

Utilização prevista

Para a determinação quantitativa de proteína C reativa no soro ou plasma através de ensaio imunoturbidimétrico intensificado por partículas de látex utilizando os analisadores Yumizen C230 e Yumizen C240. Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*. **Rx Only.**

Introdução

A proteína C reativa (CRP) é uma proteína de fase aguda envolvida na ativação do sistema complemento, na aceleração da fagocitose e na desintoxicação de substâncias libertadas por tecidos danificados. Como tal, a CRP é considerada um dos indicadores mais sensíveis de inflamação. Em resposta a um estímulo inflamatório, é possível detetar um aumento da CRP em 6 horas. A CRP é um indicador sensível, embora considerado não específico, de reagentes de fase aguda.^{1,2,3}

A medição de proteína C reativa é utilizada maioritariamente para a avaliação de lesões nos tecidos corporais ou para a deteção de um acontecimento inflamatório em alguma zona do corpo. Os níveis de CRP no soro são tipicamente elevados em pacientes com artrite ou doença hepática, como hepatite A, hepatite B ou cirrose biliar e após infeções graves como choque séptico.

O CRP-HS destina-se à determinação quantitativa de CRP humana através de ensaio imunoturbidimétrico intensificado por partículas de látex (ITA). Têm sido descritos métodos ITA para a determinação quantitativa de complexos de imunoprecipitação de anticorpos e antígenos.^{4,5,6,7}

Princípio do teste

As partículas de látex revestidas com anticorpos específicos para CRP humana agregam-se na presença de CRP da amostra, formando imunocomplexos. Os imunocomplexos causam um aumento da dispersão de luz que é proporcional à concentração de CRP no soro. A dispersão de luz é medida através da leitura da turvação (absorvância) a 570 nm. A concentração de CRP é determinada a partir de uma curva de calibração desenvolvida a partir de padrões de CRP de concentração conhecida.

Reagentes

R-1: Reagente de tampão

Tampão de glicina: 170 mM

R-2: Suspensão de látex

Partículas de látex revestidas com anticorpos de CRP anti-humano de coelho: 0,20% (p/v)

Preparação dos reagentes

Os reagentes estão prontos a utilizar e não necessitam de reconstituição. Misture cuidadosamente antes de utilizar.

Armazenamento e estabilidade dos reagentes

1. Todos os reagentes devem ser armazenados a 2-8°C e protegidos da luz.
2. Os reagentes por abrir podem ser utilizados até à data de validade indicada na embalagem e nos rótulos dos frascos.
3. Depois de abrir o frasco de reagente, armazene bem fechado a 2-8°C e utilize no prazo de 1 mês.

Precauções

1. Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
2. Não se destina a ser utilizado internamente em seres humanos ou animais. Devem ser seguidas as precauções normais de manuseamento de reagentes de laboratório.
3. Não misture ou utilize reagentes de um kit de testes com reagentes de um número de lote diferente.
4. Não utilize os reagentes depois da respetiva data de validade indicada em cada rótulo de embalagem do reagente.
5. Não utilize a pipeta com a boca. Evitar a ingestão e o contacto com a pele.
6. Os reagentes deste kit contém azida de sódio <0,1% (p/v) como conservante. A azida de sódio pode formar compostos explosivos em linhas de drenagem de metal. Ao eliminar reagentes através da canalização, escoe com água abundante.
7. Todas as amostras, controlos e calibradores devem ser manuseados como potencialmente infecciosos, utilizando procedimentos laboratoriais seguros (NCCLS M29-T2).⁸

Colheita e armazenamento de amostras

1. O soro acabado de colher é preferível e deve ser utilizado no dia na colheita. As amostras também podem ser armazenadas refrigeradas (2-8°C) durante uma semana ou a -30°C até 1 ano. Utilize amostras não diluídas para este ensaio.

2. Também podem ser utilizadas amostras de heparina de lítio ou plasma EDTA.
3. Utilize tubos de plástico para armazenar a amostra; não utilize vidro.
4. Colha as amostras de acordo com o documento NCCLS H4-A3.⁹

Interferência

1. Todos os estudos de interferências foram realizados de acordo com os procedimentos recomendados na diretriz NCCLS N.º EP7-P relativamente aos testes de interferências em química clínica.¹⁰
2. Verificou-se que a hemoglobina até 500 mg/dL, lípidos (triglicéridos) até 3000 mg/dL, bilirrubina até 30 mg/dL e RF até 560 IU/mL não interferem neste ensaio.
3. Partículas de poeira ou outras partículas na solução de reação podem resultar em dispersão de luz estranha, o que pode afetar a precisão deste teste.
4. Consulte Young, et al para obter informação sobre outras substâncias interferentes.¹¹

Materiais fornecidos

1. Reagente 1 (R-1) Reagente de tampão
2. Reagente 2 (R-2) Suspensão de látex

Materiais necessários, mas não fornecidos

1. Calibradores multipontos: Conjunto Multicalibrador CRP, número de catálogo C7568-STD. Valores aprox.: 2,5; 10,0; 20,0; 80,0; 160,0 mg/L.
2. Conjunto de controlo CRP, número de catálogo C7568-CTL.
3. Analisador Yumizen C230/Yumizen C240
4. Manual de utilização do Yumizen C230/Yumizen C240
5. Solução salina isotónica
6. Pipetas com capacidade de dispensar os volumes necessários com precisão

Parâmetros de teste

Teste:	CRP	Química: CRP
N.º de química:	214	Nome em letra de imprensa: CRP
Tipo de reação:	Endpoint	Direção de reação: Positiva
Onda pri.:	578 nm	Onda Onda
Decimal.:	0,1	Tipo de amostra: Soro
Tempo de branco:		Tempo de reação: 1 18
Unidade:	mg/L	Tempo de incubação: 3

	Vol. de amostra	Aspirado	Diluído	Vol. de reagente	Diluído
Padrão;	4,7 uL	uL	uL	R1: 120 uL	uL
Diminuído;	4,7 uL	30 uL	120 uL	R2: 120 uL	uL
Aumentado;	uL	uL	uL		

Intervalo de linearidade (padrão);	0,1-160	Limite de linearidade:	
Intervalo de linearidade (diminuído);	0,5-800	Redução de substrato:	
Intervalo de linearidade (aumentado);		Abs. de branco misturado:	- 40000 40000
Abs. de branco R1:	- 40000 40000	Estabilidade no equipamento:	30 Dia(s)
Resposta de branco	- 40000 40000	Limite de alarme do reagente:	5
Química dupla:			

Verificação prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Utilizar resultado qualitativo:	
Intervalo:	Referência:

Desvio de declive:			
	Declive	Desvio	Unidade
	1	0	mg/L

Pré-tratamento:	
Vol. de amostra pré-tratada:	uL
Vol. de reagente	uL

Intervalo de ref.:					
Tipo de amostra:	Sexo:	Intervalo de idades:	Intervalo de ref.:	Intervalo crítico:	Unidade:

Conjunto de Reagentes de Proteína C Reativa Wide Range High Sensitivity CRP (HS) Pointe

Parâmetros de configuração da calibração

Quím:	CRP
Definição da calibração	
Modelo matemático:	Spline
Fator:	Réplicas: 1
Limites de aceitação	
Tempo cal:	336 h
Dif declive:	DP:
Sensibilidade:	
Deter	coef:
Repetibilidade:	* Definida pelo utilizador
Calib. auto. <input type="checkbox"/> Tempo cal	

Calibrador	Conc.	Pos.	Nº lote
Água	0,0	W	
CRP std 1	*	*	
CRP std 2	*	*	
CRP std 3	*	*	
CRP std 4	*	*	
CRP std 5	*	*	

Curva de calibração

Recomenda-se desenvolver uma curva de calibração multipontos utilizando um Conjunto Multipadrão CRP. Recomenda-se que o utilizador determine a frequência de calibração, dado que esta depende do instrumento e do tipo/número de outros ensaios executados. Inicialmente, a calibração deve ser efetuada todos os dias.

Controlo da qualidade

Recomenda-se incluir soro de controlo disponível comercialmente com concentrações conhecidas de CRP em todos os ensaios. Recomendam-se níveis no intervalo de 2,5 mg/L e 55,0 mg/L. Os requisitos de controlo de qualidade devem ser executados em conformidade com os requisitos de acreditação e regulamentação local, estatal e/ou federal.

Cálculos

Os níveis de CRP são determinados pelo analisador automatizado utilizando a curva de calibração preparada.

Limitações do procedimento

- O CRP-HS tem um intervalo de medição de 0,1 a 160,0 mg/L utilizando o Conjunto Multicalibrador CRP do fabricante e os parâmetros corretos no instrumento.
- Os reagentes não devem ser utilizados após a data de validade indicada no rótulo do kit. Não misture reagentes com números de lote diferentes.
- Se a concentração de CRP for superior ao valor mais alto do calibrador, dilua uma parte de amostra com quatro partes de solução salina isotónica e submeta novamente a ensaio. Multiplique os resultados por 5 para compensar a diluição.

Desempenho

Os seguintes dados de desempenho foram obtidos utilizando um analisador Hitachi 717 e o protocolo padrão.

Sensibilidade

Quando é utilizada solução salina como amostra, o intervalo de alteração da absorvância por minuto é de -0,0050 a 0,0050, enquanto o de uma solução de CRP padrão com 10,00 mg/L é de 0,0650 a 0,1000 depois de subtrair o branco de solução salina.

Especificidade

Quando é medido um soro com um nível de CRP conhecido (2,5 mg/L), o valor de ensaio obtido situa-se dentro de $\pm 10\%$.

Precisão

As amostras testadas eram soro de controlo de CRP humana comercial. Foram realizados estudos na sequência de uma modificação do documento NCCLS EP5-T2.¹²

No mesmo dia	
Amostra I	Amostra II
N=20	N=20
Média=2,31 mg/L	Média=44,92 mg/L
DP=0,04	DP=0,24
CV=1,90%	CV=0,50%

Entre dias*		
Amostra I	Amostra II	Amostra III
N=21	N=21	N=21
Média=0,47 mg/L	Média=2,18 mg/L	Média=9,76 mg/L
DP=0,03	DP=0,07	DP=0,12
CV=6,97%	CV=3,34%	CV=1,23%

*NOTA: Os dados entre dias não refletem o desempenho da série Yumizen 200.

do ensaio

0,1 – 160,0 mg/L

Limite inferior de deteção

0,1 mg/L

Sensibilidade funcional

Até pelo menos 0,15 mg/L

Correlação

$y = 1,036x - 0,44$

$r = 0,996$ (n = 38, intervalo = 0,2 – 17,9 mg/L)

x = analisador semelhante ao CRP (HS).

y = analisador CRP(HS) Mindray BS-200

Valores esperados

O valor esperado de CRP em indivíduos saudáveis é inferior a 3,0 mg/L.¹³ Recomenda-se que cada laboratório estabeleça o seu próprio intervalo de valores esperados.

Bibliografia

- Osmond, A.P., et al, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74:739-743, 1977.
- Pepys, M.B. *Lancet.* 1:653-657, 1981.
- Schultz, D.R. and P.I. Arnold. *Semin. Arthritis Rheum.* 20 (3):129-147, 1990.
- Killingsworth, L.M. and J. Savory. *J. Clin. Chem.* 19:403-407, 1973.
- Lizana, J. and K. Helling. *Clin. Chem.* 20:1181, 1974.
- Otsuji, S., et al, *Clin. Chem.* 28:2121-2124, 1982.
- Malkus, H., et al, *Clinica Chimica Acta*, 88:523-530, 1978.
- NCCLS document, "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2nd Ed. (1991).
- NCCLS document, "Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture", 3rd Ed. (1991).
- NCCLS document, "National Evaluation Protocols for Interference Testing", Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (June 1984).
- Young, D.S., et al, *Clin Chem* 21:1D, 1975.
- NCCLS document, "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992)
- Liuzzo, G., et al, *N Eng J Med*, 331:417-424, 1994.
- N.º de patente dos EUA 6248597; 6828158.

Legenda dos símbolos

Utilizar até (AAAA-MM-DD)	Lote e código
Número de catálogo	Fabricante
Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Limite de temperatura
Consulte as instruções de utilização	Rx Only: Utilização apenas mediante receita médica
Marcação CE	Representante autorizado na Comunidade Europeia

12-C7568-40

Fabricado por
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Representante Europeu Autorizado:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BÉLGICA

Tel.: (32)2.732.59.54 Fax: (32)2.732.60.03 e-mail: mail@obelis.net



Certificada para executar reagentes

Os reagentes Pointe são certificados para serem fabricados de acordo com parâmetros especificados. Qualquer produto de reagente Pointe que não cumpra as especificações até à data de validade indicada será regularizado imediatamente sem quaisquer custos.