



TURB - ASO

Anti-Estreptolisina O

REG. MS: 10159820061

EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho
São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811
CEP 03059-001 | Indústria Brasileira
CNPJ.: 50.657.402/0001-31

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**
0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110
sac@ebram.com | www.ebram.com

Revisão Maio/2022

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 escarlatina.

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): homogeneizar o reagente 2 com suavidade antes de vertê-lo no frasco de reagente 1. Esvaziar o conteúdo de um frasco do reagente 2 num frasco do 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). Homogeneizar. Estável por 30 dias de 2 a 8°C. Se desejar preparar volumes menores, misturar na proporção: 1 mL do reagente 2 + 4 mL do reagente 1. Agitar o Reagente 2 antes de pipetar.

Padrão: Reconstituir o liofilizado com 1,0 mL de água destilada. Estável 30 dias de 2 - 8°C.

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 absorvância 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.

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C.
- Espectrofotômetro ou fotômetro capaz de medir absorvância em 540 nm (520 - 560nm).
- Pipetas de vidro e/ou automáticas.e.
- Água destilada/deionizada.
- Consumíveis do analisador quando usado.
- Soros controle.
- Medidor de tempo.
- tubo de ensaio

AMOSTRA. É recomendado soro livre de hemólise.

A anti-estreptolisina O (Aso) é estável no soro por 7 dias se for refrigerado entre 2 - 8°C. 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
Vol. 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.

- Preparar o reagente de trabalho na forma monoreagente: 4mL do reagente 1 + 1mL do reagente 2
- Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Padrão	Amostra S/C
Água destilada	10 µL	-	-
Padrão	-	10 µL	-
Amostra S/C		-	10 µL
Reagente de Trabalho	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

- 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.
- 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 (10µL) 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 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

CÁLCULOS.

(Abs. = Absorbância)

(Conc. = Concentração)

$$\text{ASO da amostra (UI/mL)} = \frac{\Delta \text{ Abs. /min (amostra)}}{\Delta \text{ Abs. /min (calibrador)}} \times \text{Conc. do padrão (UI/mL)}$$

EXEMPLO:

Abs. amostra = 0.200

Abs. padrão = 0.414

Conc. padrão = 307 UI/mL

$$\text{ASO Amostra} = \frac{0.200}{0.414} \times 307 = 148 \text{ UI/mL}$$

LINEARIDADE. Quando executado de acordo com o recomendado o teste é linear até 800 UI/mL. Para valores superiores, diluir a amostra com solução salina, repetir a medição e multiplicar o resultado pela fator de diluição. A linearidade pode variar dependendo do instrumento utilizado e da relação reagente x amostra, em alguns protocolos (para aumentar o número de teste) utiliza-se a relação reagente x amostra diferente da especificada na instrução de uso, neste caso considera-se que a linearidade será menor.

CONTROLE DE QUALIDADE. Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância 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.

Analizador	n	Média	C.V.
Cobas Mira	20	200	3,4%
Cobas Mira	20	366	3,4%

* Inter Ensaio - Precisão de exame Reprodutibilidade

Analizador	n	Média	C.V.
Cobas Mira	20	200	3,6%
Cobas Mira	20	366	3,4%

EXATIDÃO.

Os controles são analisados em duplicidade no Cobas Mira.

Controle	Valores analisados	Valores das medidas (mg/L)
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.

- A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- 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 enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens No enxágüe final utilizar água tipo II.

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

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.

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

SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

 CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO	 REAGENTE	 FABRICADO POR
 O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES	 DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)	 NÚMERO DO LOTE
 LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)	 PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO	 NÚMERO DO CATÁLOGO