

CRP-HS

MÉTODO:

Turbidimetria de alta sensibilidade.

QUALIFICAÇÕES DO MÉTODO:

O sistema CRP-HS TURBIDIMÉTRICO da In Vitro Diagnóstica é um ensaio quantitativo de alta sensibilidade para a dosagem da proteína C Reativa (PCR) com aplicação importante no diagnóstico de aterosclerose e infarto do miocárdio.

FINALIDADE:

Reagentes para a determinação quantitativa da Proteína C Reativa (PCR) no soro por metodologia de alta sensibilidade. Somente para uso diagnóstico *in vitro*. Uso profissional. Uso em laboratórios de patologia e análises clínicas.

FUNDAMENTO:

O teste baseia-se na aglutinação das partículas de látex recobertas com anticorpos anti-PCR humana quando misturadas com soro de pacientes contendo PCR. A concentração de PCR na amostra é diretamente proporcional à aglutinação obtida, que é medida por turbidimetria.

SIGNIFICADO CLÍNICO:

Proteína C-Reativa (PCR) é uma proteína de fase aguda, cujos níveis séricos aumentam acentuadamente logo após ocorrer uma agressão ao organismo. A PCR ativa a via clássica do complemento em resposta à reação inflamatória.

De uma maneira geral, é empregada como marcador de processos infecciosos ou inflamatórios. Como a sua vida média é curta, os níveis séricos caem rapidamente quando o processo inflamatório diminui.

Valores bastante altos são encontrados nos diversos processos infecciosos e inflamatórios, na artrite reumatóide, poliartrite, vasculite sistêmica, polimialgia reumática, infarto do miocárdio, intervenções cirúrgicas e nos processos neoplásicos. Mais recentemente, foi evidenciado que a aterosclerose possui um componente inflamatório que pode ser caracterizado por elevações discretas, porém constantes da PCR. Essas pequenas elevações de PCR estão relacionadas com o risco de ocorrer episódios agudos de ruptura da placa aterosclerótica e, em consequência, infarto do miocárdio.

A partir desta constatação, a dosagem da PCR por metodologia de alta sensibilidade passou a ser extremamente importante como fator independente da avaliação do risco de doenças cardíacas e vasculares.

A determinação da PCR de alta sensibilidade (PCR-AS) é portanto, um indicador sensível de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral (AVC), doenças arteriais periféricas, morte cardíaca súbita e isquemia recorrente.

A III Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e de Prevenção da Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia recomenda que a dosagem da PCR-AS seja empregada na estratificação do risco de eventos coronarianos. Entretanto, a mesma não deve ser utilizada para fumantes, obesos, diabéticos, portadores de osteoartrite, mulheres sob terapia de reposição hormonal, pessoas em uso de anti-inflamatórios ou com infecções.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 - 8°C.

BUF – Tampão: Tampão de glicina 100 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L, pH 8,6.

RGT – Látex CRP-HS: Suspensão de partículas de látex sensibilizadas com anticorpos anti-PCR humana e azida sódica 14,6 mmol/L.

CAL – Calibrador CRP-HS: Soro humano liofilizado. A concentração de PCR vem indicada no rótulo do frasco. O valor de concentração do Padrão é rastreável a material de Referência BCR 470 (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM).

PREPARO DOS REAGENTES E ESTABILIDADE:

Calibrador CRP-HS: Reconstituir o **CAL** liofilizado com 5,0 mL de água destilada ou deionizada. Estável por 1 mês entre 2 - 8°C.

Reagente de Trabalho: Misturar os reagentes na seguinte proporção: 4 mL de Tampão **BUF** + 1 mL de Látex CRP-HS **RGT**. Estável por 20 dias entre 2-8°C.

Atenção: Homogeneizar bem o Látex CRP-HS antes do uso.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa, quando conservados bem vedados na temperatura recomendada e se evite a contaminação durante o uso.

Sinais de Deterioração dos Reagentes

Calibrador: Presença de umidade.

Reagentes: Absorção do Reagente de Trabalho superior a 0,900 em 540 nm.

TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 7 dias e em uma temperatura de até 37°C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.
- O Látex CRP-HS RGT e o Tampão BUF contém azida sódica como conservante. Evitar contato com os olhos e mucosas. Não aspirar ou ingerir.
- Embora, contendo azida sódica como preservativo, todo cuidado deve ser tomado para evitar contaminação bacteriana.
- O Calibrador CRP-HS CAL, derivado de sangue humano, foi testado para anticorpos anti-HCV e anti-HIV e antígeno HBsAg e apresentou resultados negativos. No entanto,

deve ser tratado com precaução, como potencialmente infectante. Manusear e descartar segundo as normas de biossegurança.

- Todo o material contaminado deve ser autoclavado por 1 hora a 120°C ou deixado em solução de hipoclorito de sódio a 10% por 1 hora.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.
- Recomendamos o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) como avental, óculos de segurança, luvas descartáveis e outros que se fizerem necessários para a realização do teste.
- Não deve ser utilizada a boca para pipetagem de reagentes, amostra ou qualquer outra substância.
- Em caso de acidentes tomar as medidas cabíveis de primeiros socorros.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Tubos e pipetas;
- NaCl 0,9 g%;
- Cronômetro;
- Banho-Maria a 37°C;
- Espectrofotômetro (leitura em 540 ± 20 nm).

AMOSTRA BIOLÓGICA:

SORO.

No soro, a PCR é estável por 7 dias a 2 - 8°C.

NOTA: É recomendável que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas em Laboratórios Clínicos. Enfatizamos que os erros advindos da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Pré-aquecer o Reagente de Trabalho e o equipamento a 37°C. Homogeneizar o Reagente de Trabalho antes do uso.
2. Ajustar o Zero de absorbância do equipamento com água deionizada em 540 nm.
3. Pipetar nas cubetas ou tubos de ensaio:

	Calibrador	Teste
Reagente de Trabalho	1,5 mL	1,5 mL
Calibrador CRP-HS	20 µL	-----
Amostra/Soro	-----	20 µL

4. Misturar e inserir a cubeta imediatamente no portacubetas termostaticado a 37°C e acionar o cronômetro.
5. Após 10 segundos, fazer uma primeira leitura fotométrica (A₁) do Calibrador e do Teste em 540 nm.
6. Após 2 minutos, repetir a leitura fotométrica (A₂) do Calibrador e do Teste em 540 nm.

1. Cálculo da Concentração dos Testes na Curva de Calibração

Interpolando o valor da diferença de absorção (A₂ - A₁) de cada Teste no Gráfico da Curva de Calibração e encontrar os respectivos valores de concentração de cada Teste em mg/L.

Curva de Calibração

Deve ser utilizada para se obter uma maior exatidão nos resultados.

Preparar diluições do Calibrador CRP-HS já dissolvido, empregando solução salina 0,9%, da seguinte maneira:

Diluição	1	2	3	4	5
Calibrador CRP-HS (µL)	10	20	40	60	80
Solução salina (µL)	70	60	40	20	--
Fator	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0

Atenção

A concentração de PCR nas respectivas diluições é obtida multiplicando a concentração do Calibrador CRP-HS (valor indicado no rótulo do frasco) pelo fator correspondente (Ver Tabela).

Exemplo:

Cc = 14,4 mg/L (indicada no rótulo do frasco)

Fatores de Diluição: 0,125 - 0,25 - 0,5 - 0,75 e 1,0

Concentração de PCR em mg/L nos Calibradores diluídos:

1,8 - 3,6 - 7,2 - 10,8 e 14,4.

Dosagem dos Calibradores

1. Pré-aquecer o Reagente de Trabalho e o equipamento a 37°C. Homogeneizar o Reagente de Trabalho antes do uso.
2. Ajustar o Zero de absorbância do equipamento com água deionizada em 540 nm.
3. Dosar os 5 Calibradores diluídos seguindo o quadro abaixo:

	Branco	Calibradores diluídos (1 a 5)
Reagente de trabalho	1,5 mL	1,5 mL
Água deionizada	20 µL	--
Calibrador CRP-HS	--	20 µL de cada Calibrador

4. Misturar e inserir a cubeta **imediatamente** no portacubetas termostaticado a 37°C. Acionar o cronômetro.
5. Após 10 segundos, fazer uma primeira leitura fotométrica (A₁) do Branco e dos Calibradores em 540 nm.
6. Após 5 minutos, repetir a leitura fotométrica (A₂) do Branco e dos Calibradores em 540 nm.

Traçado do Gráfico da Curva de Calibração

Calcular a diferença de absorção (A₂ - A₁) do Branco e de cada Calibrador.

Em um papel milimetrado traçar o gráfico lançando as diferenças de absorção dos Calibradores na ordenada contra concentração de PCR (mg/L) na abscissa. A diferença

de absorção ($A_2 - A_1$) do Branco será o ponto de concentração Zero da curva de calibração.

1. Cálculo da Concentração dos Testes pelo Fator de Calibração

Usando o Fator de Calibração para calcular a concentração, a linearidade é reduzida para 10 mg/L.

Diluir o Calibrador CRP-HS da seguinte maneira:

20µL do Calibrador CRP-HS + 60µL de solução salina 0,9%.

Dosar este Padrão diluído juntamente com os Testes, conforme Procedimento do Teste.

Calcular a diferença de absorção ($A_2 - A_1$) do Calibrador.

Calcular também a diferença de absorção ($A_2 - A_1$) de cada Teste.

Exemplo

$C_c = 14,4$ mg/L (indicada no rótulo do frasco)

Concentração do Calibrador diluído: $14,4 \times 0,25 = 3,6$ mg/L

$C_c = 3,6$ mg/L

$A_c = (A_2 - A_1)$ do Calibrador = 0,148

$A_t = (A_2 - A_1)$ do Teste = 0,162

$FC = C_c \div A_c = 3,6 \div 0,148 = 24,3$

$C_t = FC \times A_t = 24,3 \times 0,162 = 3,9$ mg/L de PCR

VALORES DE REFERÊNCIA

Como fator de risco independente para avaliação de doenças cardíacas e vasculares, os valores de referência para PCR-AS são os seguintes:

Risco baixo: inferior a 1,0 mg/L

Risco moderado: 1,0 a 3,0 mg/L

Risco alto: superior a 3,0 mg/L

AUTOMAÇÃO:

Adaptação especial para analisadores automáticos pode ser fornecida quando solicitada.

CONTROLE DE QUALIDADE:

Qualquer soro controle com valores determinados para proteína c-reativa pode ser utilizado para este método.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO:

Linearidade

A reação é linear até 15 mg/L. Usando o Fator de Calibração, a linearidade vai até 10 mg/L.

Para valores maiores, diluir a amostra a 1/5 com água deionizada e repetir a medição. Multiplicar o resultado final por 5. A linearidade pode variar consideravelmente de acordo com o equipamento utilizado.

Repetibilidade - Precisão intra-ensaio

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações, utilizando 2 amostras com valores de 1,4 e 7,2 mg/L. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,8 e 1,5%, respectivamente.

Reprodutibilidade - Precisão inter-ensaio

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 25 determinações, utilizando 2 amostras com valores de 1,4 e 7,2 mg/L. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 3,6 e 3,0%, respectivamente.

Limite de Detecção

$LD = 0,06$ mg/L de PCR.

O intervalo de medida é de 0,06 até 15 mg/L.

Efeito de altas concentrações (Efeito prozona)

O ensaio não apresenta o efeito prozona em amostras com concentração de PCR até 500 mg/L.

Interferências

A hemólise (hemoglobina até 1000 mg/dL), a lipemia (triglicérides até 1000 mg/dL) não interferem.

A bilirrubina acima de 10 mg/dL e fatores reumatóides acima de 75 UI/mL podem interferir. Alguns medicamentos e substâncias podem interferir.

Comparação de Métodos

O produto foi comparado com outro similar disponível no mercado através da análise de 86 amostras de soro humano com valores desconhecidos.

Os resultados analisados por modelos estatísticos demonstraram que não há diferença significativa em um intervalo de confiança de 95% com uma equação de regressão linear onde $y = 0,972x$.

OBSERVAÇÕES:

1- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.

2- Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.

3- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Cat. N°	Reagente	Volume	N° Testes
11541-50	BUF	1 x 40 mL	33
	RGT	1 x 10 mL	
	CAL	1 x 5 mL	

BIBLIOGRAFIA:

1. Otsuji S, Shibata H, Umeda M. Turbidimetric immunoassay of serum C-reactive protein. Clin Chem 28: 2121-2124, 1982.

2. Price CP, Trull AK, Berry D., Gorman EG. Development and validation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay for c-reative protein. J. Immunol. Methods 99: 205-211,1987.

3. Roberts WL et al. Evaluation of four automated high-sensitivity C reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Clin Chem 46: 461-468, 2000.

4. Roberts WL et al. Evaluation of nine automated high-sensitivity C reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. Clin Chem 47: 418-425, 2001.

5. Rifai N et al. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C reactive protein assay. Clin Chem 45: 2136-2141,1999.

6. Rifai N et al. High-sensitivity C reactive protein: a novel and promising marker of coronary heart disease. Clin Chem 47: 403-411,2001.

7. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq Bras Cardiol, 77 (suppl III): 1-48,2001.

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefone: **31-3067-6400** E-mail: invitroms@invitro.com.br

N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Fabricante: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053.

Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.

Telefone: 31-3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

ANVISA: 10303460485 Classe de risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:



O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação



Risco Biológico