USO

Reagente utilizado na determinação quantitativa da Proteínas C Reativa (PCR) no soro humano por imunoturbidimetria em níveis de ultrasensibilidade. Somente para uso diagnóstico "*in vitro*"

PRINCÍPIO

A turbidimetria baseia-se na detecção ótica de partículas muito pequenas suspensas em líquido. Quando o anticorpo anti-proteínas C-reativa humana que reveste as partículas de látex reage com a PCR presente na amostra, formam-se os imunocomplexos que provocam a aglutinação e induzem uma turbidez, medida por espectofotometria a 540nm. Essa turbidez é diretamente proporcional à concentração da Proteínas C Reativa da amostra.

AMOSTRA

É recomendado soro livre de hemólise. A Proteína C Reativa é estável no soro por 2 dias se for refrigerado entre 2 - 8º C. Para períodos mais prolongados congelar a amostra (-20ºC) por no máximo 3 meses (congelar somente uma vez). Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

PRODUTO UTILIZADO - APRESENTAÇÃO

Linha Automação : R1 = 1 x 40mL
Cód.1044 e 10044 R2 = 1 x 10mL
Calibrador = 1 x 5,0mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2574-7110 | 0800 500 2424 ou sac@ebram.com ou www.ebram.com.

EQUIPAMENTOS

- **Procedimento Manual**
  Espectrofotômetro ou fotômetro com cubeta termostatizada 37ºC para leituras a 540 nm
  Cubetas ou fluxo contínuo com 1.0 cm de passo óptico
  Banho-Maria 37ºC
  Pipetas calibradas ou dispensador automático para reagentes e amostras

- **Procedimento Automatizado**
  Indicar o nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento analisador automatizado, fazendo referência ao manual (ou POP) para utilização do mesmo.

- **Procedimento alternativo**
  Indicar o equipamento alternativo e os respectivos procedimentos para medição dos ensaios. Enumerar as diferenças esperadas quando procedimentos manuais substituem automatizados.

CONTROLE DE QUALIDADE

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição.

PROCEDIMENTO

- **Procedimento Manual**
  1. Preparar o reagente de trabalho na forma monoreagente: 4mL do reagente1 + 1mL do reagente2.
  2. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Água Destilada	5µL	-	-
Padrão	-	5µL	-
Amostra/S.C.	-	-	5µL
Reagente de Trabalho	1,0mL	1,0mL	1,0mL

3. Homogeneizar os tubos e deixar em Banho-Maria (BM) 37ºC por 5 minutos.O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.
4. Zerar o aparelho com o branco do reagente a 540 (520 - 560nm), proceder as leituras registrando as absorbâncias do padrão, amostra e soro controle (S.C.).
* Soros fortemente lipêmicos exigem um branco de amostra. Adicione 0.01 mL(10µL) de amostra a 1.0mL de solução salina, homogeneizar e ler a absorbância contra o branco do reagente. Subtraia este valor da absorbância do paciente para obter a leitura corrigida.

- **Procedimento Automatizado**

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento (dependendo do analisador utiliza-se técnica monoreagente ou bireagente) e instruções de uso do reagente
Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual até o item 3 (incubação), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

- **Precauções e cuidados especiais**

-Este reagente deve ser usado somente para uso diagnóstico "*in vitro*".
-Os produtos de origem humana foram testados e estão livres de HBsAg e anticorpos para HCV e HIV, porém este material deve ser tratado cuidadosamente como potencialmente infeccioso.
-Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.
-O reagente contém azida sódica como conservante. Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.
-Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos.
-A presença de umidade pode deteriorar o padrão.
-Não usar se a absorbância do branco estiver superior que 0.900 quando medido em 540 nm ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

CÁLCULOS

(Abs.=Absorbância)
(Conc. = Concentração)

$$\text{PCRUS da Amostra (mg/L)} = \frac{\text{Abs. Amostra}}{\text{Abs. Calibrador}} \times \text{Conc.do Calibrador (mg/L)}$$

RESULTADOS

Homens		Mulher
5 - 13 anos = < 1,45 mg/L	50 - 64 anos = < 7,90 mg/L	5 - 18 anos = < 1,90 mg/L
14 - 18 anos = < 2,13 mg/L	65 - 99 anos = < 6,80 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

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

  Quando executado de acordo com o recomendado o teste é linear até 15 mg/L. Valores superiores, diluir a amostra com solução salina, repetir a medição e multiplicar o resultado pela fator de diluição. A linearidade pode variar consideralvelmente dependendo do instrumento utilizado. O limite da linearidade depende da relação de amostra/reagente. Aumenta reduzindo o volume da amostra, enquanto que a sensibilidade do ensaio diminuirá proporcionalmente.
  Sensibilidade: 0,05 mg/L

- **Interferências**:
  A lipemia (Triglicérides até 1000 mg/dL), a bilirrubina até 10 mg/dL, a hemólise (hemoglobina até 10 g/L) e o fator reumatóide até 75 Ul/mL não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da proteína C reativa, sugerimos consultar Young et al.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A proteína C-reativa (PCR) é um marcador de fase aguda que se eleva especialmente em processos inflamatórios e infecciosos. Dentre os novos marcadores cardíacos, é considerado um dos mais importantes. Trata-se da proteína que indica a inflamação dos vasos sanguíneos, causada pelo acúmulo de gordura nas artérias. Estudos recentes mostraram que mesmo um discreto aumento da PCR é um fator de risco cardiovascular independente de outros já conhecidos, como os níveis de colesterol total e frações, apolipoproteína B-100 e homocisteína. Na avaliação de risco de doença cardiovascular, valores de PCR inferiores a 3 mg/L são considerados satisfatórios, enquanto que níveis elevados se associam a maior risco cardiovascular. Esse fato está de acordo com as evidências recentes de que, ao menos parcialmente, a aterosclerose é uma doença inflamatória. A dosagem da PCR por método ultra-sensível pode contribuir tanto para a identificação de indivíduos assintomáticos com risco de doença cardiovascular por aterosclerose, como para o acompanhamento de pacientes que já tenham doença cardiovascular.

REFERÊNCIAS

1.Bergstrom, K. & Lefvert, A.K. Scand.J.clin.Lab.Invest. 40 (1980) 637.
2.Tietz Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, Philadelphia, (1994).
3.Roitt, I., Essential Immunology, Blackwell, Oxford, (1991).
4.Dati, F et al., Lab. Med. 13, 87 (1989).
5.Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Testes, Third Edition, AACC Press 1990.
6.Watchel M et al. Creation and Verification of Reference Intervals, Laboratory Medicine, 1996; 26:593-7.
7. Arquivos da Ebram.