



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 espectofotometria 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 streptococos 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 infecioso. Sugermos 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 infecioso.
- 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 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 µL
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.

1. Preparar o reagente de trabalho na forma monoreagente: 4mL do reagente 1 + 1mL do reagente 2
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

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 do 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 (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 numero 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 da variação determinada.

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

* Inter Ensaio - Precisão de exame Reproduzibilidade

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

EXATIDÃO.

Os controles são analisados em duplidade 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.

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 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.

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.

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