

#### 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 látex cobertas com anticorpos anti-proteína C reativa humana. A aglutinação das partículas de látex 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 látex 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) contém azida sódica que é tóxica e irritante para pele e mucosa.
- 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 ponteiros 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

- Analisador bioquímico automático, semiautomático ou espectrofotômetro;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiros, 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).

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

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

4. Misturar e inserir a cubeta no equipamento. Acionar o cronômetro.
5. 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		Mulheres	
5 – 13 anos	< 1,45 mg/L	5 – 18 anos	< 1,90 mg/L
14 – 18 anos	< 2,13 mg/L	19 – 49 anos	< 3,33 mg/L
19 – 39 anos	< 2,68 mg/L	50 – 64 anos	< 8,50 mg/L
40 – 49 anos	< 4,80 mg/L	65 – 99 anos	< 6,60 mg/L
50 – 64 anos	< 7,90 mg/L		
65 – 99 anos	< 6,80 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

- 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.
- 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.
- 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.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
- 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.
- 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.
- 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  
E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br  
CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira  
SAC: 0800 006 8111  
E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Agosto / 2021.