

**Método**

Turbidimetria de alta sensibilidade.

**Finalidade**

Reagentes para a determinação quantitativa da Proteína C Reativa (PCR) no soro por turbidimetria.

**Somente para uso diagnóstico in vitro.**

**Princípio**

A Proteína C Reativa (PCR-HS) sérica provoca uma aglutinação das partículas de latex cobertas com anticorpos anti-proteína C reativa humana. A aglutinação das partículas de latex é proporcional à concentração de PCR e pode ser quantificada por turbidimetria.

**Significado Clínico**

A Proteína C Reativa (PCR-HS), sintetizada no fígado, é um dos marcadores de fase aguda mais sensível. A PCR ativa a via clássica do complemento em resposta à reação inflamatória. Os níveis no soro aumentam enormemente em infartos de miocárdio, traumatismos, infecções, inflamações, intervenções cirúrgicas e em processos neoplásicos. O aumento da PCR quando é 2000 vezes superior ao normal produz-se, nas primeiras 24-48 horas, ainda que esse dito aumento não seja específico. Embora tradicionalmente a PCR tem sido utilizada para controlar ou detectar processos inflamatórios agudos, nos diferentes estudos foram manifestadas elevações da sua concentração dentro do intervalo de referência convencional. Nestes estudos ficou demonstrada a utilidade da PCR de alta sensibilidade (PCR-HS) como fator independente na predição do risco nas doenças cardíacas e vasculares. Concentrações maiores de 10 mg/L, geralmente manifestam a existência de outro tipo de processo inflamatório. O diagnóstico clínico não se deve realizar tendo em conta o resultado de um único teste, mas deve integrar-se nos dados clínicos e de laboratório.

**Reagentes**

**Reagente nº 1 – Tampão:** Contém tampão glicina 100 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L, pH 8,6.

**Reagente nº 2 – Látex:** Contém suspensão de partículas de latex sensibilizadas com anticorpos anti-PCR humana e azida sódica 14,6 mmol/L.

**Reagente nº 3 – Calibrador:** Contém soro humano liofilizado. O valor de concentração do Calibrador é rastreável a material de Referência BCR 470 (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM).

**Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte**

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto e na embalagem externa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evitado a contaminação durante o uso. A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. Os produtos não deverão exceder as temperaturas entre 2 e 30°C por até 120 horas (5 dias) para fins de transporte. **Não congelar.**

**Cuidados Especiais e Precauções**

- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- O Tampão (1) e o Látex (2) contêm azida sódica que é tóxica e irritante para pele e mucosas.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em [www.bioanalitica.com.br](http://www.bioanalitica.com.br) ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não utilizar os reagentes com presença de partículas, turvação, absorbância do branco superior a 0,900 a 540 nm.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.
- Usar pipetas de vidro e ponteiras descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.

**Materiais Necessários e Não Fornecidos**

- Analizador bioquímico automático, semiautomático ou espectrofotômetro;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiras, estantes;
- Tubos de ensaio;

- Cronômetro;
- Banho-maria.

**Amostra**

Soro. A PCR no soro é estável 7 dias entre 2 a 8°C, quando livres de contaminação.

Para descarte dos reagentes e materiais biológicos deve-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

**Interferências e Limitações**

A lipemia (triglicerídeos 10 g/L) e a hemólise (hemoglobina 10 g/L) não interferem. A bilirrubina (>10 mg/dL) e o fator reumatoide (>75 IU/mL) podem interferir. Outros medicamentos e substâncias podem interferir.

**Preparação dos Reagentes**

Reconstituir o R3 Calibrador com 1,0 mL de água destilada ou deionizada. Estável por um mês entre 2 a 8°C.

Reagente de Trabalho: Esvaziar o conteúdo de um frasco de R2 Látex em um frasco de R1 Tampão. Homogeneizar. Estável 60 dias entre 2 a 8°C. Se desejar preparar volumes menores, misturar na proporção: 1 mL de R2 Látex + 4 mL de R1 Tampão. Agitar o R2 Látex antes de pipetar.

**Procedimento Técnico**
**Equipamentos Automáticos**

Para determinação em equipamento automático, verificar no site [www.bioanalitica.com.br](http://www.bioanalitica.com.br).

- Pré-aquecer o Reagente de Trabalho e o equipamento a 37°C.
- Ajustar o espectrofotômetro a zero contra a água destilada.
- Pipetar nas cubetas ou tubos de ensaio.

Reagente de Trabalho	1000 µL
Amostra / Calibrador / Água (Branco)	5 µL

- Misturar e inserir a cubeta no equipamento. Acionar o cronômetro.
- Ler a absorbância a 540 nm aos 10 segundos (A1) e aos 5 minutos (A2).

**Curva de Calibração**

Preparar diluições do Calibrador empregando solução salina 9 g/L como diluente. Multiplicar a concentração do Calibrador de PCR-HS pelo fator correspondente indicado na tabela, para obter a concentração de PCR-HS das diluições.

DILUIÇÃO	1	2	3	4	5
Calibrador (µL)	30	60	120	180	240
Solução Salina (µL)	210	180	120	60	-
Fator	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0

**Calibração**

Curva de calibração: Calcular a diferença de absorbâncias ( $A_2 - A_1$ ) de cada ponto da curva de calibração e representar os valores achados contra as concentrações de PCR-HS.

A concentração de PCR-HS na amostra calcula-se por interpolação da sua diferença de absorbâncias ( $A_2 - A_1$ ) na curva de calibração.

Recomenda-se fazer a calibração, pelo menos, a cada 2 meses, depois de uma mudança do lote de reagente ou quando os procedimentos de controle de qualidade o exigirem.

**Características do Desempenho**
**Comparação de Métodos**

Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com reagentes de referência.

**Sensibilidade**

Uma amostra não contendo PCR, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média e o desvio padrão foram calculados a partir de 20 determinações. A sensibilidade que indica o limite de detecção do método é 0,06 mg/L.

**Linearidade**

A reação é linear até 15 mg/L. Para amostras com valores acima de 15 mg/L, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 150 mmol/L (0,85%), repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

**Repetitividade**

Concentração média	CV	n
1,4 mg/L	1,8 %	20
7,2 mg/L	1,5 %	20

**Reprodutibilidade**

Concentração média	CV	n
1,4 mg/L	3,6 %	25
7,2 mg/L	3,0 %	25

**Efeito Prozona**

A técnica não apresenta efeito prozona a concentrações < 500 mg/L.

**Valores de Referência**

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Homens	
5 – 13 anos	< 1,45 mg/L
14 – 18 anos	< 2,13 mg/L
19 – 39 anos	< 2,68 mg/L
40 – 49 anos	< 4,80 mg/L
50 – 64 anos	< 7,90 mg/L
65 – 99 anos	< 6,80 mg/L

Mulheres	
5 – 18 anos	< 1,90 mg/L
19 – 49 anos	< 3,33 mg/L
50 – 64 anos	< 8,50 mg/L
65 – 99 anos	< 6,60 mg/L

**Controle Interno da Qualidade**

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

**Observações**

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.

- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megaohms/cm ou condutividade < 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megahoms ou condutividade < 10 microsiemens.

No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

**Referências Bibliográficas**

1. Price CP, Trull AK, Berry D, Gorman EG. Development and validation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay for C-reactive protein. J Immunol Methods 1987; 99: 205-211.
2. Chenillot O, Henny J, Steinmetz J, Herbeth B, Wagner C, Siest G. High-sensitivity C-reactive protein: biological variations and reference limits. Clin Chem Lab Med 2000; 38: 1003-11.
3. Herbeth B, Siest G, Henny J. High-sensitivity C-reactive protein (CRP) reference intervals in the elderly. Clin Chem Lab Med 2001; 39: 1169-70.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
6. Roberts WL, Sedrick R, Moulton L, Spencer A, Rifai N. Evaluation of four automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Clin Chem 2000; 46: 461-8.
7. Roberts WL, Moulton L, Law TC, Farrow G, Cooper-Anderson M, Savory J, Rifai N. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. Clin Chem 2001; 47: 418-25.
- 8 - Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

**Termos e Condições de Garantia**

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

**Apresentações**

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2	Reagente 3
BA328-50	50 mL	1 x 40 mL	1 x 10 mL	1 x 1 mL

**Bioanalítica Diagnóstica Ltda**

Rua Álvares da Silva, 12 - União

CEP: 31160-360 – Belo Horizonte MG - Brasil

Tel. +55 31 3657-0051

[www.bioanalitica.com.br](http://www.bioanalitica.com.br)

E-mail: [bioanalitica@bioanalitica.com.br](mailto:bioanalitica@bioanalitica.com.br)

CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira

SAC: 0800 006 8111

E-mail: [sac@bioanalitica.com.br](mailto:sac@bioanalitica.com.br)

Revisão: Agosto / 2021.