



MUCOPROTEÍNAS

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:

Winzler modificado.

FINALIDADE:

Reagentes para a determinação de mucoproteína em amostras de soro humano. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

O HClO₄ precipita proteínas séricas e as mucoproteínas permanecem no sobrenadante. Na presença de 24WO₃.2H₃PO₄*48H₂O ocorre precipitação das mucoproteínas. Em pH alcalino as mucoproteínas são redissolvidas e seu conteúdo de tirosina é então avaliado via reagente Folin-Ciocalteu, desenvolvendo coloração azul, cuja intensidade da cor é proporcional à concentração de mucoproteínas com pico de absorção em 680 nm.

SIGNIFICADO CLÍNICO:

As mucoproteínas são conhecidas como proteínas de fase aguda. Em resposta ao estímulo inflamatório, as mucoproteínas tem sua concentração elevada ou reduzida.

A elevação das mucoproteínas ocorre em diversos processos inflamatórios sépticos, assépticos, agudos, crônicos, localizados ou sistêmicos. Está presente em quadros de tuberculose, diabetes *mellitus*, neoplasias, cirrose hepática, gota, etc. Não existe correlação entre os níveis séricos de mucoproteínas, PCR e antiestreptolisina O.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES:

Conservar entre 15 e 30 °C.

R1 - Ácido Perclórico: Ácido Perclórico 750,0 mmol/L.

R2 - Ácido Fosfotúngstico: Ácido Clorídrico 2,0 mmol/L; Ácido Fosfotúngstico 17,0 mmol/L.

R3 - Carbonato: Carbonato de Sódio 1,9 mmol/L.

R4 - Folin: Tungstato de sódio 300 mmol/L; Molibdato de sódio 100 mmol/L; Ácido fosfórico 800 mmol/L; Ácido Clorídrico 1,25 mol/L; Sulfato de Lítio monohidratado 1,36 mol/L; Bromo 1,25 mol/L.

R5 - Padrão: Solução Ácida de Tirosina 40 mg/dL (Mucoproteína 5 mg/dL).

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando armazenados a temperatura de 15 a 25 °C, bem vedados e se for evitada a contaminação durante o uso.

Os Reagentes R4 e R5, se armazenados entre 2 e 8 °C, são estáveis por um maior período de tempo.

TRANSPORTE:

O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37 °C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado entre 15 e 30 °C e em sua embalagem original.

PREPARO DOS REAGENTES:

Transferir quantitativamente o conteúdo do R3-Carbonato para uma proveta de 250 mL e completar o volume com água destilada e armazenar em frasco plástico. Ler o item precauções e cuidados especiais.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes. Os reagentes R1 e R2 são constituídos por substâncias cáusticas. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;
- Recomendamos a aplicação das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste;
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes;
- O Reagente R3 e o Reagente de Uso devem ser mantidos abertos o menor tempo possível, de forma a evitar sua contaminação pelo CO₂ atmosférico. Não sobre dentro do frasco de reagente R3, pois pode ocorrer contaminação com CO₂ e alteração do pH;
- Quando o valor de mucoproteína é elevado, o filtrado pode se apresentar turvo. Nesse caso deve-se refiltrar o material;
- As condições de centrifugação são mínimas, tempos ou velocidades maiores não interferem nos resultados obtidos;
- **A sequência dos reagentes deve ser criteriosamente observada;**
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, devem-se utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais;
- Não misturar reagentes de lotes diferentes;
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, evitando contaminação cruzada.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro US/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostatizador na temperatura constante de 37°C;
- Cronômetro;
- Centrifuga.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

- SORO

Realizar a separação do soro em no máximo duas horas após sua coleta. A mucoproteína é estável no soro por até 7 dias a temperatura de 15 a 25 °C. Não utilizar plasma; os valores são consideravelmente menores nesse tipo de amostra devido à utilização de anticoagulantes.

INTERFERÊNCIAS

A bilirrubina até 5 mg/dL, lipemia (triglicérides até 250 mg/dL) e hemólise (hemoglobina até 30 mg/dL) não produzem interferências significativas. Amostras com valores acima desses citados produzem resultados falsamente diminuídos.

O uso de papel de filtro altamente retentor é indispensável para a obtenção de resultados precisos.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Observações

- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao dos reagentes nos tubos;
- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos;
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-

se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, amins e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

2. Desproteíntização

Atentar para a ordem de entrada dos reagentes.

Identificar um tubo de ensaio como "D" – DESPROTEINIZADO e proceder da seguinte forma:

REAGENTE	"D" DESPROTEINIZADO
Soro	0,5 mL
R1	2,0 mL
Agitar vigorosamente e aguardar 10 minutos	
Cloreto de sódio 0,9 %	1,25 mL
Agitar e filtrar através de papel de filtro altamente retentor. Recomendamos o uso de Ederol n°4, Green's 807, Toyo n°4, SS-589 ou Whatman n° 50. O filtrado límpido obtido será utilizado na etapa seguinte.	

3. Precipitação

Identificar um tubo de centrifuga como "A" – AMOSTRA e proceder da seguinte forma:

REAGENTE	"A" AMOSTRA
Filtrado	1,5 mL
R2	0,250 mL
Agitar vigorosamente e aguardar 15 minutos; Centrifugar: 2500 a 4000 rpm por 5 minutos e desprezar o sobrenadante.	
R2	0,050 mL
Água	0,250 mL
Agitar para ressuspender o precipitado Centrifugar: 2500 a 4000 rpm por 5 minutos. Desprezar o sobrenadante e verter o tubo em um papel absorvente e aguardar a saída do excesso de líquido. Este tubo será utilizado na próxima etapa.	

4. Colorimetria

Identificar dois tubos de ensaio como "B" – Branco e "P" – Padrão e proceder:

REAGENTE	"B" BRANCO	"A" AMOSTRA	"P" PADRÃO
RGT DE USO	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
R5	----	----	0,025 mL
Agitar vigorosamente o tubo "A" para dissolver o precipitado.			
R4	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL
Agitar imediatamente e incubar a 37°C por 15 minutos; Efetuar as leituras fotométricas em 680 nm ou filtro vermelho, acertando o zero com o tubo "B" – BRANCO. A reação de cor é estável por no mínimo 120 minutos.			

5. Cálculos

- $FC = 5/Ap$
- $Em\ tirosina(mg/dL) = Aa \times FC$

FC = Fator de calibração;
5 = Concentração do padrão;
Ap = Absorbância do padrão;
Aa = Absorbância da amostra;

Exemplo

Ap = 0,243;
Aa = 0,112
FC = 5/Ap
FC = 5/0,243 = 20,576
Em tirosina (mg/dL) = Aa x FC
Em tirosina (mg/dL) = 0,112 x 20,576
Em tirosina = 2,30 mg/dL

Para converter os valores de tirosina em mucoproteína, multiplicar por 23,8.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

1. Linearidade da reação de cor:

A reação de cor é linear até a concentração de 15 mg/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com água destilada e efetuar nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

2. Valores de Referência:

Os valores de referência podem ser expressos em mg/dL de tirosina ou mg/dL de mucoproteínas, cujas faixas são:

- TIROSINA: 1,9 a 4,9 mg/dL
- MUCOPROTEÍNA: 45 a 117 mg/dL

Para converter os valores de tirosina em mucoproteína, multiplicar por 23,8.

Estes valores devem ser utilizados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

3. Comparação de métodos

O kit para a dosagem de mucoproteínas foi comparado com outros kits comercialmente disponíveis. Amostras diversas foram utilizadas na comparação dos testes, dentre essas, soros controle e amostras de pacientes. Os resultados obtidos mostraram boa concordância.

4. Repetibilidade e reprodutibilidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Trinta determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Mucoproteína da VIDA Biotecnologia para a determinação da repetibilidade e 10 determinações por soro controle para a reprodutibilidade. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

4.1 Repetibilidade

Soro Controle	N	MÉDIA	DP	CV%
SC1	30	2,47	0,07	2,83
SC2	30	3,17	0,12	3,78%

4.2 Reprodutibilidade

Soro Controle	N	MÉDIA	DP	CV%
SC1	10	2,51	0,14	5,58%
SC2	10	3,21	0,19	5,92%

5. Controle de qualidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Dez determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Mucoproteína da VIDA Biotecnologia. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

Soro Controle	Valor alvo	Média dos valores obtidos	% de Recuperação
SC1	2,71	2,67	98,5%
SC2	3,12	3,08	98,7%

Todo soro controle com valores determinados para mucoproteínas pelo método Winzler pode ser utilizado.

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

As medidas de redução dos riscos foram implementadas e o produto não apresenta riscos maiores que os benefícios obtidos com o seu uso; e se usado por profissionais qualificados e treinados, cientes das precauções descritas nos produtos, desempenhará suas funções com qualidade, segurança e eficácia.

APRESENTAÇÃO DO KIT

CÓDIGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/510-050	R1 – Ac. Perclórico	1 x 100,0 mL	50
	R2 – Ac. Fosfotúngstico	1 x 16,0 mL	
	R3 – Carbonato	1 x 50,0 mL	
	R4 – Folin	1 x 10,0 mL	
	R5 – Padrão	1 x 2,0 mL	

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Winzler, R.J.: J. Clin Invest. 27, 069, 1948
- 2- Annino JS. Clinical Chemistry. Principles and Procedures, 4ª ed. Little, Brown and Company.
- 3- Henry, T.J.; Clin.Chem. – Principles and Procedures 4ª Ed. Little, Brown and Company.
- 4- Mendes MQ, Lopes HJJ. Atualização em Bioquímica Clínica: Técnicas, Fundamentos e Interpretação de Resultados. Belo Horizonte, MAI Editora, 1973.
- 5- Mota VT. Bioquímica Clínica: Métodos e Interpretações. Porto Alegre, Ed. Médica Missau. 1999.
- 6- Weimer, It.E.: Am. Ver. Tuberc. Pulmonary Diseases 68, 594, 1952.

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR:

A VIDA Biotecnologia garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nessa instrução sejam seguidos corretamente.

Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E DATA DE VALIDADE, VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia LTDA

CNPJ: 11.308.834/0001-85
Avenida José Cândido da Silveira 2100 – Horto Florestal – CEP 31035-536;
Belo Horizonte. Minas Gerais – www.vidabiotecnologia.com.br
Departamento de Serviços Associados | (31)34663351;
dsa@vidabiotecnologia.com.br
Responsável Técnico: Renato Silva CRBIO4 – 57360/04-D
Reg. M.S. 80785070003
Rev.: 01/2022

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Número de catálogo
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Data de Fabricação (mm/aaaa)
	Número de Lote