gerber, (2010), não avaliaram o impacto do jejum alimentar na coleta dessa amostra, sendo uma possível causa da divergência entre os resultados obtidos pelos autores e o presente estudo quanto às correlações entre a urina 24h e a segunda urina da manhã. Embora seja objeto de discussão na literatura, existem achados que relatam uma maior excreção de sódio no período noturno em indivíduos hipertensos quando comparado com indivíduos normotensos (SACHDEVA & WEDER, 2006), contudo ainda são necessários estudos para avaliação do impacto destas excreções nas correlações entre urina de 24h e urina isolada em indivíduos hipertensos.

Em 2010, Hong *et al.* não encontraram correlação entre a excreção de sódio determinada na urina de 24h e a razão Na/Cr, realizada na urina colhida no início da manhã. Já a excreção de potássio nessa mesma amostra, demonstrou correlação com a excreção desse íon na urina de 24h ( $r=0,399$ ,  $p<0,015$ ). Os autores não avaliaram o impacto do jejum alimentar na análise de correlação entre as amostras urinárias.

Em 2012, Mill *et al.*, avaliaram a correlação entre a excreção de sódio e potássio na urina de 12h (período noturno) e na urina de 24h. Participaram deste estudo 109 indivíduos com idade entre 30 e 74 anos, provenientes de uma coorte brasileira (ELSA-Brasil). Os resultados demonstraram satisfatórias correlações entre o sódio e potássio excretados em 24h com as excreções de 12h:  $r_s=0,76$  ( $p<0,001$ ) e  $r_s=0,74$  ( $p<0,001$ ), respectivamente. O estudo também reportou uma excreção noturna de sódio correspondente a aproximadamente 47% da excreção de 24h e cerca de 39% para o potássio.

Em um trabalho recente, Hoofst Van Huysduynen *et al.*, (2014) avaliaram as excreções de sódio e potássio realizados na urina de 24h e na urina isolada, por meio de análises de correlações. O horário de coleta da amostra isolada não foi pré-definido pelos pesquisadores, embora houvesse a restrição quanto à opção pela primeira urina da manhã, pois de acordo com os autores essa amostra reflete concentrações menores de sódio e de potássio excretados no período noturno. Participaram do estudo 147 mulheres holandesas com idade

entre 19 e 26 anos. Os indivíduos, em sua maioria (70%) optaram pela coleta da urina recente no período da tarde (12h e 18h), sendo registradas correlações de 0,68 para o sódio e 0,57 para o potássio, ambos com  $p < 0,001$ . Contudo, o trabalho apresentou algumas limitações: avaliou apenas mulheres jovens e o momento de coleta da urina recente não foi padronizado, sendo executada em momentos distintos do dia.

Podemos concluir que as análises de correlações entre a excreção dos íons na urina de 24h e nas urinas isoladas apresentados no presente trabalho encontram-se em concordância com os trabalhos de vários autores (KAWASAKI *et al.*, 1993; TANAKA *et al.*, 2002; MANN & GERBER, 2010; HOOFT VAN HUYSDUYNEN *et al.*, 2014). Contudo, a comparação entre os estudos deve ser realizada com cautela, pois em alguns deles, os indivíduos arrolados apresentavam comorbidades como hipertensão arterial e nefrolitíase (MANN & GERBER, 2010; HONG *et al.*, 2010), e as urinas isoladas utilizadas nos estudos foram colhidas em momentos distintos do dia, não levando em conta a possibilidade de padrões de excreção diferentes no período de 24h (KAWASAKI *et al.*, 1993; TANAKA *et al.*, 2002; HONG *et al.*, 2010; MANN & GERBER, 2010; HOOFT VAN HUYSDUYNEN *et al.*, 2014). O impacto da presença ou ausência do jejum alimentar nas amostras colhidas no período matutino não foi avaliado na maioria dos trabalhos citados (ILICH *et al.*, 2009).

A escolha do horário para coleta da amostra urinária para determinação dos valores de referência foi baseada nas correlações obtidas entre a excreção dos íons na urina de 24h e na urina isolada e o horário mais adequado àqueles indivíduos que vão ao laboratório de patologia clínica para coleta e/ou entrega de amostras biológicas. Dessa forma, consideramos a urina colhida entre 6h e 9h, na ausência do jejum alimentar, como a amostra mais adequada para determinação dos intervalos de referência para sódio ( $r_s=0,552$ ,  $p=0,0095$ ) e cloreto ( $r_s=0,583$ ,  $p=0,0055$ ). Enquanto para o potássio a urina colhida entre 18h e 21h ( $r_s=0,573$ ,  $p < 0,001$ ), foi a melhor opção, pois não foi evidenciada correlação estatisticamente significativa para a excreção do potássio na amostra isolada colhida entre 6h e 9h ( $r_s=0,187$ ,  $p=0,2471$ ) e a urina de 24h.

Avaliando a possibilidade de solicitação conjunta das razões Na/Cr, K/Cr e Cl/Cr, também foram definidos intervalos de referência para o sódio e cloreto em amostras urinárias colhidas entre 18h e 21h. Na rotina laboratorial, a escolha de coleta nesse horário pressupõe a

necessidade de esvaziamento vesical às 18h aproximadamente, para que a amostra urinária obtida seja realmente correspondente à excreção dos íons no horário pré-definido.

Vale ressaltar que nesse estudo a ausência do jejum alimentar na urina isolada colhida entre 6h e 9h comportou-se como fator determinante, pois em análise posterior à coleta dos dados, quando o jejum alimentar foi mantido, as correlações deixaram de ser significativas. Em contrapartida, quando o jejum alimentar foi abolido as correlações entre a urina isolada colhida pela manhã e a urina de 24h foram preservadas, tanto para a excreção do sódio quanto para a do cloreto. Raros foram os autores que avaliaram conjuntamente a presença e ausência do jejum alimentar como interferente nas coletas isoladas de urina (PENIDO *et al.*, 2002). Provavelmente a ausência de correlação entre a urina de 24h e a urina recente colhida na presença de jejum alimentar, deve-se à menor excreção do íon no período noturno, refletindo assim, baixas concentrações na urina recente. Após o desjejum, as concentrações de sódio na segunda urina da manhã, já permitem que essa amostra se correlacione com a urina de 24h.

A partir dos resultados obtidos nas análises de correlações entre as amostras urinárias foram estabelecidos os intervalos de referência com 95% de confiança (bicaudal) para as relações Na/Cr; Cl/Cr e K/Cr. Observamos a presença de cinco *outliers* (apenas pela regra de *Tukey*) durante a construção desses intervalos. Esses resultados foram mantidos na análise estatística, pois os indivíduos incluídos para esse estudo foram bem selecionados a partir de um questionário com informações sobre doenças atuais e pregressas e uso de medicação interferente no metabolismo dos elementos avaliados, sendo assim caracterizados como indivíduos saudáveis.

O teste Z realizado no presente estudo demonstrou não haver necessidade de estratificação dos intervalos de referência com relação ao sexo masculino e feminino, diferentemente do trabalho realizado por Fuentes-Arderiu, *et al* (2005), que realizaram um estudo multicêntrico onde foram avaliados nove laboratórios de diferentes regiões da Espanha. Segundo os autores a diferença na excreção de creatinina entre homens e mulheres levou à segregação dos intervalos de referência estabelecidos. Por outro lado, os autores não fizeram menção sobre a realização do teste de Z, que é o teste sugerido pelo *CLSI* para avaliação da estratificação dos dados. Fuentes-Arderiu, *et al* (2005) utilizaram a primeira urina da manhã para estabelecimento de intervalos de referência para a razão elemento/creatinina de vários componentes urinários (albumina, cálcio, cloreto, magnésio, fosfato, potássio, proteína, sódio,

urato e uréia). Há também publicações recentes utilizando a segunda urina da manhã, fato explicado pela menor excreção de analitos como sódio, potássio e cloreto no período noturno, refletindo assim, uma menor concentração urinária dos solutos na primeira urina matinal (KAWASAKI *et al.*, 1993; MANN, *et al.*, 2005; HOOFT VAN HUYSDUYNEN *et al.*, 2014). Embora Fuentes-Arderiu *et al* (2005), não tenham avaliado a correlação entre a urina de 24 horas e a primeira urina da manhã, os intervalos de referência estabelecidos para o sódio, potássio e cloreto foram semelhantes aos achados desse presente estudo, conforme demonstrado na tabela 5.

**Tabela 5:** Comparação entre os intervalos de referência obtidos no presente estudo e aqueles obtidos por Fuentes-Arderiu *et al.* (2005).

Mensurado	Intervalos de referência – presente estudo (mEq/g creatinina)	Intervalo de referência propostos por Fuentes-Arderiu <i>et al.</i> (2005) (mEq/g creatinina)
Sódio	29 (90%IC 22,7 - 35,8) a	Mulheres (n=208) 42 (90% IC 38,4 a 46,3) a 332 (90% IC 291,5 a 356,0).
	268(90%IC 234,5 - 301,6) n= 99	Homens (n=161) 36 (90% IC 32,8 a 40,7) a 292 (90% IC 258,8 a 327,7).
Cloreto	27(90%IC 20,3 - 36,4) a	Mulheres (n=208) 27 (90% IC 23,7 a 30,5) a 341 (90% IC 300,6 a 387,6).
	291 (90%IC 258,8 - 324,3) n= 99	Homens (n=143) 26 (90% IC 22,6 a 30,5) a 286 (90% IC 247,5 a 330,0).
Potássio	12 (90%IC 10,6 - 14,1) a	Mulheres (n=174) 19 (90% IC 18,1 a 21,5) a 98 (90% IC 89,3 a 108,5).
	81(90%IC 70,5 - 92,4) n= 99	Homens (n=181) 15 (90% IC 13,6 a 15,8) a 95 (90% IC 84,8 a 106,2).

Nosso estudo apresenta limitações. Os intervalos de referência definidos neste presente estudo foram calculados a partir da relação entre os eletrólitos excretados na urina isolada e a creatinina urinária. Diante disso, possuem aplicação limitada em situações em que há aumento ou diminuição da excreção de creatinina como na prática de exercícios físicos intensos, dietas vegetarianas, fisiculturismo, amputações de membros inferiores e/ou superiores e também em caso de suplementação alimentar de creatina. Sendo assim, os intervalos de referência estabelecidos nesse trabalho, devem ser aplicados a indivíduos que possuem valores de creatinina urinária próximos daqueles obtidos neste estudo. Para as coletas realizadas entre 6h e 9h: de 17 a 361 mg/dL e de 13 a 355 mg/dL para coletas realizadas entre 18h e 21h. A informação sobre peso e altura foram autorreferidas, o que pode trazer algum grau de imprecisão no cálculo do índice de massa corpóreo, apesar de acreditarmos que se tal fato ocorreu, não comprometeu os achados desse estudo.

Tendo em vista que a redução do consumo de sódio está associado com a diminuição dos níveis de pressão arterial em indivíduos hipertensos e em normotensos (SARNO *et al*, 2013) e que as fórmulas preditoras não possuem bons desempenhos para avaliações individuais, nossas perspectivas futuras referem-se a condução de estudo para avaliação da razão Na/Cr, na ausência de jejum alimentar como biomarcador urinário para acompanhamento individual da excreção urinária de sódio. Essa avaliação, de forma longitudinal, pode ser particularmente útil em indivíduos submetidos à dieta com restrição alimentar de sódio habitualmente indicada no tratamento da hipertensão arterial. Para essa finalidade, pode ser necessário o conhecimento prévio da variação biológica intraindividual da razão Na/Cr, bem como a correlação dessa razão com o sódio em urina de 24h nos pacientes em dieta restritiva.

## 6 CONCLUSÕES

- Os eletrólitos pesquisados possuem um ritmo circadiano definido com picos de excreção de sódio, potássio e cloreto no período diurno, seguidos por uma diminuição da excreção no período noturno.
- As correlações entre as excreções de sódio, potássio e cloreto realizadas na urina de 24h e urina isolada sofrem influência de dieta alimentar juntamente com o ritmo circadiano dos íons. A escolha da segunda urina da manhã para estabelecimento de intervalos de referência para Na/Cr e Cl/Cr, pressupõe a ausência de jejum alimentar, não sendo necessário para os demais horários ao longo do dia, pois já existe uma rotina alimentar bem estabelecida. Já a escolha da urina colhida entre 18h e 21h preconiza o esvaziamento vesical à 18h, para que a urina colhida neste horário possa refletir exatamente a urina formada nos túbulos renais e não aquela acumulada na bexiga.
- Os intervalos de referência estabelecidos no presente estudo aplicam-se à população adulta, com idade entre 20 e 60, provenientes de área urbana brasileira. Para urinas isoladas colhidas entre 6h e 9h após desjejum alimentar, os intervalos de referência para o sódio e cloreto foram de 29 (90%IC 22,7 - 35,8) a 268 (90%IC 234,5 - 301,6); 27 (90%IC 20,3 - 36,4) a 291 (90%IC 258,8 - 324,3) respectivamente. Para urinas colhidas entre 18h e 21h, os intervalos de referência para sódio, cloreto e potássio foram 40 (90%IC 33,4 - 47,2) a 325 (90%IC 286,8 - 365,4); 30 (90%IC 23,1 - 38,4) a 307 (90%IC 271,8 - 341,9) e 12 (90%IC 10,6 - 14,1) a 81 (90%IC 70,5 - 92,4).
- Os intervalos de referência estabelecidos para o sódio, cloreto e potássio em urina isolada contribuirão para uma melhor interpretação dos resultados laboratoriais, permitindo ao médico clínico situar o seu paciente dentro de um grupo com dieta habitual de sódio e função renal preservada, substituindo neste contexto a coleta da urina 24h.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BROWN, I. J. *et al.* Estimating 24-hour urinary sodium excretion from casual urinary sodium concentration in Western populations: the INTERSALT study. **Am J Epidemiol**, v.177, n. 11, p. 1180-92, Jun 2013.

BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E., *Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 5<sup>th</sup> ed. St. Louis: Saunders, 2012.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). *Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – third ed.* CLSI document C28-A3, 2008.

COGSEWELL, M. E. *et al.* Validity of predictive equations for 24-h urinary sodium excretion in adults aged 18-39 y **Am J Clin Nutr**, v. 98, n. 6, p. 1502-13. Dec 2013.

ERICHESEN, E. S *et al.* *Medicina Laboratorial para o Clínico*. 1<sup>a</sup> ed. Belo Horizonte: Coopmed, 2009.

EROL, I. *et al.* Reference values for urinary calcium, sodium and potassium in healthy newborns, infants and children. **Turk J Pediatr**, v. 51, n. 1, p. 6-13, Feb 2009.

FERREIRA, C. E. S.; ANDRIOLO, A. Intervalos de referência no laboratório clínico. **J Bras Patol Med Lab**, v. 44, n. 1, p. 11-16. Fev 2008.

FUENTES-ARDERIU, X. *et al.* Multicentre physiological reference values for some urinary component-to-creatinine (creatininum) concentration ratios. **Clin Chem Lab Med**, v. 43, n.9, p. 958-62, Jul 2005.

FRIEDBERG, R.C. *et al.* The origin of reference intervals. **Arch Pathol Lab Med**, v. 131 n. 3, p. 348-57, Mar 2007.

GINSBER, J. M. *et al.* Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. **N Engl J Med**, v. 309, n. 25, p. 1543-6, Dec 1983.

GÖKÇE, C., *et al.* Use of random urine samples to estimate total urinary calcium and phosphate excretion. **Arch Intern Med**, v. 151, n. 8, p. 1587-8. Aug 1991.

GUYTON, A. C., HALL, J. E. Tratado De Fisiologia Médica 12ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011

HARRINGTON, J. T.; COHEN, J. Measurement of urinary electrolytes - indications and limitations. **N Engl J Med**, v.293, n.24, p. 1241-3, Dec 1975.

HENRY J. B. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 20ª ed. Barueri: Manole, 2008

HONG, Y.H. *et al.* Twenty-four hour and spot urine metabolic evaluations: correlations versus agreements. **Urology**, v. 75, n. 6, p. 1294-8, Jun 2010.

HORN, P. S.; PESCE, A. J. Reference intervals a user's guide. Washington, DC: AACC Press, 2005.

HORN, P.S.; PESCE, A.J. Reference intervals: an update. **Clin Chim Acta**, v.334, n.2, p. 5-23, Aug 2003.

HOOFT VAN HUYSDUYNEN, E. J. *et al.* Evaluation of using spot urine to replace 24 h urine sodium and potassium excretions. **Public Health Nutrition**, v. 17, n. 11, p. 2505-11, Nov 2014.

ILICH, J. Z. *et al.* Comparison of calcium, magnesium, sodium, potassium, zinc and creatinine concentration in 24-h and spot urine sample in women. **Clin Chem Lab Med**, v. 47, n. 2, p. 216-21, Nov 2009.

JOOSSENS, J. V.; GEBOERS, J. Monitoring salt intake of the population: methodological considerations. In: Backer GG, Pedoe HT, Ducimetiere P, eds. Surveillance of the dietary habits of the population with regard to cardiovascular diseases, EURO-NUT report 2. Wageningen: Department of Human Nutrition, Agricultural University; p. 61-73. 1984.

KAWASAKI, T. *et al.* A simple method for estimating 24H urinary sodium and potassium excretion from second morning voiding urine specimen in adults. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 20, n. 1, p. 7-14, Jan 1993.

KAWASAKI, T. *et al.* Determination of urinary excretions of aldosterone and sodium by short term collections of urine in healthy men. **Jpn Circ J**, v. 43, n. 7, p. 621-6, Jul 1979.

KIRSZTAJN, G. M. Avaliação do ritmo de filtração glomerular. **J Bras Patol Med Lab**, v. 43, n. 4, p. 257-64, Ago 2007.

KIRSZTAJN, G. M. *Diagnóstico Laboratorial em Nefrologia*. 1ª ed. São Paulo: Sarvier, 2010.

KNUIMANN, J. T. *et al.* A multi-centre study on completeness of urine collection in 11 European centres. I. Some problems with the use of creatinine and 4-aminobenzoic acid as markers of the completeness of collection. **Hum Nutr Clin Nutr**, v. 40, n. 3, p. 229–37, May 1986.

KUNITTA, H. *et al.* The effects of dietary sodium on the diurnal activity of the renin-angiotensin-aldosterone system and the excretion of urinary electrolytes. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 43, n. 4, p. 756-9, Oct 1976.

MAGE, D. T; ALLEN, R. H. KODALI, A. Creatinine corrections for estimating children's and adult's pesticide intake doses in equilibrium with urinary pesticide and creatinine concentrations. **J Expo Sci Environ Epidemiol**, v. 18, n. 4, p. 360–8, Jul 2008.

MALEKSHAH, A. F. *et al.* Validity and reliability of a new food frequency questionnaire compared to 24 h recalls and biochemical measurements: pilot phase of Golestan cohort study of esophageal cancer. **Eur J Clin Nutr**, v. 60, n. 8, p. 971–7, Aug 2006.

MANN, S. J.; GERBER, L. M. Estimation of 24-hour sodium excretion from spot urine samples. **J Clin Hypertens**, v. 12, n. 3, p. 174-80, Mar 2010.

MCLEAN, R. M. Measuring population sodium intake: a review of methods. **Nutrients**, v. 6, n. 11, p. 4651-62, Oct 2014.

MENTE, A. *et al.* Validation and comparison of three formulae to estimate sodium and potassium excretion from a single morning fasting urine compared to 24-h measures in 11 countries. **J Hypertens**, v. 32, n. 5, p. 1005-14. May 2014.

MILL, J. G. *et al.* Correlation between sodium and potassium excretion in 24- and 12-h urine samples. **Braz J Med Biol Res**, v. 45, n. 9, p. 799-805, Sep 2012.

MIN, H. K.; JONES J. E.; FLINK, E. B. Circadian variations in renal excretion of magnesium, calcium, phosphorus, sodium, and potassium during frequent feeding and fasting. **Fed Proc**, v. 25, n. 3, p. 917-21, May 1966.

MOLINA, M. C. B. *et al.* Hipertensão arterial e consumo de sal em população urbana. **Rev Saúde Pública** v. 37, n. 6, p. 743-50, Dez 2003.

MURAKAMI K. M. S. *et al.* Sensitivity and specificity of published strategies using urinary creatinine to identify incomplete 24-h urine collection. **Nutrition**, v. 24 n. 1, p. 16-22. Jan 2008

NORDIN, B. E. C. Assessment of calcium excretion from the urinary calcium/creatinine ratio. **Lancet**, v. 2, n. 7099, p. 368-371, Sep 1959.

OSORIO, A.V; ALON, U.S. The relationship between urinary calcium, sodium, and potassium excretion and the role of potassium in treating idiopathic hypercalciuria. **Pediatrics**, v. 100, n. 4, p. 675-81.

PENIDO, M. G. *et al.* Excreção urinária de cálcio, ácido úrico e citrato em crianças e adolescentes saudáveis. **J. Pediatr. (Rio J)**, v. 78, n. 2, p. 153-160, Mar 2002.

PRICE, C. P.; NEWALL, R. G.; BOYD, J. C. Use of protein: creatinine ratio measurements on random urine samples for prediction of significant proteinúria: a systematic review. **Clin Chemistry**, v. 51, n. 9, p. 1577-86, Sept 2005.

REINIVUO, H.; VALSTA, L. M.; LAATIKAINEN, T. *et al.* Sodium in the Finnish diet: II. Trends in dietary sodium intake and comparison between intake and 24-h excretion of sodium. **Eur J Clin Nutr**, v. 60, n. 10, p. 1160-7, Oct 2006.

SACHDEVA, A.; WEDER, A. B. Nocturnal Sodium Excretion, Blood Pressure Dipping, and Sodium Sensitivity. **Hypertension**, v. 48, n. 4, p. 527-33, Oct 2006.

SAFARINEJAD, M. R. Urinary mineral excretion in healthy Iranian children. **Pediatr Nephrol**, v. 18, n. 2, p. 140-4, Feb 2003.

SARNO F. *et al.* Estimativa de consumo de sódio pela população brasileira, 2008-2009. **Rev Saúde Pública**, v. 47, n. 3, p. 571-8, 2013.

SIMKIN P. A. *et al.* Uric acid excretion: quantitative assessment from spot, midmorning serum and urine samples. **An Intern Med**, v. 91, n. 1, p. 44-7, Mar 1979.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLINICA/ MEDICINA LABORATORIAL (SBPC). Gestão da fase Pré-analítica - Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia clínica Medicina Laboratorial. SBPC, 2010 – Disponível em: [http://www.controllab.com.br/pdf/gestao\\_fase\\_pre\\_analitica\\_sbpc.pdf/](http://www.controllab.com.br/pdf/gestao_fase_pre_analitica_sbpc.pdf/)

STEVENS, L. A. *et al.* Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate. **N Engl J Med**, v. 354, n. 23, p. 2473-83, Jun 2006.

STRASINGER, S.K. *Uroanálise e Fluidos Biológicos*. 3 ed. São Paulo: Premier, 2000.

TANAKA, T. *et al.* A simple method to estimate populational 24-h urinary sodium and potassium excretion using a casual urine specimen. **J Hum Hypertens**, v. 16, n. 2, p. 97-103, Feb 2002.

TOFT, U. *et al.* Estimating salt intake in a Caucasian population: can spot urine substitute 24-hour urine samples? **Eur J Prev Cardiol**, v. 21, n. 10, p. 1300-7, Oct 2014.

TRINDADE, A. A. T. *et al.* Estudo da excreção urinária de cálcio, potássio e sódio com emprego de citrato de potássio na hipercalcúria idiopática na criança. **Rev Paul Pediatría**, v. 25, n. 2, p. 119-23, Abr 2007.

WANG, C.Y. *et al.* Urinary excretion of sodium, potassium, and chloride, but not iodine, varies by timing of collection in a 24-hour calibration study. **J Nutr**, v. 143, n. 8, p. 1276-82, Aug, 2013.

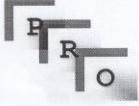
WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO. Effects of reduced sodium intake on cardiovascular disease, coronary heart disease and stroke. WHO, 2012. Available at: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79322/1/9789241504904\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79322/1/9789241504904_eng.pdf)

WORLD HEALTH ORGANIZATION, WHO. Regional Office for Europe. Estimation of sodium intake and output: review of methods and recommendations for epidemiological studies. Report on a WHO meeting by the WHO collaborating center for research and training in cardiovascular diseases. Geneva: World Health Organization; 1984.

JIANWEI, X. *et al.* Estimation of salt intake by 24-hour urinary sodium excretion: a cross-sectional study in Yantai, China. **BMC Public Health**. v. 8, n. 14, p. 136, Feb 2014.

ZHANG, J. *et al.* Estimation daily salt intake based on 24 h urinary sodium excretion in adults aged 18-69 years in Shandong, China. **BMJ Open**. v. 4, n. 7, Jul 2014.

**ANEXO A - Parecer da Câmara do Departamento de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)**

 **UFMG**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE PROPEDEÚTICA COMPLEMENTAR**

MEMO/PRO/Nº 104/2012

DATA: 26/11/2012

DO: DEPARTAMENTO DE PROPEDEÚTICA COMPLEMENTAR

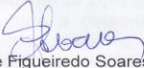
PARA: PROF. LEONARDO DE SOUZA VASCONCELLOS

ASSUNTO: APROVAÇÃO DE PROJETO DE PESQUISA

Senhor Professor:

Comunicamos a V.Sª. que a Câmara Departamental, reunida em 23/11/2012, aprovou o parecer da relatora do projeto de pesquisa "Correlação entre a excreção urinária dos íons sódio, potássio e cloreto em urinas isoladas e de 24 horas para estabelecimento de intervalo de referência", em anexo.

Atenciosamente,

  
Profa. Taciana de Figueiredo Soares  
Chefe do Departamento de Propedêutica Complementar  
Faculdade de Medicina/UFMG

## ANEXO B - Parecer do Núcleo de Apoio à Pesquisa do Laboratório Hermes Pardini

### PARECER DO NÚCLEO DE APOIO À PESQUISA

<b>NÚMERO DO PEDIDO</b>	19 de 2012
<b>TÍTULO DO PROJETO</b>	
ESTABELECIMENTO DE INTERVALO DE REFERÊNCIA PARA OS ÍONS SÓDIO, POTÁSSIO E CLORETO EM AMOSTRAS DE URINAS ISOLADAS.	
<b>NOME DO PESQUISADOR</b>	
Ana Carla Campos dos Santos Botelho	
<b>1) ANÁLISE DO PROJETO</b>	
1.1) Tema e objetivos: análise quanto ao conteúdo da proposta, mérito científico.	
<p>A determinação das concentrações urinárias de sódio, potássio e cloreto é uma prática rotineira nos laboratórios de análises clínicas. A capacidade de se medir as concentrações desses analitos de forma rápida e confiável é uma necessidade, visto a utilidade no diagnóstico e no acompanhamento de desordens metabólicas. A coleta de urina de 24 horas é tida como padrão ouro na determinação de vários mensurados, dentre eles: sódio, potássio e cloreto. Entretanto, além de tediosa, desconfortável e de difícil compreensão é fonte de erros pré-analíticos, pois não é raro obtenção de amostra com perda urinária e conservação inadequada.</p> <p>A possibilidade da substituição da coleta de urina de 24 horas pela coleta de urina isolada poderá trazer benefícios aos pacientes, pois será realizada sem desconforto e sem perda de volume urinário. A utilização de amostra isolada para determinação dos eletrólitos urinários muitas vezes é evitada em função da ausência de valores de referência para tais analitos, na grande maioria dos laboratórios clínicos. A literatura é carente de estudos que validam seus valores de referência para urinas isoladas.</p> <p>O objetivo do estudo é correlacionar a excreção de sódio, potássio e cloreto nas amostras de urina de 24 h com as amostras de urina isoladas para posterior determinação de intervalo de referência a fim de utilização na prática clínica.</p>	
1.2) Metodologia: análise quanto à adequação da metodologia ao objetivo e disponibilidade.	
Projeto metodologicamente bem delineado e factível. Todos os exames já são rotineiramente realizados no Hermes Pardini.	
<b>2) ORÇAMENTO E CRONOGRAMA: adequação da programação, prazos e custos.</b>	
Cronograma adequado, sem possibilidade de impactar a rotina do Core Lab. Com relação aos custos, a pesquisadora irá avaliar se o fabricante poderá doar os kits.	
<b>3) PRINCIPAIS ASPECTOS POSITIVOS</b>	
Há poucos estudos na literatura sobre o tema. A determinação de intervalos de referência para eletrólitos em amostra única de urina poderá beneficiar o paciente e o laboratório.	
<b>4) PRINCIPAIS ASPECTOS NEGATIVOS</b>	
Não há.	

**ANEXO B - Parecer do Núcleo de Apoio à Pesquisa do Laboratório Hermes Pardini  
(continuação)**

--

**5) COMENTÁRIOS E RECOMENDAÇÕES GERAIS**

-
---

**6) PARECER CONCLUSIVO**

O estudo desta corretamente delineado e planejado, com potencial de gerar inform importantes e fomentar a discussão do tema, portanto converge com as diretrizes do Hermes Pardini.

**AVALIAÇÃO FINAL DA PROPOSTA**

( x ) Favorável                      ( ) Não favorável

( ) Favorável com restrições (especificar) \_\_\_\_\_

**Conteúdo sigiloso:**

NOME: Fabiano de Almeida Brito
ASSINATURA: <i>Fabiano de Almeida Brito</i>

**ANEXO C - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE –14200113.1.0000.5149

Interessado(a): Prof. Leonardo de Souza Vasconcellos  
Departamento de Propedeutica Complementar  
Faculdade de Medicina- UFMG

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 09 de abril de 2013, o projeto de pesquisa intitulado "Correlação entre a excreção urinária dos íons sódio, potássio e cloreto em urinas isoladas e de 24 horas para estabelecimento de intervalo de referência" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.



Profa. Maria Teresa Marques Amaral  
Coordenadora do COEP-UFMG

R. Prof. Antônio Carlos MC7 - Cidade Universitária II - 7º andar - Sala 200 - Cep: 31270-001 - BH-MG  
Telefone: (51) 3409-492 - e-mail: coep@pqi.ufmg.br

## **ANEXO D - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**Título da pesquisa:** Correlação entre a excreção urinária dos íons sódio, potássio e cloreto em amostra única e de 24 horas para estabelecimento de intervalo de referência

**Pesquisadores:** Leonardo de Souza Vasconcellos, Silvana Maria Elói Santos e Ana Carla Campos dos Santos Botelho.

**Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG:**

Telefone: (31) 3409-4592 Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 – Unidade Administrativa II, Sala 2005 – 2º andar – Pampulha, Belo Horizonte/MG - CEP:31270-901

Você está sendo convidado para participar de uma pesquisa que tem por objetivo estabelecer valores de normalidade para íons colhidos em amostras únicas de urina. Esses valores de normalidade serão importantes para avaliação de uma série de doenças, dentre as quais podemos citar: insuficiência renal, hiperaldosteronismo e avaliação de dieta rica em sal. Normalmente estas substâncias são avaliadas nas amostras de urina de 24 horas, mas sua coleta além de desconfortável e trabalhosa necessita refrigeração durante todo o período. Muitas vezes, a coleta não é compreendida facilmente e não é raro ocorrência de perda de volume urinário, gerando necessidade de nova coleta de 24 horas.

A utilização de amostra única para realização de dosagem de sódio, potássio e cloreto poderá substituir a coleta de urina de 24 horas, e desta forma diminuir o desconforto e minimizar os erros na coleta de urina.

Os formulários e as amostras serão identificados por números e os dados coletados serão utilizados apenas para fins dos objetivos da pesquisa em foco. Fica garantido o sigilo das informações, assim como o direito de retirar o consentimento a qualquer tempo. O seu nome não será divulgado em nenhum momento. Após o término da pesquisa, os dados coletados serão armazenados e ficarão sob a responsabilidade dos pesquisadores que assumem o compromisso de preservar seu anonimato e utilizá-los apenas para fins científicos. Os resultados deste estudo serão publicados, sejam eles favoráveis ou não.

Você não terá nenhum gasto e também nenhum ganho financeiro para participar. Os benefícios deste estudo serão obtidos após a conclusão do projeto e estão relacionados à diminuição de desconforto para coleta de urina, pois a possibilidade de utilização de amostra única em substituição à urina de 24 horas permitirá a obtenção de uma amostra sem perda urinária e mais adequada, ou seja, menor possibilidade de interferência pré-analítica.

Em caso de recusa, você não será penalizado(a) de forma alguma.

Os riscos e desconforto envolvidos nesta pesquisa são os inerentes à disponibilidade de tempo para a aplicação do questionário, a realização da coleta de amostra única ou durante 24 horas, cujos horários deverão ser respeitados, bem como a coleta de sangue periférico. Nesse caso, eventualmente, poderão ocorrer hematomas e dor localizados, que serão minimizados pela realização da coleta de sangue por profissionais capacitados. Caso queira, você poderá solicitar quaisquer informações adicionais e a qualquer tempo aos pesquisadores responsáveis.

Após ser esclarecido (a) sobre as informações anteriores, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável.

Eu, \_\_\_\_\_, declaro que li as informações do TCLE acima, esclareci minhas dúvidas, aceitei participar do estudo “Correlação entre a excreção urinária dos íons sódio, potássio e cloreto em amostra única e de 24 horas para estabelecimento de intervalo de referência” e o assino livremente. Fui devidamente informado e esclarecido sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Autorizo a utilização dos dados coletados e de minhas amostras urinárias para os fins científicos relatados. Autorizo também a utilização de minhas amostras armazenadas caso se faça necessário, como descrito na seção anterior. Foi-me garantido o sigilo das informações e que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Local e data \_\_\_\_\_, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_/

Assinatura do participante: \_\_\_\_\_

Assinaturas dos pesquisadores:

Ana Carla Campos dos Santos Botelho: \_\_\_\_\_

Leonardo de Souza Vasconcellos: \_\_\_\_\_

Silvana Maria Elói Santos: \_\_\_\_\_

**Telefones e endereços para contato com os pesquisadores:**

Professores Leonardo de Souza Vasconcellos e Silvana Maria Elói Santos:

Telefone: (31) 3409-9774 Endereço: Av. Professor Alfredo Balena, número 190 – sala 403 Faculdade de Medicina, Bairro Santa Efigênia, Belo Horizonte/MG.

Ana Carla Campos dos Santos Botelho Telefone: (31) 9739-5914

Endereço: Rua Junquinhos, 600/ 202, bairro Nova Suíça, Belo Horizonte/MG

**ANEXO E- FORMULÁRIO DE PESQUISA**

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

E-mail \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_\_ Sexo: ( ) F ( ) M

Peso: \_\_\_\_\_ Kg                      Altura: \_\_\_\_\_ cm

1) Você se considera uma pessoa saudável?

(1) Não

(2) Sim

2) Possui diagnóstico de Hipertensão Arterial Sistêmica, Diabetes melito, Insuficiência Renal, Síndrome Nefrótica, Hiperaldosteronismo, Doença Tubulointersticial, Síndrome de Bartter, Síndrome da Secreção Inapropriada do Hormônio Antidiurético, Doença de Addison, Acidose Tubular renal, Alcalose Metabólica e Acidose Metabólica?

(1) Não.

(2) Sim. Qual? \_\_\_\_\_

3) Teve ou tem algum problema de saúde nos últimos 6 meses?

(1) Não

(2) Sim. Qual? \_\_\_\_\_

4) Está em uso de medicamento ou algum suplemento vitamínico atualmente?

(1) Não.

(2) Sim. Qual? \_\_\_\_\_

5) Você apresentou algum episódio de diarreia ou vômito nos últimos sete dias?

(1) Não.

(2) Sim. Qual? \_\_\_\_\_

6) Se mulher: Está grávida? (1) Não (2) Sim.

7) Se mulher: Está menstruada? (1) Não (2) Sim.

## 8) Fez uso de algum medicamento nos últimos sete dias?

(1) Não

(2) Sim

Diuréticos	( )	Qual? _____	Dose _____
Anti-hipertensivos	( )	Qual? _____	Dose _____
Dopamina	( )		
Heparina	( )		
Anfotericina	( )		
Lítio	( )		
Vitamina B <sub>3</sub>	( )		
Anticoncepcional	( )	Qual? _____	Dose _____
Corticoides	( )		
Propranolol	( )		
Corticotrofina (ACTH)	( )		
Calcitonina	( )		
Antibiótico	( )	Qual? _____	Dose _____
Anestésicos em geral	( )	Qual? _____	Dose _____
Pomadas ou cremes vaginais	( )	Qual? _____	Dose _____
Outro.		Qual? _____	Dose _____

## **ANEXO F - INSTRUÇÕES PARA COLETA DE SANGUE E AMOSTRAS URINÁRIAS, DURANTE 24 HORAS**

Ao acordar, às 06:00, esvaziar a bexiga, desprezando a urina no vaso sanitário.

Em cada um dos horários abaixo você deverá colher todo o volume urinário do período em frasco próprio. Para facilitar a coleta da urina no frasco, você poderá utilizar o funil entregue pela pesquisadora.

É importante que não haja nenhuma perda urinária durante cada período abaixo:

- ◆ 06:00 às 09:00 - manhã - amostra A
- ◆ 09:00 às 12:00 - manhã – amostra B
- ◆ 12:00 às 15:00 - tarde - amostra C
- ◆ 15:00 às 18:00 – tarde – amostra D
- ◆ 18:00 às 21:00 - noite – amostra E
- ◆ 21:00 às 06:00 – madrugada – amostra F

Importante:

- Identificar corretamente os frascos, com nome e horários legíveis.
- Se esquecer de coletar alguma micção, interrompa a coleta, despreze todas as urinas armazenadas e reinicie todo o procedimento.
- As amostras deverão ser identificadas com cuidado, de acordo com o horário de coleta, conforme descrito anteriormente;
- Caso o volume urinário em determinado período, ultrapasse 500 mL, basta continuar a coleta em outro frasco identificando com o respectivo horário;
- Mesmo que não tenha vontade de urinar, as coletas deverão seguir os horários pré determinados;
- Caso haja necessidade de coletar a urina mais de uma vez no mesmo período, utilizar o mesmo frasco;
- Todas as amostras urinárias colhidas deverão obrigatoriamente ficar na geladeira, até o momento da entrega do material, no laboratório clínico;
- Manter sua rotina diária. Não aumentar a ingestão de líquidos;

- Utilizar, preferencialmente, os frascos fornecidos pela pesquisadora. Pode utilizar garrafas de água mineral, limpas e secas. Não utilizar garrafas de refrigerantes, sucos e similares;
- Comparecer à Unidade Aimorés do Hermes Pardini para coleta de sangue, no momento de entrega das amostras urinárias. Não é necessário jejum alimentar.

Em caso de dúvidas, entrar em contato com Ana Carla Campos dos Santos Botelho, através dos telefones (31)9739-5914, (31)3373-8759 e (31) 3228-6436.

## ANEXO G - INSTRUÇÕES PARA COLETA DE URINA ISOLADA E SANGUE

**Serão colhidas duas amostras urinárias isoladas e uma amostra de sangue.**

### **1ª amostra urinária:**

- Ao acordar, urinar no vaso sanitário e tomar o café da manhã. Colher a próxima urina (2ª urina da manhã) entre 6h e 9h. Colher o jato médio. Essa amostra poderá ser colhida no Laboratório Hermes Pardini ou em casa. Se for colhida em casa, manter sob refrigeração até o momento de entrega na Unidade Aimorés do Hermes Pardini.

- No momento de entrega desta amostra, colher também amostra de **sangue** (não é necessário jejum alimentar para coleta de sangue).

### **2ª amostra urinária:**

- No final da tarde, início da noite (18h ) esvaziar a bexiga e posteriormente colher nova amostra urinária (jato médio) no horário compreendido entre 18h e 21h e manter sob refrigeração até o dia seguinte, onde será entregue na Unidade Aimorés do Hermes Pardini.

- Manter sua rotina diária. Não aumentar a ingestão de líquidos.

***- Comparecer à Unidade Aimorés do Hermes Pardini para coleta de sangue no momento de entrega da amostra de urina. Não é necessário jejum alimentar.***

## ANEXO H - INQUÉRITO NEFROLOGISTAS



### FACULDADE DE MEDICINA

#### DEPARTAMENTO DE PROPEDEÚTICA COMPLEMENTAR

Av. Prof. Alfredo Balena 190/sala 403. Belo Horizonte – MG - CEP 30.130-100



Caro colega,

Estamos desenvolvendo um projeto de mestrado pelo programa de Pós-Graduação em Patologia da UFMG, intitulado **“Correlação entre a excreção urinária dos íons sódio, potássio e cloreto em urinas isoladas e de 24 horas para estabelecimento de intervalo de referência”** (CAAE-14200113.1600005149). Para que possamos aprofundar as discussões desse trabalho, estamos fazendo um inquérito junto aos nefrologistas sobre o tema. Gostaríamos de sua colaboração, respondendo as perguntas abaixo. As suas respostas serão avaliadas em conjunto, preservando o seu anonimato.

- 1- Você solicita os íons Sódio, Potássio e Cloreto em amostras urinárias?  
 (1) Não                    (2) Às vezes                    (3) Frequentemente                    (4) Sempre
  
- 2- Caso a resposta anterior seja positiva, você solicita íons urinários em qual(is) amostra(s)?  
 (1) Somente em urina de 24 horas                    (2) Urina isolada                    (3) Ambas
  
- 3- 3) Caso solicite íons em urina isolada, qual é o período que você orienta o paciente para a coleta?  
 (1) De manhã, com jejum                    (2) De manhã, sem jejum                    (3) De tarde                    (4) De noite  
 (5) A critério do paciente                    (6) Outro (especifique): \_\_\_\_\_
  
- 4- 4) Em sua prática clínica, qual a importância da dosagem do sódio urinário?  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_
  
- 5- Em sua prática clínica, qual a importância da dosagem do potássio urinário?  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_
  
- 6- Em sua prática clínica, qual a importância da dosagem do cloreto urinário?  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_
  
- 7- Caso solicite dosagem de Sódio, Potássio ou Cloreto em urina isolada, sua conduta é baseada em:  
 (1) Consensos ou *guidelines* (favor citá-los): \_\_\_\_\_  
 (2) Experiência pessoal                    (3) Outros? : \_\_\_\_\_

8- Há quantos anos você exerce a especialidade de nefrologia?

(1) > 5 anos

(2) Entre 5 a 10 anos

(3) > 10 anos

Agradecemos a sua participação.

Aluna: Ana Carla Campos dos Santos Botelho -Telefone: (31) 9739-5914

Professores: Leonardo de Souza Vasconcellos e Silvana Maria Elói Santos

Telefone: (31) 3409-9774 Departamento de Propedêutica Complementar da Fac. Medicina da UFMG.

## ANEXO I - TRANSFORMAÇÃO DE BOX-COX

A transformação de Box-Cox objetivou a obtenção da distribuição gaussiana dos dados. (HORN; PESCE, 2005).

$$\begin{cases} Y_i = (x_i^\gamma - 1) / \gamma & \gamma \neq 0 \\ \ln(x_i + c) & \gamma = 0 \end{cases}$$