

Bioclin

MUCOPROTEÍNAS K028

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação das Mucoproteínas. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Winzler Modificado.

As proteínas se precipitam em solução de Ácido perclórico (Reagente N° 1), resultando uma fração glicoprotéica denominada seromucóide ou Mucoproteínas. Estas são precipitadas no filtrado com Ácido fosfotúngstico (Reagente N° 2), posteriormente dissolvidas e dosadas através do conteúdo em Tirosina com o Reagente de Folin. A coloração azul desenvolvida é proporcional à concentração de Mucoproteínas presentes na amostra.

REAGENTES

Número 1 - Ácido perclórico - conservar entre 15 e 30°C. Contém: Ácido perclórico 2 mol/L.

Número 2 - Ácido fosfotúngstico - conservar entre 15 e 30°C. Após o uso, fechar o frasco para evitar contaminação com CO₂ do ar. Contém: Ácido fosfotúngstico 15 mmol/L.

Número 3 - Carbonato de sódio Estoque - conservar entre 15 e 30°C. Contém: Carbonato de sódio 1,8 mol/L.

Número 4 - Reagente de Folin - conservar entre 15 e 30°C. Contém: Tungstato de sódio 300 mmol/L, Molibdato de sódio 100 mmol/L, Ácido fosfórico 500 mmol/L, Ácido clorídrico 1 mol/L e Sulfato de Lítio 1,2 mol/L.

Número 5 - Padrão - conservar entre 15 e 30°C. Após o manuseio é aconselhável manter entre 2 e 8°C para evitar evaporação. Contém: Tirosina 40 mg/dL (5 mg/dL mucoproteínas).

APRESENTAÇÃO

| Reagentes | Volume | |
|---------------|--------|--------|
| Embalagem | K028-1 | K028-2 |
| Reagente N° 1 | 75 mL | 300 mL |
| Reagente N° 2 | 23 mL | 90 mL |
| Reagente N° 3 | 50 mL | 200 mL |
| Reagente N° 4 | 10 mL | 40 mL |
| Reagente N° 5 | 2 mL | 8 mL |

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, banho-maria 37 °C, relógio ou cronômetro, funil, papel de filtro altamente retentor (Whatman N° 50, Toyo N° 4, Green S 807 ou SS 589 faixa azul), pipetas, tubos de ensaio. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser de 15 a 30°C. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;

2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;

3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;

4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, ions diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados;

5 - O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio;

6 - O filtrado da desproteinização deve ser límpido. Para isto utilizar o papel de filtro recomendado. No caso de elevada concentração de Mucoproteínas, se o filtrado apresentar turvação, filtrá-lo novamente;

7 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente.

AMOSTRAS

Soro obtido livre de hemólise. O analito é estável 07 dias entre 2 e 8°C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DO CARBONATO DE SÓDIO DE USO:

Embalagem Normal

Transferir 50 mL do Reagente N° 3 (Carbonato de sódio Estoque) para um balão volumétrico de 250 mL. Completar o volume com água destilada ou deionizada e homogeneizar. Armazenar em um frasco plástico. O reagente é estável 06 meses em temperaturas entre 15 e 30 °C.

Embalagem Especial

Transferir 200 mL do Reagente N° 3 (Carbonato de sódio Estoque) para um balão volumétrico de 1000 mL. Completar o volume com água destilada ou deionizada e homogeneizar. Armazenar em um frasco plástico. O reagente é estável 06 meses em temperaturas entre 15 e 30 °C.

DESPROTEINIZAÇÃO

Em tubo de ensaio 18x180, marcado com a letra "A" (Amostra) adicionar:

| | |
|-----------------------------|--------|
| 1 - Cloruro de sódio 0,85 % | 6,0 mL |
| 2 - Soro | 1,0 mL |
| 3 - Reagente N° 1 | 3,0 mL |

Agitar no vortex fortemente por 2 minutos exatos e filtrar através de papel de filtro altamente retentor (Whatman N° 50, Toyo N° 4, Green S 807 ou SS 589 faixa azul).

PRECIPITAÇÃO DAS MUCOPROTEÍNAS

Em tubo de centrifuga marcado com a letra "A" (Amostra), adicionar:

| | |
|-------------------|--------|
| 1 - Filtrado | 4,0 mL |
| 2 - Reagente N° 2 | 0,8 mL |

Agitar e deixar em repouso durante 10 minutos. Centrifugar a 2.500 - 4.000 rpm por 5 minutos. Desprezar todo o sobrenadante. Verter o tubo sobre um papel absorvente, deixar em repouso por 10 minutos para drenar todo o excesso de líquido. Este tubo da amostra será utilizado na Colorimetria.

COLORIMETRIA

| | Branco | Padrão | Amostra |
|------------------|--------|--------|---------|
| Reagente N° 5 | --- | 50 µL | --- |
| Carbonato de Uso | 5,0 mL | 5,0 mL | 5,0 mL |

Agitar o tubo "A" (Amostra) para dissolver o precipitado. Em seguida adicionar:

| | | | |
|---------------|--------|--------|--------|
| Reagente N° 4 | 200 µL | 200 µL | 200 µL |
|---------------|--------|--------|--------|

Agitar imediatamente os tubos e colocá-los em banho-maria a 37 °C por 15 minutos. Determinar as absorvâncias em 680 nm (640 a 700), acertando o zero com o tubo "B" (Branco). A reação de cor é estável por 2 horas.

DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS

Mucoproteínas (mg/dL) = $\frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 5$
em fração tirosina

Como a reação de cor segue a lei de Lambert Beer, pode-se usar o Fator de calibração:

Fator de calibração = $\frac{\text{Concentração do padrão (5mg/dL)}}{\text{Absorbância do padrão}}$

Mucoproteínas (mg/dL) em fração tirosina = Absorbância da amostra x Fator de calibração

Para calcular o valor em Mucoproteínas totais, multiplicar o resultado obtido em Fração tirosina por 23,8.

A reação é linear até a concentração de 15 mg/dL. Para valores maiores, diluir o filtrado (1:2 ou 1:3) com água destilada ou deionizada. Efetuar nova dosagem e multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

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

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em mg/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação das Mucoproteínas em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Mucoproteínas fração Tirosina : 2,4 a 4,5 mg/dL

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

DESEMPENHO DO PRODUTO

Exatidão

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O Kit Mucoproteínas foi comparado com outro método para dosagem de Mucoproteínas, comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $y = 1,006x - 0,020$, com coeficiente de correlação linear igual a 0,992. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETIBILIDADE

Foram realizadas 20 dosagens sucessivas de três amostras com concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

| | Amostra 1 | Amostra 2 | Amostra 3 |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Concentração (mg/dL) | 2,13 | 3,41 | 4,69 |
| Desvio Padrão (mg/dL) | 0,07 | 0,09 | 0,08 |
| Coefficiente de Variação (%) | 3,08 | 2,50 | 1,68 |

REPRODUTIBILIDADE

Foram realizadas 20 dosagens, durante três dias consecutivos, com três amostras de concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

| | Amostra 1 | Amostra 2 | Amostra 3 |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Concentração (mg/dL) | 2,11 | 3,41 | 4,71 |
| Desvio Padrão (mg/dL) | 0,02 | 0,01 | 0,02 |
| Coefficiente de Variação (%) | 0,99 | 0,29 | 0,32 |

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de Colesterol HDL. A média encontrada foi 0,015 mg/dL, com desvio padrão de 0,001 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 0,017 mg/dL.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

As Mucoproteínas são conhecidas como Proteínas de fase aguda. Elevam-se consideravelmente nos processos inflamatórios agudos e são um importante índice da atividade reumática, pois se mantêm elevadas, quando outras provas já se normalizaram.

Valores aumentados são observados na tuberculose, doenças do colágeno, diabetes mellitus, febre reumática, gota e neoplasias.

Valores diminuídos são observados nas nefroses, insuficiência adrenocortical, hipofisária e hepática.

NÚMERO DE TESTES

K 028-1.....25 Testes/1 mL de amostra
50 Testes/500 µL de amostra
K 028-2.....100 Testes/1 mL de amostra
200 Testes/500 µL de amostra

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- WINZLER, R. J.; DEVOR, A. W.; MEHL, J. W. and SMYTH, I. M.: J. Clin. Invest. 27:609, 1948.
- Weimer, H. E.; MOSHIN, J. R., Am. Ver. Tuberc. Pulmonary Diseases, 68:594, 1952.
- WINZLER, R. J., Methods of Biochemical Analysis, Vol. 2 nd. D. Glick, Interscience, N. Y., p.279, 1955.
- TONKES, D. B., Chem, 9:217, 1963.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

DADOS DO FABRICANTE

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax: (31) 3439.5455
e-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente Tel.: 0800 0315454.
e-mail: sac@bioclin.com.br
Número de registro do kit Mucoproteínas na ANVISA: 10269360100.

Revisão: Julho/11