



TURB - ASO Anti-Estreptolisina O

Finalidade:

Reagente utilizado na determinação quantitativa de Anti-Estreptolisina O (ASO) no soro humano por imunoturbidimetria. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

A turbidimetria baseia-se na detecção ótica de partículas muito pequenas suspensas em líquido. Quando a estreptolisina O que reveste as partículas de látex reage com o anticorpo anti-estreptolisina O presente na amostra, formam-se os imunocomplexos insolúveis que provocam a aglutinação e induzem uma turbidez, medida por espectrofotometria a 540nm. Essa turbidez é diretamente proporcional à concentração do anticorpo Anti-Estreptolisina O da amostra.

Metodologia:

Imunoturbidimetria - Látex

Significado Clínico:

A anti-estreptolisina O é o conjunto de anticorpos específicos defronte da estreptolisina O, uma enzima extracelular produzida pelos estreptococos do grupo A de Lancefield β -hemolítico (*Streptococcus pyogenes*). A anti-estreptolisina pode ser detectada a partir de uma semana a um mês depois da infecção do estreptococo. *Streptococcus pyogenes* causa uma ampla variedade de infecções nas vias respiratórias altas, tais como a faringite aguda. Outras manifestações de infecção por *Streptococcus pyogenes* incluem glomerulonefrite, febre reumática, endocardite bacteriana e febre escarlata.

O diagnóstico clínico não deve ser realizado baseando-se no resultado de um único ensaio, mas deve ser integrado nos dados clínicos e de laboratório.

Reagentes:

- R1= Diluente. Conservar entre 2 e 8° C. Contém: tampão Tris 20 mmol/L, cloreto de sódio 150 mmol/L, azida sódica 0,95 g/L, pH 8,2.
- R2= Látex. Conservar entre 2 e 8° C. Contém: suspensão de partículas de látex sensibilizadas com estreptolisina O, azida sódica 0,95 g/L.

- Padrão= Soro humano liofilizado. Conservar entre 2 e 8° C. A concentração de anti-estreptolisina O vem indicada no rótulo do frasco. O valor de concentração é traçável ao material de Referência Biológico 97/662 (National Institute for Biological Standards and Control, United Kingdom).

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 padrão 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 reagente2 + 4mL do reagente1. Agitar o Reagente 2 antes de pipetar.
Padrão: Reconstituir o liofilizado com 1,0 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 1cm 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:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C.
2. Espectrofotômetro ou fotômetro capaz de medir absorbância em 540 nm (520 - 560nm).
3. Pipetas de vidro e/ou automáticas.e.
4. Água destilada/deionizada.
5. Consumíveis do analisador quando usado.
6. Soros controle.
7. Medidor de tempo.
8. Tubo de ensaio

Amostra:

É recomendado soro livre de hemólise. A anti-estreptolisina O (Aso) é estável no soro por 2 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 10 g/L), a bilirrubina até 20 mg/dL, a hemólise (hemoglobina 10 g/L) e o fator reumatóide (2200 UI/mL) não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da anti-estreptolisina O, 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: 10 μ L
Volume Reagente: 1.0 mL
Tempo de Incubação: 5 minutos

Calibração:

Utilizar padrão específico para anti-estreptolisina O que acompanha o Kit, a concentração de anti-estreptolisina O no padrão é rastreável ao material de Referência Biológico 97/662 (National Institute for Biological Standards and Control, United Kingdom).

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, seguindo 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	10 μ L	-	-
Padrão	-	10 μ L	-
Amostra/S.C.	-	-	10 μ L
Reagente de trabalho	1.0 mL	1.0 mL	1.0mL

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 0,01mL(10 μ L) 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.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 μ L aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

Cálculos:

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

$$\text{ASO da Amostra (UI/mL)} = \frac{\text{Abs. Amostra}}{\text{Abs. Padrão}} \times \text{Conc.do Padrão (UI/mL)}$$

Exemplo:

Abs. amostra = 0.200
Abs. padrão = 0.414
Conc. padrão = 307 UI/mL

$$\text{ASO Amostra} = \frac{0.200}{0.414} \times 307$$

ASO Amostra = 148 UI/mL

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado o teste é linear até 800 UI/mL. Valores superiores, diluir a amostra com solução salina, 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 de Proteína Nível I e Nível II Ebram cód. 1019 e 1020.

Valores Esperados:

Adultos: < 200 UI/mL
Crianças: < 150 UI/mL

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia de turbidimetria similar nos proporcionou os seguintes resultados estatísticos: y = 0.9981x - 8.1154; r = 0.9972.

Precisão:

* Intra Ensaio – Precisão analisada - Repetibilidade
A concentração do Aso (UI/mL) de uma amostra de soro desconhecida foi medida 20 vezes e o coeficiente de variação determinada.

Analisador	n	Média	C.V.
Cobas Mira	20	200	3.4%
Cobas Mira	20	366	3.4%

* Inter Ensaio - Precisão de exame - Reprodutibilidade

Analisador n Média C.V.
Cobas Mira 25 200 3.6%
Cobas Mira 25 366 3.4%

Exatidão:

Os controles são analisados em duplicidade no Cobas Mira.
Controle Valores analisados Valores das Medidas (UI/mL)
Ebram 170 (136 - 203) 170
Biorad 100 (85 - 115) 101

Sensibilidade Metodológica:

3 UI/mL

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 enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

Apresentação:

R1 = 1 x 40mL + R2 = 1 x 10mL + Padrão = 1 x 1,0mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com.

Referência Bibliográfica:

1. Stevens DL. Invasive group A streptococcal disease. Clin Infect Dis 1992; 14: 2-11.
2. Immunology and Serology in Laboratory Medicine, 2nd edition. Turgeon mL. Mosby, 1996.
3. Arquivos da Ebram.



APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

GENERAL	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S
Calibration Mode:	Calibrator (Slope AVG)
Reagent Blank:	REAG/DIL
Cleaner:	NO
Wavelength:	550 nm
Decimal Position:	0
Unit:	UI/mL
ANALYSIS	
Dilution Name:	STD:
Factor:	Main STD:
Time:	Sample Dil Name: H2O
Post Dil Factor: 2	Conc. Factor: NO
Sample:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 20ul
Reagent:	Cycle: 1
Volume:	240ul
Start Reagent 1:	Cycle:
Volume:	Dil:
Start Reagent 2:	Cycle:
Volume:	Dil: 2
CALCULATION	
Sample Limit:	No
Point:	
Reaction Direction:	Increase
Check:	On
Conversion Factor:	1.0000
Offset:	0.0000
Test Range Low:	0
High:	800
Norm Range Low:	0
High:	200
Number of Steps:	1
Calculation Step A:	ENDPOINT
Readings First:	1
Last:	8
Reaction Limit:	NO
Point:	
Calib. Interval:	
CALIBRATION	
Reagent Blank:	ON REQUEST
Reagent Range:	
Reagent Range Low: NO	Blank Range Low: NO
High: NO	High: NO
Factor:	NO
Calibrator Pos:	(*)
STD1:	STD2:
STD3:	STD4:
STD5:	STD6:
STD7:	STD8:
Calc. Model:	
Correction STD:	
Replicate:	DUPL
Deviation:	10%
CONTROL	
CS1 -	
CS2 -	
CS3 -	

(*) colocar a posição correspondente do Rack CAL/CS

(**) colocar o valor correspondente do padrão

(***) Utilizar o reagente de trabalho (misturar na proporção: 1 mL do reagente 2 + 4 mL do reagente 1. Agitar o reagente 2 antes de pipetar)

APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: ASO	Test: ASO		
Test Bar Code:			
Test Type: End Point	Curve Type: Blanked Linear		
Units: UI/ml	N° of Decimal Places: 0		
Primary Wavelength: 540	Secondary Wavelength:		
Read Time Interval: 20	Sample Blank: No		
Factor:			
Calibration Interval: 168 hours			
Normalization Interval:			
N° of Calibrations: 2	N° of Replicates: 2		
Low Blank A Limit: -0.100	High Blank A Limit: 2.000		
Low A Limit: -0.100	High A Limit: 2.500		
Low Normal: 0	High Normal: 2.00		
Linearity Limit: 800	Curve S.D Limit: 8.0		
Test Name: ASO	Test: ASO		
Test Bar Code:			
Sample Volume: 3ul	Sample Diluent:		
Reagent Dilution Ratio: 1	Dilution Ratio: 1		
Reagent Dilution:			
Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 1	300	AS14	120
Reagent 2			
Reagent 3			
Reagent 4			
Control:			

Utilizar o reagente de trabalho (misturar na proporção: 1 mL do reagente 2 + 4 mL do reagente 1. Agitar o reagente 2 antes de pipetar)

APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA PLUS

GENERAL	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S
Calibration Mode:	Calibrator (Slope AVG)
Reagent Blank:	REAG/DIL
Cleaner:	NO
Wavelength:	550 nm
Decimal Position:	0
Unit:	UI/mL
ANALYSIS	
Dilution Name:	STD:
Factor:	Main STD:
Time:	Sample Dil Name: H2O
Post Dil Factor: 2	Conc. Factor: NO
Sample:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 20ul
Reagent:	Cycle: 1
Volume:	240ul
Start Reagent 1:	Cycle:
Volume:	Dil:
Start Reagent 2:	Cycle:
Volume:	Dil: 2
CALCULATION	
Sample Limit:	No
Point:	
Reaction Direction:	Increase
Check:	On
Conversion Factor:	1.0000
Offset:	0.0000
Test Range Low:	0
High:	800
Norm Range Low:	0
High:	200
Number of Steps:	1
Calculation Step A:	ENDPOINT
Readings First:	1
Last:	8
Reaction Limit:	NO
Point:	
Calib. Interval:	
CALIBRATION	
Reagent Blank:	ON REQUEST
Reagent Range:	
Reagent Range Low: NO	Blank Range Low: NO
High: NO	High: NO
Factor:	NO
Calibrator Pos:	(*)
STD1:	STD2:
STD3:	STD4:
STD5:	STD6:
STD7:	STD8:
Calc. Model:	
Correction STD:	
Replicate:	
Deviation:	
CS1 -	
CS2 -	
CONTROL	
CS3 -	

(*) colocar a posição correspondente do Rack CAL/CS

(**) colocar o valor correspondente do padrão

(***) Utilizar o reagente de trabalho (misturar na proporção: 1 mL do reagente 2 + 4 mL do reagente 1. Agitar o reagente 2 antes de pipetar)

APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	ASO
Abbr Name:	ASO
Mode:	TwoPoint
Wavelength:	546 nm
Units:	UI/mL
Decimals:	0
Low Conc:	0
High Conc:	800
Calibrator Name:	Pad ASO
Repeat:	2
Number:	1
Concentration:	(*)
Interval:	(*)
Cut off:	No
Prozone Check:	No
Ref Male Low:	0
Ref Male High:	200
Ref Female Low:	0
Ref Female High:	200
Ref Ped Low:	0
Ref Ped High:	150
Control 1:	
Control 2:	
Control 3:	
Correlat Factor:	1.000
Correlat Offset:	0.000
DUAL MODE	
Name:	
Sample Blank:	
R1 Bottle:	
Normal Volume:	
Reagent Volume:	
SAMPLE	
Normal Volume:	
Reagent Volume:	
R2 Bottle:	
Normal Volume:	
Reagent Volume:	
Predilution:	
Slope Blank:	
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Point One Two:	
Incubation Time:	
Low Absorbance:	
High Absorbance:	
R ABS L Limit:	
R ABS H Limit:	
R ABS Deviation:	
Reagent Blank:	
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	
MONO MODE	
Name:	ASO
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25mL
Normal Volume:	300ul
Reagent Volume:	300ul
SAMPLE	
Normal Volume:	3ul
Reagent Volume:	2ul
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Predilution:	NO
Point One Two:	12.110
Incubation Time:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	1.000
R ABS Deviation:	2.000
Reagent Blank:	YES (**)
Cal Low Limit:	(*)
Cal High Limit:	(*)
Factor:	(*)

(*) Introduzido pelo operador

(**) Calculado pelo equipamento

(***)

(#)

Utilizar o reagente de trabalho (misturar na proporção: 1 mL do reagente 2 + 4 mL do reagente 1. Agitar o reagente 2 antes de pipetar)

Dispomos de programações para outros analisadores, entre em contato com SAC EBRAM.

Ebram Prods. Laboratoriais Ltda@.
 Rua Júlio de Castilhos, nº 500
 Belenzinho - São Paulo - SP
 Cep: 03059-001
 Tel.: (11) 2291-2811
 Indústria Brasileira
 CNPJ.: 50.657.402/0001-31
 www.ebram.com
 sac@ebram.com
 SAC.: (11) 2291-2811
 Resp.Téc.: Nadjara Novaes CRF- 37.451
 Nº do Reg. MS: 10159820061
 Edição: mar/2015