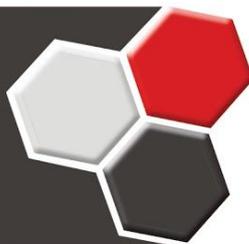


# PCR-AS Turbidimetria

Kit para determinação quantitativa da Proteína C Reativa por turbidimetria de alta sensibilidade.

REF. 474

MS 80022230098



## Analisa

### MÉTODO

Turbidimetria de alta sensibilidade.

### FINALIDADE

Reagentes para a determinação quantitativa da Proteína C Reativa (PCR) no soro por metodologia de alta sensibilidade. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

### 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

A Proteína C-Reativa (PCR) é uma proteína de fase aguda, cujos níveis séricos aumentam acentuadamente logo após ocorrer uma agressão ao organismo. A PCR atua 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.<sup>7</sup>

### QUALIFICAÇÕES DO MÉTODO

• O sistema PCR-AS TURBIDIMETRIA da GOLD ANALISA é uma ensaio quantitativo de alta sensibilidade para a dosagem da proteína C Reativa (PCR) com aplicação importante no diagnóstico de aterosclerose e infarto do miocárdio.

### IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Conservar entre 2-8 °C.

1. **Padrão PCR-AS** - Contém 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).

2. **Látex PCR-AS** - Contém suspensão de partículas de látex sensibilizadas com anticorpos anti-PCR humana e azida sódica 14,6 mmol/L.

3. **Tampão** - Contém tampão glicina 100 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L, pH 8,6.

### PREPARO DOS REAGENTES DE USO

1. **Padrão PCR-AS**: Reconstituir o Padrão (1) liofilizado com 5,0 mL de água destilada ou deionizada. Estável por um mês entre 2-8 °C.

2. **Reagente de Trabalho**: Misturar os reagentes na seguinte proporção: 4 mL de Tampão (3) + 1 mL de Látex PCR-AS (2). Estável por 20 dias entre 2-8 °C.

**Atenção**: Homogeneizar bem o Látex PCR-AS 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

**Padrão**: Presença de umidade

**Reagentes**: Absorção do Reagente de Trabalho superior a 1,600 em 540 nm.

### MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

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

### PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- 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 PCR-AS (2) e o Tampão (3) contêm 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 Padrão PCR-AS (1), 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.

### AMOSTRA

SORO. Não usar amostra hemolisada ou lipêmica.

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 absorvância do equipamento com água deionizada em 540 nm.
3. Pipetar nas cubetas ou tubos de ensaio:

	Padrão	Teste
Reagente de Trabalho	1,5 mL	1,5 mL
Padrão PCR-AS (Diluição 2)	20 µL	-----
Soro	-----	20 µL

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 Padrão e do Teste em 540 nm.
6. Após 5 minutos, repetir a leitura fotométrica (A2) do Padrão e do Teste em 540 nm.

### Cálculos

A concentração de PCR pode ser calculada de duas maneiras:

#### 1. Cálculo da Concentração dos Testes na Curva de Calibração

Interpolar 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 Padrão PCR-AS (1) já dissolvido, empregando solução salina 0,9%, da seguinte maneira:

Diluição	1	2	3	4	5
Padrão PCR-AS (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 Padrão PCR-AS (valor indicado no rótulo do frasco) pelo fator correspondente (Ver Tabela).

**Exemplo**: Cp = 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 Padrões diluídos:

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

### Dosagem dos Padrões

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 absorvância do equipamento com água deionizada em 540 nm.

3. Dosar os 5 Padrões diluídos seguindo o quadro abaixo:

	Branco	Padrões diluídos (1 a 5)
Reagente de Trabalho	1,5 mL	1,5 mL
Água deionizada	20 µL	-----
Padrão PCR-AS	-----	20 µL de cada Padrão

- Misturar e inserir a cubeta imediatamente no portacubetas termostatizado a 37 °C. Acionar o cronômetro.
- Após 10 segundos, fazer uma primeira leitura fotométrica (A<sub>1</sub>) do Branco e dos Padrões em 540 nm.
- Após 5 minutos, repetir a leitura fotométrica (A<sub>2</sub>) do Branco e Padrões em 540 nm.

#### Traçado do Gráfico da Curva de Calibração

Calcular a diferença de absorção (A<sub>2</sub> - A<sub>1</sub>) do Branco e de cada Padrão. Em um papel milimetrado traçar o gráfico lançando as diferenças de absorção dos Padrões na ordenada contra concentração de PCR (mg/L) na abscissa. A diferença de absorção (A<sub>2</sub> - A<sub>1</sub>) 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 Padrão PCR-AS (1) da seguinte maneira:

20 µL do Padrão PCR-AS + 60 µL de solução salina 0,9%.

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

Calcular a diferença de absorção (A<sub>2</sub> - A<sub>1</sub>) do Padrão.

Calcular também a diferença de absorção (A<sub>2</sub> - A<sub>1</sub>) de cada Teste.

#### Exemplo

C<sub>p</sub> = 14,4 mg/L (indicada no rótulo do frasco)

Concentração do Padrão diluído: 14,4 x 0,25 = 3,6 mg/L

C<sub>p</sub> = 3,6 mg/L

A<sub>p</sub> = (A<sub>2</sub> - A<sub>1</sub>) do Padrão = 0,148

A<sub>t</sub> = (A<sub>2</sub> - A<sub>1</sub>) do Teste = 0,162

FC = C<sub>p</sub> ÷ A<sub>p</sub> = 3,6 ÷ 0,148 = 24,3

C<sub>t</sub> = FC x A<sub>t</sub> = 24,3 x 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

Este kit pode ser utilizado pela maioria dos analisadores automáticos.

O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site [www.goldanalisa.com.br](http://www.goldanalisa.com.br)

#### CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve ter implementado um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com os princípios das Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC).

Para controle e verificação do desempenho do kit podem ser utilizados soros controles reumáticos.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

#### CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO<sup>®</sup>

##### 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.

##### Repetitividade

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

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

L<sub>D</sub> = 0,06 mg/L de PCR.

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

##### Efeito de altas concentrações de PCR (Efeito Zona)

O ensaio não apresenta o efeito zona 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

- 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.
- 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.
- 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.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Otsuji S, Shibata H, Umeda M. Turbidimetric immunoassay of serum C-reactive protein. Clin Chem 28: 2121-2124, 1982.
- Price CP, Trull AK, Berry D., Gorman EG. Development and validation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay for c-rective protein. J. Immunol. Methods 99: 205-211, 1987.
- 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.
- 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.
- Rifai N et al. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C reactive protein assay. Clin Chem 45: 2136-2141, 1999.
- Rifai N et al. High-sensitivity C reactive protein: a novel and promising marker of coronary heart disease. Clin Chem 47: 403-411, 2001.
- Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq Bras Cardiol, 77 (suppl III): 1-48, 2001.
- GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto

#### APRESENTAÇÃO

REF.	Nº de Testes	Reagentes	Volume
474M	33	Padrão PCR-AS	1 x 5 mL
		Látex PCR-AS	1 x 10 mL
		Tampão	1 x 40 mL
474	66	Padrão PCR-AS	1 x 5 mL
		Látex PCR-AS	2 x 10 mL
		Tampão	2 x 40 mL

#### TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

##### Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230098

Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020

Home page: [www.goldanalisa.com.br](http://www.goldanalisa.com.br)

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

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

#### SIMBOLOGIA

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por
	Risco Biológico		