



TURB - PCR ULTRA-SENSÍVEL

Imunoturbidimetria

REG. MS: 10159820056

EGRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho
São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811
CEP 03059-001 | Indústria Brasileira
CNPJ: 50.657.402/0001-31

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**

0800 500 2424 ou 11 2574 7110

sac@ebram.com | www.ebram.com

Revisão: Maio/2022

FINALIDADE. 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 espectrofotometria a 540nm. Essa turbidez é diretamente proporcional à concentração da Proteínas C Reativa da amostra.

METODOLOGIA. Imunoturbidimetria

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.

REAGENTES.

R1: Diluente - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: tampão glicina 0,1 mol/L, azida sódica 0,95 g/L, pH 8,6.
R2: Látex - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: suspensão de partículas de látex sensibilizadas com e anticorpos anti-PCR humana, azida sódica 0,95 g/L.

Calibrador: Soro humano liofilizado - Conservar entre 2 e 8°C. A concentração de proteína C-reativa vem indicada no rótulo do frasco. Após reconstituir com 5,0mL de água destilada o calibrador é estável por 30 dias armazenado entre 2 - 8°C. O valor de concentração é rastreável ao material de Referência Certificado ERM-DA472/IFCC (Institute for Reference Materials and Measurements,IRMM)

O soro humano utilizado na preparação do padrão é negativo para o antígeno HBs e para anticorpos anti-HCV e anti-HIV. No entanto, o calibrador deve ser tratado com precaução como potencialmente infeccioso. Sugerimos seguir as normas estabelecidas de Biossegurança.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

* Preparo dos Reagentes

Para alguns analisadores utilizamos um reagente de trabalho (verificar a programação do equipamento que será utilizado): Esvaziar o conteúdo de um frasco do Reagente 2 num frasco do Reagente 1. Homogeneizar. Estável 20 dias a 2 - 8°C.

Se desejar preparar volumes menores, misturar na proporção: 1mL do reagente 2 + 4mL do reagente 1.

Padrão: Reconstituir o liofilizado com 5,0 mL de água destilada. Estável 1 mês a 2 - 8°C.

Nota 1: Homogeneizar o Reagente 2 com suavidade antes de vertê- lo no frasco de Reagente 1. É conveniente lavar o frasco do Reagente 2 com uma pequena quantidade da mistura preparada, com o propósito de arrastar os restos que ficaram nas paredes do frasco.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS REQUERIDOS.

- 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 (convertido para 1,0 cm de espaço ótico) quando medido em 540 nm ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO.

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C.
- Espectrofotômetro ou fotômetro capaz de medir absorbância em 540 nm (520 - 560nm).
- Tubo de ensaio e pipetas de vidro e/ou automáticas.
- Água destilada/deionizada.
- Soros controle.
- Cronômetro.

AMOSTRA. É recomendado soro livre de hemólise. A Proteína C Reativa é estável no soro por 7 dias se for refrigerado entre 2 - 8°C. Para períodos mais prolongados congelar a amostra (-20°C) 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.

PREPARO DO PACIENTE. É recomendado um jejum de 8 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

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 UI/mL não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da proteína C reativa, sugerimos consultar Young et al.

PARÂMETROS DO SISTEMA:

Temperatura	37°C
Comprimento de Onda	540 nm (520 - 560nm)
Tipo de Reação	Ponto final
Direção	Crescente
Vol. Amostra	5 µL
Vol. Reagente	1,0 mL
Tempo de Incubação	5 minutos

CALIBRAÇÃO. Utilizar calibrador específico para Proteína C Reativa Ultra-sensível que acompanha o Kit.

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, segundo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

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	5 µL	-	-
Padrão	-	5 µL	-
Amostra S/C		-	5 µL
Reagente de Trabalho	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

3. Homogeneizar os tubos e deixar em Banho-Maria (BM) 37°C 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.

CÁLCULOS.

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

(Δ Abs. /min = A2 - A1)

$$\text{PCRUS da amostra (mg/L)} = \frac{\Delta \text{Abs. /min (amostra)}}{\Delta \text{Abs. /min (calibrador)}} \times \text{Conc. do calibrador (mg/L)}$$

EXEMPLO:

Abs. amostra = 0,1254

Abs. padrão = 0,3822

Conc. padrão = 12,9 mg/L

$$\text{PCRUS da amostra (mg/L)} = \frac{0,1254}{0,3822} \times 12,9 = 4,23 \text{ mg/L}$$

LINEARIDADE. Quando executado de acordo com o recomendado o teste é linear até 15 mg/L. Valores superiores, diluir a amostra com água destilada, repetir a medição e multiplicar o resultado pela fator de diluição. A linearidade pode variar consideravelmente 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.

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. Aconselhamos o uso dos Soros Controle PCR-ULTRA Nível I e Nível II Ebram cód. 1045 e 1046.

VALORES ESPERADOS. Para avaliação de risco de eventos coronarianos, os valores desejáveis foram determinados a partir de dados epidemiológicos com o objetivo de estabelecer a concentração de PCR como um fator de risco (independente) para eventos coronarianos. Os valores de referência estão demonstrados abaixo de forma geral e de forma detalhada, respectivamente:

Baixo → PCR inferior a 1,0mg/L

Moderado → PCR de 1,0 a 3,0 mg/L

Alto → PCR superior a 3,0mg/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

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

Para avaliação de processo inflamatório em evolução, os valores esperados é <5mg/L para pacientes adultos, <2,8mg/L para pacientes entre 2 meses e 15 anos e <4,1mg/L para pacientes recém nascidos com menos de 21 dias."

ESTUDOS COMPARATIVOS.

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia de turbidimetria similar nos proporcionou os seguintes resultados estatísticos: $y = 0,9973x + 0,015169$; $r^2 = 0,9945$.

PRECISÃO.

* Intra Ensaio - Repetibilidade

A concentração da PCR (mg/L) de uma amostra de soro desconhecida foi medida 20 vezes e o coeficiente da variação determinada.

Analizador	n	Média	C.V.
Cobas Mira	20	1,4	1,8%
Cobas Mira	20	7,2	1,5%

EXATIDÃO.

* Inter Ensaio - Reprodutibilidade

Analizador	n	Média	C.V.
Hitachi	25	1,4	3,6
Cobas Mira	25	7,2	3,0

SENSIBILIDADE METODOLÓGICA. 0,06 mg/L

ESPECIFICIDADE. Nos estudos comparativos realizados apresentamos dados determinados em um analisador. A comparação com soros controles já validados mostrou uma especificidade analítica adequada.

OBSERVAÇÕES.

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥ 1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L (água tipo II). Para o enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II.

APRESENTAÇÃO.

R1=1x40mL+R2=1x10mL+Calibrador=1x5,0mL

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.

1. Herbeth B, Siest G, Henny J. High-sensitivity C- reactive protein (CRP) reference intervals in the elderly. Clin Chem Lab Med 2011; 39: 1169-70
2. 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 3.Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
3. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. Circulation, 2003, 107:499-511.
4. Arquivos Ebram

SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		REAGENTE		FABRICADO POR
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES		DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)		NÚMERO DO LOTE
	LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)		PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		NÚMERO DO CATÁLOGO