

# COMPORTAMENTO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS EM URINA: ANÁLISE BASEADA EM RESULTADOS DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA

Rodrigo Doellinger, Vinicius Biasoli e Vinicius Dias  
Contato: estatistica@controllab.com.br – ControlLab - Rio de Janeiro/RJ

## INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de metodologias para a determinação de proteínas tem adquirido importância em várias áreas do conhecimento, como em análises clínicas e patologia clínica, favorecendo o diagnóstico de doenças associadas a alterações da sua concentração no corpo.

Vários métodos podem ser empregados para a determinação de proteínas totais. Entre eles, os empregados em reagentes comerciais disponíveis no mercado (Cloreto de Benzetônio, Biureto, Bradford, Violeta de Pirocatenol e Vermelho de Pirogalol) e os produzidos pelo próprio laboratório, conhecidos como *in house* (Ácido Tricloroacético e Ácido Sulfosalicílico). Estes reagentes, no ambiente laboratorial, são aplicados em amostras de pacientes para matrizes de plasma sanguíneo, líquor, urina etc.

Existem ainda, peculiaridades técnicas que restringem o uso de algumas metodologias a determinados tipos de amostras (matrizes). Além disso, substâncias atuam como interferentes e alteram o resultado das dosagens. No caso da dosagem de proteínas em urina, pode-se citar os carboidratos e lipídios que se associam a alguns tipos de proteínas e interferem na reação.

## OBJETIVO

Comparar o desempenho de métodos empregados para determinação de proteínas totais em ensaio de proficiência (EP) de urina.

## MÉTODO

Foram utilizados resultados provenientes dos participantes do ensaio de proficiência da ControlLab, apoiado pela SBPC/ML – Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, para dosagem de proteínas totais em urina ao longo do ano de 2008, obtidos pelos quatro métodos mais usados no Brasil: Bradford, Biureto, Vermelho de Pirogalol e Violeta de Pirocatenol.

Para a análise dos resultados, foram construídos boxplot da distribuição dos coeficientes de variação observados nestes métodos.

Todas as estatísticas apresentadas neste trabalho foram calculadas tendo como base o procedimento robusto (Algoritmo A), recomendado pela ISO 13528, que utiliza o método de Huber para obter estimativas da média e do desvio padrão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os métodos de Bradford e Biureto, utilizados por cerca de 20% dos laboratórios pesquisados, apresentaram maiores coeficientes de variação medianos (CVmed) em relação aos demais: 70,9% e 30,0% respectivamente.

O método Bradford, quando aplicado em amostras de urina, apresenta valores de linearidade muito baixos. Assim, um grande número de diluições é exigido, causando imprecisão nos resultados. Além disso, este método é pouco sensível à detecção de proteínas de baixo peso molecular, o que subestima a real concentração protéica em urina.

O método de Biureto sofre grande interferência da bilirrubina presente na urina. Esta interferência pode ser eliminada com a realização de uma precipitação ácida, procedimento adicional aplicável exclusivamente para urina.

Os métodos Vermelho de Pirogalol e Violeta de Pirocatenol, próprios para a determinação de proteínas na urina, revelaram-se mais precisos. O método Vermelho de Pirogalol, utilizado por 74% dos laboratórios pesquisados e, em múltiplos sistemas analíticos, obteve CVmed = 19,5%. Já o método Violeta de Pirocatenol, adotado por um único fabricante, foi o que obteve o melhor desempenho (CVmed = 8,3%).

O desempenho do método Vermelho de Pirogalol pode ter sido impactado pela multiplicidade de sistemas analíticos e também pelo fato destes serem em sua maioria sistemas abertos – equipamentos combinados a reagentes genéricos – enquanto os resultados por Violeta de Pirocatenol foram obtidos a partir de um único sistema analítico fechado.

Os sistemas abertos são comumente menos automatizados que os fechados e estão mais sujeitos a variações relacionadas a interferência humana. Também podem exigir maior atenção na implementação com relação a sua validação.

TABELA 1 – Proporção de Uso dos Métodos

Método	Quantidade de Laboratórios	Percentual
Bradford	53	9,4%
Biureto	73	13,1%
Vermelho de Pirogalol	413	74,0%
Violeta de Pirocatenol	19	3,4%

TABELA 2 – Estatística Descritiva dos Resultados

Método	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
Bradford	45,9	50,3	70,9	74,5	81,6
Biureto	23,0	25,5	30,0	45,5	50,0
Vermelho de Pirogalol	14,6	18,1	19,5	32,0	34,5
Violeta de Pirocatenol	5,7	6,9	8,3	9,0	12,6

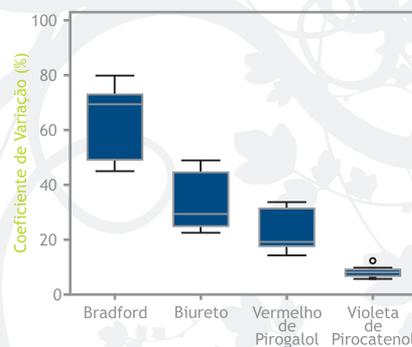


Figura 1 – Coeficientes de variação dos métodos para dosagem de proteínas na urina.

## CONCLUSÃO

A escolha do método a ser empregado em uma rotina laboratorial deve considerar o desempenho dos diferentes métodos disponíveis no mercado e sua adequação à matriz a ser analisada, visando a maior segurança dos resultados ao paciente e seu impacto no diagnóstico médico.

A seleção do método deve também incluir a pesquisa dos sistemas analíticos disponíveis e a verificação do seu desempenho antes e depois de implementada a rotina, com o propósito de obter a menor imprecisão e inexistência possível.

## REFERÊNCIAS

1. Zaia, D.A.M.; Zaia, C.T.V.B.; Lichtig, J. Determinação de Proteínas Totais via Espectrofotometria: Vantagens e Desvantagens dos Métodos Existentes. Química Nova, 21(6) (1998).
2. Moura, R. de A.; Wada, C.S.; Purchio, A.; Almeida, T.V. Técnicas de Laboratório. Editora Atheneu, 3ª Edição. 1994.
3. ISO 13528:2005(E) – Statistical Methods for use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons. Annex C (normative) – Robust Analysis.
4. Biasoli V. e colaboradores. Desempenho de Sistemas Abertos e Fechados a Partir de Dados de Ensaio de Proficiência. Trabalho apresentado no 43º CBPC/ML. 2009.
5. Valter T. Mota. Bioquímica Clínica: Princípios e Interpretações. Editora Medbook. 5ª edição. 2009.