



## USO DE MINI-ESPECTRÔMETRO DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X COMO ALTERNATIVA PARA PRÁTICA CLÍNICA DE DIALISADOS

**Resumo:** Neste estudo, o uso de equipamento compacto e portátil, baseado na tecnologia de Fluorescência de Raios X, foi empregado para execução de análises bioquímicas (dosagens de íons) em microamostras de fluidos corpóreos depositadas em papel. Foi realizada a análise simultânea de íons de relevância clínica e nutricional (Ca, Cl, Fe, K, P e S), em sangue total de pacientes com insuficiência renal crônica (IRC) submetidos a tratamento dialítico. Durante a investigação as concentrações obtidas em sangue total levaram a resultados que corroboram com o quadro clínico obtido pelas análises convencionais. Com os dados do presente foi possível elaborar uma discussão sobre a viabilidade de uso deste equipamento para a realização desses exames bioquímicos em Unidades Básicas de Saúde Fluviais (UBSF), gerando melhorias na qualidade de vida de populações ribeirinhas, bem como no âmbito econômico em função de sua aplicabilidade com menor custo.

Descritores: Íons, Sangue, Análise Clínica.

### Use of X-ray fluorescence mini-spectrometer as an alternative for clinical practice of dialysates

**Abstract:** In this investigation, a compact and portable equipment based on X-Ray Fluorescence technology was used to perform biochemical analyzes (ion dosages) in micro samples of body fluids deposited on paper. Simultaneous analysis of elements of clinical and nutritional relevant (Ca, Cl, Fe, K, P and S) were carried out in whole blood of patients with chronic renal failure (CRF) undergoing dialysis treatment. During the investigation, the concentrations obtained in whole blood corroborate with the conventional analyses (performed in serum). The results enabled a discussion on the feasibility of using this equipment to carry out these biochemical tests in Basic Fluvial Health Units (UBSF), generating improvements in the quality of life of riverside populations, as well as in the economic scope due to its applicability at a lower cost.

Descriptors: Ions, Blood, Clinical Analyses.

### Uso del miniespectrómetro de fluorescencia de rayos X como alternativa para la práctica clínica de dializados

**Resumen:** En el presente estudio se utilizó el uso de equipo compacto y portátil, basado en tecnología de Fluorescencia de Rayos X, para realizar análisis bioquímicos (dosis de iones) en micromuestras de fluidos corporales depositados en papel. Se llevó a cabo un análisis simultáneo de iones clínica y nutricionalmente relevantes (Ca, Cl, Fe, K, P y S) en sangre total de pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC) en tratamiento de diálisis. Durante la investigación, las concentraciones obtenidas en sangre total arrojaron resultados que corroboran el cuadro clínico obtenido por análisis convencionales (realizados en suero). Los resultados posibilitaron una discusión sobre la factibilidad de utilizar este equipo para la realización de estas pruebas bioquímicas en las Unidades Básicas de Salud Fluvial (UBSF), generando mejoras en la calidad de vida de las poblaciones ribereñas, así como en el alcance económico por su aplicabilidad con menos costo.

Descritores: Iones, Sangre, Análisis Clínico.

#### Catarina da Silva Souza

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN-SP.

E-mail: [souzacatarina38@gmail.com](mailto:souzacatarina38@gmail.com)

#### Cibele Bugno Zamboni

Pesquisadora Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN-SP.

E-mail: [czamboni@ipen.br](mailto:czamboni@ipen.br)

#### Larissa Augusta Santos Moura

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN-SP.

E-mail: [lari.mourinha@gmail.com](mailto:lari.mourinha@gmail.com)

#### Sabrina Metairon

Doutora. *Covenant Health Care.*, Saginaw, MI, USA.

E-mail: [metairon@live.com](mailto:metairon@live.com)

#### Dalton Giovanni Nogueira da Silva

Doutor. Faculdade Estácio de Carapicuíba.

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN-SP.

E-mail: [daltongiovanni@alumni.usp.br](mailto:daltongiovanni@alumni.usp.br)

Submissão: 09/03/2023

Aprovação: 25/06/2023

Publicação: 15/08/2023



#### Como citar este artigo:

Souza CS, Zamboni CB, Moura LAS, Metairon S, Silva DGN. Uso de mini-espectrômetro de fluorescência de raios X como alternativa para prática clínica de dialisados. São Paulo: Rev Remecs. 2023; 8(14):52-60. DOI: <https://doi.org/10.24281/rremecs2023.8.14.52-60>

## Introdução

O conhecimento da composição química de fluidos corpóreos, através de testes laboratoriais (especificamente a dosagem de íons) compõe ferramenta fundamental para realização de diagnósticos bem como para avaliação da eficácia de tratamentos clínicos.

O diagnóstico dos processos renais tem relação direta com a anormalidade da concentração de vários íons em fluidos corpóreos. O papel primário dos rins é sua função excretora, que ocorre ao eliminar pela urina substâncias tóxicas, como ureia, creatinina, ácido úrico bem como íons de potássio, sódio, cálcio, fósforo, dentre outros. Além da função excretora (eliminação de toxinas) os rins atuam no controle do balanço hidroeletrolítico (função reguladora), mantendo um balanço ideal entre o ganho e a perda de água e íons. Dentre as enfermidades que acometem os rins, a Insuficiência Renal Crônica (IRC) tem incidência relevante na população mundial.

A Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN)<sup>1</sup>, estima-se que haja, em todo o mundo, 850 milhões de pessoas com doença renal e da ordem de pelo menos 4,1 milhões de mortes por ano, com uma taxa crescente de mortalidade. No Brasil, da ordem de 13 milhões de brasileiros apresentam algum grau de problema renal. Desse total, 95 mil estão em estágio grave, dependendo de hemodiálise ou na fila do transplante, e os casos vêm crescendo a um ritmo de

10% ao ano, sendo que 123000 pacientes estão em tratamento dialítico devido a IRC<sup>2-4</sup>.

A IRC caracteriza-se pela deterioração progressiva na função renal na qual os mecanismos homeostáticos do organismo entram em falência a menos que seja feito um tratamento dialítico ou um transplante de rim. À medida que a função renal se deteriora, os produtos do metabolismo proteico (que formam os componentes da urina) acumulam-se no sangue gerando desequilíbrios na bioquímica do organismo bem como nos sistemas cardiovascular, hematológico, gastrointestinal, neurológico e esquelético<sup>5</sup>.

A hemodiálise no Brasil é o método dialítico mais frequente atendendo da ordem de 90% dos pacientes<sup>1</sup>. A frequência com que esses pacientes precisam ser submetidos à diálise depende da gravidade da disfunção renal, mas em média é da ordem de 2 a 4 vezes por semana, e requer periodicamente a análise de íons, a saber: potássio, cálcio, fósforo (mensal), ferro (trimestral), alumínio (anual) realizadas em soro<sup>6</sup>. Essas análises geralmente requerem: processamento da amostra biológica (separação soro-plasma por centrifugação), quantidades de material biológico de pelo menos 0,5 mL de soro / por análise de íon, adição de reagentes e refrigeração da amostra<sup>7-9</sup>. Os detalhes do procedimento de coleta e processamentos da amostra são apresentados na **Figura 1**.

**Figura 1.** Coleta de sangue por pulsão periférica venal (esquerda); centrifugação (centro) e refrigeração (direita).



Fonte: Autor, 2022.

A busca por processos de análises bioquímicas que minimizem as interferências pré-analíticas (centrifugação, transporte e armazenamento) e permitam uma avaliação clínica mais rápida, precisa e com menor custo, é de interesse na prática clínica.

Com base nesta necessidade, nos últimos anos a técnica de Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia (FRX-DE) está sendo testada no Laboratório de Espectroscopia e Espectrometria das Radiações (LEER) do IPEN/CNEN-SP para as análises de íons em sangue total. Implantou-se um sistema compacto e portátil de Fluorescência de Raios-X (**Figura 2**) para análise de íons em sangue total utilizando microamostras (uma gota de fluido corpóreo), compondo uma ferramenta bastante promissora para realização de análises bioquímicas. Esse procedimento alternativo apresenta simplificações e vantagens quando comparado aos procedimentos convencionais empregados nos Laboratórios de Análises Clínicas<sup>6</sup>, a saber:

- ✓ Viabilidade da análise ser realizada em sangue total o que elimina a etapa de centrifugação para separação soro e plasma;
- ✓ Uso de pequena quantidade de sangue total: coleta de sangue por pulsão digital (uma gota é suficiente);
- ✓ Procedimento não destrutivo;

- ✓ Execução rápida (minutos);
- ✓ Armazenamento da amostra sem a necessidade de refrigeração;
- ✓ Viabilidade de realizar várias análises simultaneamente;
- ✓ Viabilidade de realizar análises bioquímicas em demais fluidos corpóreos (soro, plasma, urina, saliva, etc);
- ✓ Possibilidade de realizar essas análises a domicílio, dada portabilidade e facilidade de transporte do equipamento (~1,5 kg) bem como em localidades desprovidas de energia elétrica, pois este equipamento pode operar com baterias.

Essas simplificações eliminam o uso de reagente e vidraria, bem como a necessidade de refrigeração da amostra, o que diminui o rejeito hospitalar e reduz custos. Além disso, por ser um método não destruído, pois a amostra tem a durabilidade do papel (anos), a análise pode ser refeita sempre que necessário.

O sucesso do uso clínico deste procedimento<sup>10-15</sup> motivou a continuidade dessas aplicações visando à avaliação de sangue total de pacientes com insuficiência renal crônica (IRC).

**Figura 2.** Dimensão do dos componentes do mini-espectrômetro: detector e mini-tubo de Raio X (esquerda). Dimensão do arranjo portátil e compacto de FRX (direita).



Fonte: Autor, 2022.



Neste estudo, amostras de sangue total de pacientes submetidos à hemodiálise foram analisadas pela técnica de FRX-DE usando o mini-espectrômetro de FRX. Com os dados do presente estudo foi possível elaborar uma discussão sobre as vantagens e limitações do uso deste procedimento para a realização desses exames bioquímicos.

## Objetivo

Difundir a utilização a técnica de FRX-DE para prática clínica, como alternativa eficaz e economicamente viável para atendimento de populações carentes, desprovidas de instalações laboratoriais.

## Material e Método

### Preparo das Amostras

A coleta é realizada por punção digital. Em função das facilidades implantadas, isto é, uso de pequena quantidade de sangue total (uma gota), eliminação do procedimento de separação do soro - plasma, o procedimento para o preparo dessas amostras reduz-se a depositar a gota de sangue (~0,05 ml) em papel de filtro (Whatman - nº 41) imediatamente após a coleta. O estudo utilizou

amostras do banco de amostras biológicas do LEER do IPEN/CNEN-SP (coletadas dentro das exigências legais). Nas **Figuras 3 e 4** são apresentados os detalhes da coleta, da dimensão da amostra e seu armazenamento (que não necessita de refrigeração).

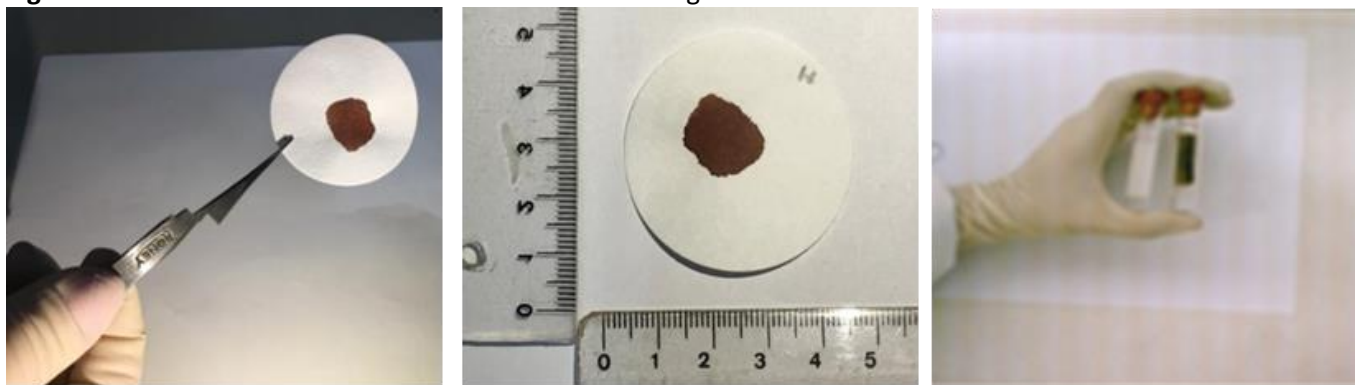
Para estas medidas foram analisadas 48 amostras de sangue total (preparadas em duplicata), coletas de pacientes a IRC após o tratamento dialítico. Um grupo de controle foi também estabelecido para comparação. Foram coletadas 50 amostras de indivíduos saudáveis, da mesma faixa etária, selecionados do Banco de Sangue Paulista (São Paulo, Brasil).

**Figura 3.** Detalhes da montagem do mini-espectrômetro de FRX.



Fonte: Autor, 2020.

**Figura 4.** Dimensão e armazenamento da amostra de sangue.



Fonte: Autor, 2022.

### Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia

A técnica de Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia (FRX-DE)<sup>16</sup> baseia-se na medida das radiações características emitidas pelos elementos químicos presentes na amostra, quando excitados com tubo de raios X. Estas radiações têm energias conhecidas para cada elemento químico e sua intensidade depende da sua concentração na amostra.

As medidas de FRX-DE foram realizadas utilizando um mini-espectrômetro de FRX (modelo X-123 SDD, alvo de Ag da Amptek®). Este instrumental é constituído por um mini-tubo de Raios X com alvo

de Ag, detector de Silício Drift (25 mm<sup>2</sup> x 500 µm) com janela de Berílio (12,5 µm). A condição de excitação foi estabelecida por 5 µA e 30 kV para tempo de contagem de 300 s. Os espectros foram construídos usando softwares dedicados, fornecidos pelo fabricante<sup>17</sup> e as análises espectrais utilizando o software WinQxas<sup>18</sup>.

A **Figura 5** ilustra a geometria de medida e na **Figura 6** é apresentado o espectro de sangue total com alvo de Ag na condição de otimizada de medida (30kV, 5µA, 300s), que possibilita a análise simultânea de Ca, K, Fe e P, que são usualmente avaliados em pacientes dialisados.

**Figura 5.** Detalhes da geometria de medida do espectrômetro de FRX, do porta - amostra de acrílico e do posicionamento da amostra.

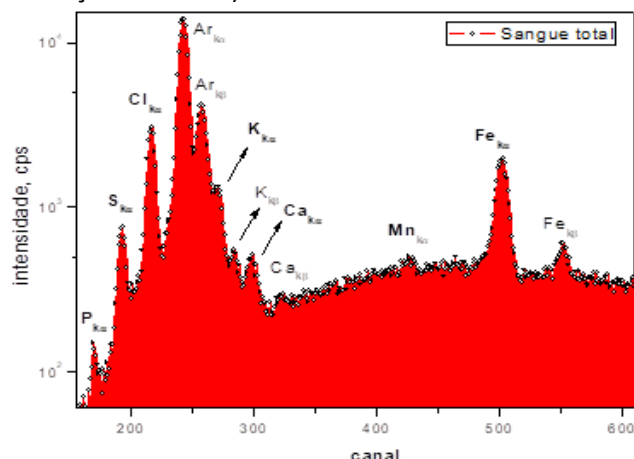
Porta - amostra de acrílico

Amostra de sangue em substrato de papel de filtro



Fonte: Autor, 2022.

**Figura 6.** Espectro de sangue total. A presença do elemento Argônio (Ar) é devido ao ar (medidas sem utilização de vácuo).



Fonte: Autor, 2022.

## Resultados e Discussão

Na **Tabela 1** são apresentados os resultados das concentrações de Ca, Cl, Fe, K, P e S em sangue total dos pacientes com IRC. Os resultados são expressos pelo valor médio (VM), Desvio Padrão ( $\pm 1DP$ ), mínimo (min) e máximo (máx) valores. Como as

análises são realizadas em sangue total não é possível utilizar valores de referência (disponíveis na literatura), pois são estabelecidos para soro ou plasma. Desta forma, utilizou-se valores de referência obtidos a partir de sangue total de indivíduos saudáveis (grupo de controle).

Para ilustrar, na **Figura 7** são apresentados os resultados individuais das análises em sangue total de 24 pacientes de mesma faixa etária e gênero e submetidos ao tratamento dialítico por dois anos.

Nessas figuras são apresentados os intervalos de confiabilidade de  $\pm 1DP$  (68%) e  $\pm 2DP$  (95%), sendo o limite de normalidade (range: limite inferior - limite superior) expresso pelo intervalo de normalidade de 95% adotado na prática clínica.

**Tabela 1.** Concentração média dos elementos em sangue total dos pacientes dialisados. Os valores de referência do grupo controle (GC) foram incluídos para comparação.

|           | Elementos                  |             |           |             |           |             |
|-----------|----------------------------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|
|           | [valor de referência GC] * |             |           |             |           |             |
| Sangue    | Ca, mg/l                   | Cl, g/l     | Fe, mg/l  | K, g/l      | P, mg/l   | S, g/l      |
|           | [60–311]                   | [2,01–4,00] | [291–551] | [1,12–2,16] | [105–145] | [0,40–0,88] |
| VM        | 111                        | 2,75        | 425       | 1,23        | 109       | 0,50        |
| $\pm 1DP$ | 61                         | 0,34        | 125       | 0,18        | 31        | 0,10        |
| min - max | 55 – 234                   | 2,06 – 3,44 | 232 – 593 | 0,96 – 1,65 | 50 – 167  | 0,40 – 0,69 |

\*considerando o intervalo de normalidade de 95% adotado na prática clínica.

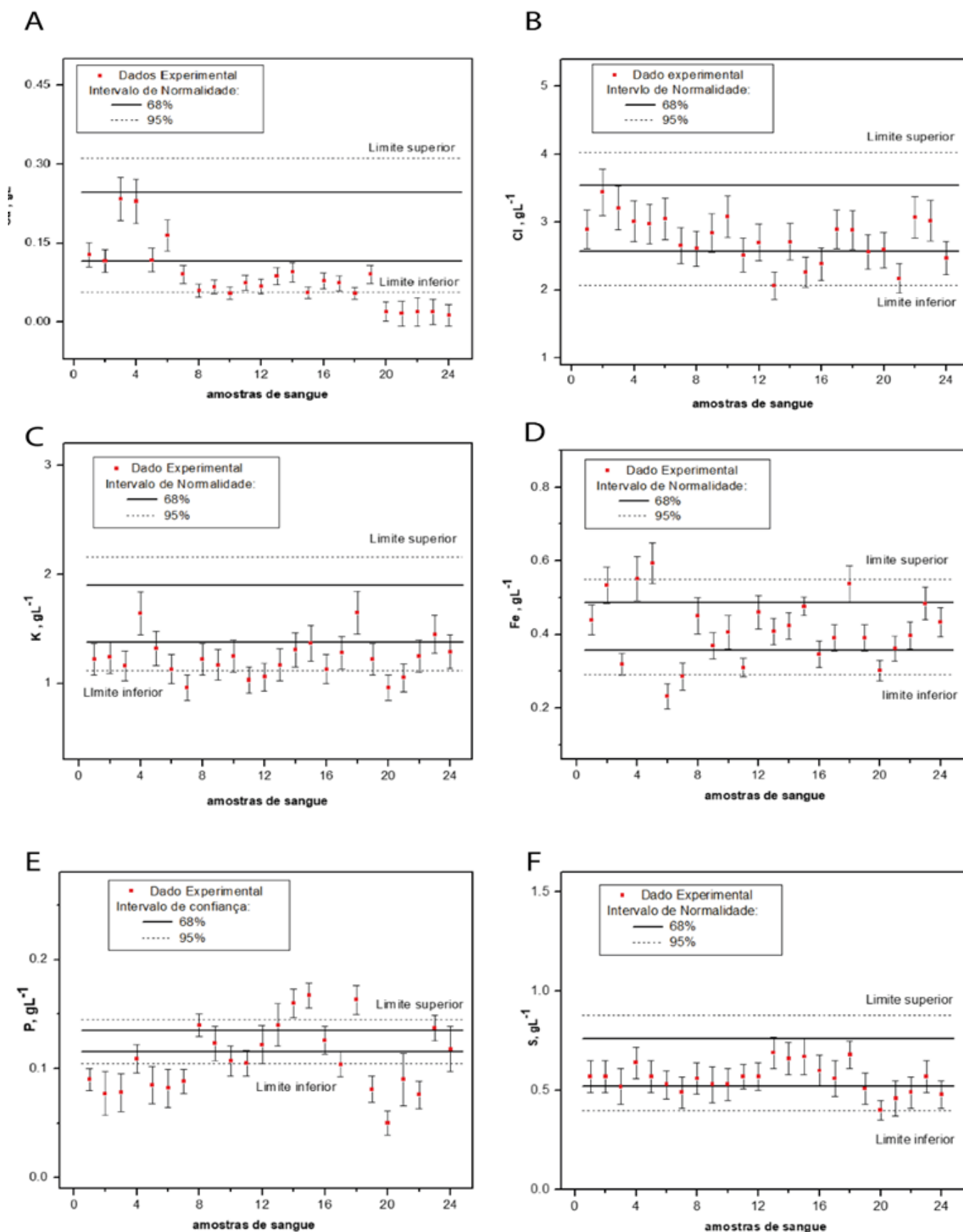
VM: valor médio (IRC).

DP: Desvio Padrão (IRC).

min: menor concentração medida.

max: maior concentração medida.

**Figura 7.** As concentrações de Ca (A), Cl (B), Fe (C), K (D), P (E) e S (F) em sangue total de pacientes com IRC e o intervalo de normalidade do GC.



Fonte: Autor, 2022.

Com relação à metodologia alternativa aplicada algumas vantagens podem ser destacadas: a portabilidade do equipamento, a simplificação na coleta bem como a facilidade do preparo e armazenamento da amostra.

Essas facilidades permitem realizar de forma eficaz, precisa, rápida e com baixo custo o atendimento à saúde de populações carentes, bem como populações desprovidas de instalações laboratoriais.

É importante ressaltar que, em muitos casos, há perda do material a ser analisado em função do tempo dispendido entre a coleta e a recepção em uma unidade de análise.

No caso da região amazônica, por exemplo, o transporte do material até o local de execução pode chegar a dias comprometendo sua finalização. Com a utilização desta técnica, a análise pode ser efetuada imediatamente, no local da coleta.

Além disso, o formato e execução das análises pode ser utilizado, sem necessidade nenhuma de adaptação nas Unidades Básicas de Saúde Fluviais (UBSF) ou de ampliação de equipe, uma vez que estas embarcações comportam equipes de Saúde da Família Fluvial, providas de corpo técnico e com os materiais necessários para atender à população ribeirinha da Amazônia Legal bem como outras localidades carentes.

A adequação deste recurso clínico (método alternativo para exames clínicos), nas UBS Fluviais, poderá ampliar o cuidado às estas populações como previsto na Política Nacional de Atenção Básica (PNAB), gerando melhorias na qualidade de vida de populações desprovidas de laboratórios clínicos e no

âmbito econômico em função de sua aplicabilidade com menor custo.

Uma das limitações é a análise de Alumínio; embora seja possível sua avaliação pela FRX-DE tem-se necessidade de acoplar um sistema de vácuo. Embora esta adaptação seja possível requer ainda adaptações em termos de portabilidade.

## Conclusão

A metodologia estabelecida para realização de testes bioquímicos em sangue total, utilizando a técnica de FRX-DE, demonstrou-se viável para acompanhamento clínico de pacientes com IRC, bem como contribui em ações no âmbito da medicina preventiva, de diagnóstico e/ou de monitoramento de tratamento de disfunções diversas.

O uso de equipamento compacto e portátil de FRX facilita o atendimento à saúde de populações carentes bem como populações desprovidas de quaisquer instalações laboratoriais (laboratórios clínicos, centros médicos, ambulatorios, etc.).

Em curto - médio prazo espera-se a implantação destes recursos clínicos nas Unidades Básicas de Saúde Fluviais (UBSF), ampliando o cuidado às estas populações, como previsto na Política Nacional de Atenção Básica (PNAB), gerando melhorias na qualidade de vida de populações ribeirinhas, bem como no âmbito econômico em função de sua aplicabilidade com menor custo.

## Referências

1. Sesso RC, Lopes AA, Thomé FS, Lugon JR, Martins CT. Brazilian chronic dialysis survey 2016. *Brazilian Journal of Nephrology*. 2017; 39(3):261-6.
2. Cruz F. Pacientes com doença renal crônica triplicam em 16 anos no Brasil. Agência Brasil São Paulo. 2017; 1.



3. Marinho AWGB, Penha AdP, Silva MT, Galvão TF. Prevalência de doença renal crônica em adultos no Brasil: revisão sistemática da literatura. *Cadernos Saúde Coletiva*. 2017; 25.
4. Araújo CP, Bordignon JS, Dalla Lasta L, Farão EMD, Heck TW, Ferreira EM. Insuficiência renal crônica: um enfoque na prevenção do problema emergente no Brasil. *Rev Contexto Saúde*. 2011; 11(20):1045-8.
5. Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS. *Handbook of dialysis*. Lippincott Williams & Wilkins. 2012.
6. Costa MHSN, Campos CSdS, Garcia PT, Oliveira AEFd, Salgado CL, Castro Júnior EFD, et al. *Diretrizes clínicas para o cuidado ao paciente renal crônica (DRC) no sistema único de saúde*. 2014.
7. Marshall WJ, Lapsley M, Day A, Ayling R. *Clinical biochemistry e-book: metabolic and clinical aspects*. Elsevier Health Sciences. 2014.
8. Stewart MJ, Shepherd J, Gaw A, Murphy M, Cowan RA, O'Reilly DSJ. *Clinical biochemistry e-book: an illustrated colour text*. Elsevier Health Sciences. 2011.
9. Wilson K, Walker J. *Principles and techniques of biochemistry and molecular biology*. 7 ed. Cambridge: Cambridge University Press. 2010.
10. Redigolo M, Aguiar R, Zamboni C, Sato I. Determination of reference interval values for inorganic elements in whole blood samples of humans and laboratory animals by X-ray fluorescence spectrometry. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2013; 297(3):463-7.
11. Leão AR, Zamboni CB, Giovanni DNS, Medeiros IMA, Simons SM, editors. *Neutron activation analyses for investigation of antinomic serum for caterpillars *Ionomia obliqua Walker (Lepidoptera: Saturniidae)**. International Workshop on Utilization of Research Reactors 2017; IPEN-SP, Brazil.
12. Zamboni C, Metairon S, Kovacs L, Macedo D, Rizzutto M. Determination of Fe in blood using portable X-ray fluorescence spectrometry: an alternative for sports medicine. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2016; 307(3):1641-3.
13. Almeida MR, Zamboni CB, Giovanni DNS, Azevedo MR. Evaluation of iron in blood of athletes by the EDXRF technique. Brazil: ABEN. 2019.
14. Melo JS, Zamboni CB, Azevedo MR, Konstantyner T, editors. *Evaluation of Cl in blood by NAA and XRF techniques: an alternative for pediatric practice*. Proceedings of the INAC 2019: international nuclear atlantic conference nuclear new horizons. Fueling our Future. 2019.
15. Cavalcanti HS, Zamboni CB, Miura VM, AZEVEDO MR. The reference value for blood potassium in inhabitants of Brazil by EDXRF technique. 2019.
16. West M, Ellis AT, Potts PJ, Strelci C, Vanhoof C, Wegrzynek D, et al. Atomic spectrometry update—X-ray fluorescence spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2010; 25(10):1503-45.
17. AMPTEK. *DPPMCA Display & Acquisition Software*. 2019.
18. Capote R, López E, Mainegra E. *WinQXAS manual (quantitative X-ray analysis system for widows) Version 1.4*. Vienna: IAEA. 2002.

### **Agradecimentos e Apoio Financeiro**

Os autores agradecem os responsáveis pelo Banco de Sangue Paulista (São Paulo - SP, Brasil) pelo apoio técnico durante a coleta das amostras.

O projeto teve o suporte financeiro do CNPq (305373/17-0) e da FAPESP (15/01750-9).