

Finalidade

Método imunoturbidimétrico com látex para a determinação quantitativa de proteína C reativa (PCR).

Significado clínico

A proteína C reativa (PCR) é um dos marcadores de fase aguda mais sensível que se sintetiza no fígado. Seus níveis se incrementam em resposta a estímulos agudos ou crônicos de tipo infeccioso, inflamatório ou em caso de ferimento tissular. A determinação de PCR é muito útil tanto para o diagnóstico como em tratamento de estados inflamatórios, posto que o grau de incremento de PCR e sua duração, correlacionam-se estreitamente com a gravidade e atividade da doença inflamatória.

Fundamentos do método

A proteína C reativa reage com o anticorpo específico formando imunocomplexos insolúveis. A turbidez produzida pelos imunocomplexos é proporcional à concentração de PCR na amostra e pode ser lida com espectrofotômetro.

Reagentes fornecidos

- A. Reagente A:** solução fisiológica tamponada, pH 7,6.
B. Reagente B: anticorpos monoespecíficos anti-PCR.

Reagentes não fornecidos

- Solução fisiológica.
- CRP Calibrator Set da Laborlab.

Instruções para uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".
 Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como se tratando de material infectante.
 Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.
 Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme a regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

Amostra

Soro

- a) Coleta:** obter soro da maneira habitual.
b) Aditivos: não são necessários.
c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser fresca. Caso não seja processada na hora, pode ser conservada 2 meses sob refrigeração (2-10°C) ou 3 anos congelada (-20°C). Evitar os congelamentos e descongelamentos repetidos.

Interferências

Não utilizar soros hemolisados, lipêmicos ou contaminados. As amostras que apresentem precipitado, devem ser centrifugadas antes da prova.
 Não são observadas interferências por bilirrubina até 22 mg/dL (220 mg/L) nem fator reumatoide até 500 UI/mL.
 Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubos de Kahn ou hemólise.
- Banho-maria a 37°C.
- Relógio ou timer.

Condições de reação

- Comprimento de onda: 340 nm
 - Temperatura de reação: 37°C
 - Tempo de reação: 10 minutos
 - Volume de amostra: 80 uL
 - Volume final de reação: 1,28 mL
- Os volumes de amostra e reagentes podem variar proporcionalmente, sem que sejam alterados os fatores de cálculo.

Procedimento

Curva de calibração

Em tubos de Kahn corretamente marcados, colocar:

CRP Calibrator (1; 3; 5; 6; 7; 8)	80 uL
Reagente A	1000 uL

Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Ler a absorbância de cada calibrador a 340 nm (DO_1) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B	200 uL
------------	--------

Homogeneizar. Incubar 5 minutos exatos a 37°C e logo após ler a absorbância a 340 nm (DO_2) zerando o aparelho com água destilada. Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada calibrador. Representar numa folha de papel marcada com milímetros as diferenças de absorbância (ΔA) em função da concentração em mg/L de PCR.

Procedimento para amostras

Em tubos de Kahn corretamente marcados, colocar:

Amostra	80 uL
Reagente A	1000 uL

Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Ler a absorbância a 340 nm (DO_1) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B	200 uL
------------	--------

Homogeneizar. Incubar 5 minutos exatos a 37°C e logo após ler a absorbância a 340 nm (DO_2) zerando o aparelho com água destilada.

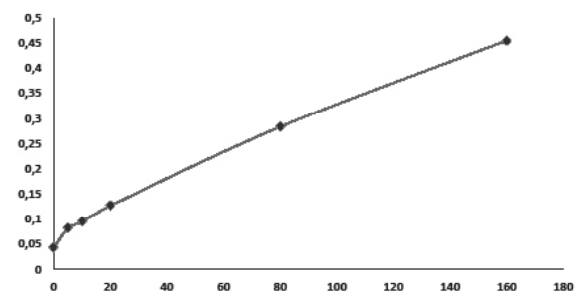
Cálculos dos resultados

Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) correspondente a cada amostra analisada. Comparar os dados (ΔA) na curva de calibração para determinar a concentração de PCR (mg/L) que corresponde à amostra estudada. As amostras com absorbância superior à do último ponto de calibração, devem ser diluídas (1:2 ou 1:4) com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar o resultado obtido pela diluição realizada.

Exemplo:

Curva de calibração

	Valor Teórico	DO_1	DO_2	ΔA ($DO_2 - DO_1$)
Calibrador 1	0	0,027	0,070	0,043
Calibrador 3	5	0,026	0,108	0,082
Calibrador 5	10	0,018	0,113	0,095
Calibrador 6	20	0,040	0,167	0,127
Calibrador 7	80	0,017	0,300	0,283
Calibrador 8	160	0,043	0,498	0,455



Método de controle de qualidade

Immunology Control Level 1 da Laborlab.

Os Controles devem ser processados da mesma forma que as amostras.

Valores de referência

0 - 5 mg/L

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência. É aconselhável realizar duas ou mais determinações periódicas para seguir o desenvolvimento da doença.

Limitações do procedimento

- Vide "Interferências".
- Recomenda-se realizar uma re-calibração completa, quando é utilizado outro lote de reagente ou quando seja necessário segundo o controle de qualidade.
- Durante o desenvolvimento de processos inflamatórios, a PCR pode aumentar até 1000 vezes o nível normal. Recomenda-se diluir as amostras 1:5 ou 1:10 no caso de obter resultados elevados ou de suspeita de processos inflamatórios graves.
- A fim de preservar a integridade dos reagentes devem ser evitadas as contaminações, utilizando para a medição unicamente micropipetas preferivelmente limpas e secas.

Desempenho

a) Reprodutibilidade: determinou-se através de uma modificação do protocolo EP5-A do CLSI. Processaram-se duas amostras com diferentes níveis de PCR. Com os dados obtidos, calcularam-se as precisões intra-ensaio e total.

Precisão intra-ensaio

Nível	D.P.	C.V.
11,9 mg/L	± 0,28 mg/L	2,4 %
40,6 mg/L	± 0,49 mg/L	1,2 %

Precisão total

Nível	D.P.	C.V.
11,9 mg/L	± 0,72 mg/L	6,0 %
40,6 mg/L	± 1,30 mg/L	3,2 %

b) Limite de detecção: é a mínima quantidade do analito capaz de ser detectada como uma amostra distinta de zero. Corresponde à concentração de 0,5 mg/L de PCR.

c) Faixa de medição: corresponde ao intervalo de valores exatamente quantificáveis e compreende desde 2 mg/L até o último ponto de calibração (aproximadamente 200 mg/L de PCR).

d) Fenômeno prozona: não é evidente o efeito até 1000 mg/L de PCR.

Os dados de desempenho obtiveram-se empregando analisador automático Konelab 60i, portanto estes valores podem variar cada vez que seja utilizado outro analisador ou técnica manual.

Parâmetros para analisadores automáticos

Consultar as adaptações específicas de cada analisador.

Apresentação

1 x 50 mL **Reagente A**
1 x 10 mL **Reagente B**
(Cód. 1770240)

Referências

- Ledue, T. et al - Clin Chem 49/8:1258 (2003).
- Otsuji, S. - Clin. Chem. 28/10:2121 (1982).
- Dati, F. - J. of IFCC VIII/1:29 (1996).
- Dati, F. - Clin. Chem. Lab. Med. 39/11:1134 (2001).
- WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2 (2002).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (5th Edition) WB Saunders, 2001.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- EP5-A (Vol.19 - N°2) Evaluation of precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline - NCCLS.
- EP17-A (Vol.24 - N°34) Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline - NCCLS.

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br