

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**11 2291 2811 ou sac@ebram.comwww.ebram.comREC. MS:
10159820037/10159820196

Revisão: Abril/2021

FINALIDADE. Teste em placa por aglutinação de partículas de látex para determinação qualitativa e semi-quantitativa de Anti- Estreptolisina "O" (ASO) no soro humano.

PRINCÍPIO. O *Estreptococo Beta-hemolítico* do grupo "A" produz várias toxinas que podem atuar como antígenos. Uma destas exotoxinas é a Estreptolisina "O" que foi descoberta por Todd em 1932.

O organismo infectado produz anticorpos específicos contra estas exotoxinas, destacando-se entre elas a Anti- Estreptolisina "O". A determinação do título de Anti-Estreptolisina "O" no soro de um paciente, permitirá estabelecer o grau de infecção devido ao estreptococo Beta-hemolítico.

O procedimento básico para a determinação do título de Anti-Estreptolisina "O" se baseia no efeito inibitório que o soro de um paciente produz sobre o poder hemolítico de uma Estreptolisina "O" previamente titulada e reduzida.

No entanto, a reação antígeno-anticorpo ocorre independentemente da atividade hemolítica da Estreptolisina "O", o que facilita o desenvolvimento de um teste qualitativo e semi-quantitativo para a determinação do título de Anti-Estreptolisina "O" por aglutinação de partículas de látex em placa.

O reagente ASO LÁTEX EBRAM é uma suspensão de partículas de látex de poliestireno de tamanho uniforme sensibilizadas com Estreptolisina "O". As partículas de látex permitem a visualização da reação antígeno- anticorpo.

Devido a presença de Anti-Estreptolisina "O" no soro, se desenvolve esta reação e a suspensão de látex perde seu aspecto uniforme, tornando-se evidente uma clara aglutinação. Isto se deve a Anti-Estreptolisina "O" presente no soro, que reage com a Estreptolisina "O" aderida às partículas de látex.

Quando se mistura o reagente ASO LÁTEX EBRAM com um soro que tenha aproximadamente 200 UI/mL de Anti-Estreptolisina "O", se produz uma clara aglutinação.

REAGENTES.**Cód. 900 - Kit completo para 50 a 100 determinações:**

- ASO - Reagente Látex - 1 x 2,0mL (tampa preta)
- Suspensão de partículas de látex sensibilizadas com Estreptolisina "O" e 0,1% de azida sódica.
- A sensibilidade do reativo é capaz de detectar 200 (+/-50) UI/mL de ASO e está padronizada com o material de referência 97/662 (National Institute of Biological Standards and Control, Reino Unido).
- Controle Positivo - 1 x 0,5mL (tampa vermelha)
- Soro humano com 0,1% de azida sódica como conservante.
- Controle Negativo - 1 x 0,5 mL (tampa branca)
- Soro animal com 0,1% de azida sódica como conservante.
- Placas de Leitura
- Espátula descartável

Cód. 910 - Kit (reagente) para 50 a 100 determinações :

- ASO - Reagente Látex - 1 x 2,0mL (tampa preta)
- Suspensão de partículas de látex sensibilizadas com Estreptolisina "O" e 0,1% de azida sódica. A sensibilidade do reativo é capaz de detectar 200 (+/-50) UI/mL de ASO e está padronizada com o material de referência 97/662 (National Institute of Biological Standards and Control, Reino Unido).

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS.

- Relógio
- Tubos de ensaio para titulações
- Estantes para tubos de ensaio

- Salina 0,9%
- Pipetas sorológicas
- Ponteiras

ARMAZENAMENTO.

- A temperatura de armazenamento deverá ser entre 2º a 8ºC. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade
- Não congelar
- Os produtos são estáveis até a data de validade que consta no rótulo do produto

PRECAUÇÕES.

- Usado para diagnóstico "In Vitro".
- Todos os componentes de origem humana apresentaram resultados negativos para os anticorpos anti- HCV e anti-HIV e para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg). No entanto, devem ser tratados com precaução como potencialmente infecciosos.
- As divisões deverão ser lavadas com pouco detergente e enxaguadas com grande quantidade de água para remover o resíduo completamente.
- O ASO Reagente Látex deve estar homogêneo antes do uso. Isto pode ser realizado por inversão cuidadosa do frasco de reagente e esgotamento do conteúdo do conta-gotas, antes do uso. Não agitar vigorosamente.
- Os reagentes contêm azida sódica. Este agente é conhecido por reagir com cobre e chumbo dos canos de pia para formar azidas explosivas. Os materiais ao serem dispensados devem ser lavados com grande quantidade de água para prevenir acúmulo de azida.
- O descarte do material utilizado deverá ser realizado obedecendo-se os critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente.
- Seguir exatamente a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- Ler imediatamente após 2 minutos, pois a demora para leitura poderá apresentar resultado falso-positivo
- O uso do conta-gotas torna o teste menos preciso devido a variação no volume da gota, é indicado o uso de uma pipeta automática para obtenção de resultados mais precisos e confiáveis.

AMOSTRAS. O teste deve ser feito no soro. Se a amostra de soro não for imediatamente testada após coleta, armazenar até 7 dias entre 2º e 8ºC.

- Soros com forte lipemia, hemólise ou contaminação bacteriana não devem ser usados para o teste.
- Deve-se utilizar soro e não plasma, pois o fibrinogênio pode causar aglutinação inespecífica.
- Os controles positivo e negativo são usados como controle visual das reações positiva e negativa, respectivamente.

PREPARO DO PACIENTE. Apesar do jejum prévio não ser necessário, recomenda-se que o paciente seja instruído para manter jejum prévio de 8 - 12 horas para evitar possíveis interferentes tais como a lipemia.

PROCEDIMENTO.**Teste qualitativo**

Importante: Deixar todos os reagentes e amostras atingirem a temperatura ambiente antes do uso .

Esgotar o conteúdo do conta-gotas e agitar o ASO Reagente Látex gentilmente; Utilize pipeta automática para obter resultados mais precisos.

- Colocar 40 µL (uma gota) do ASO Reagente Látex em divisões separadas da placa, para as amostras a serem testadas, bem como para os controles positivo e negativo.
- Adicionar 40 µL de cada amostra não diluída e de cada controle não diluído.
- Misturar com a espátula descartável, estendendo o líquido igualmente sobre cada divisão da placa. Utilizar espátulas diferentes para cada amostra.
- Agitar a placa com suave movimento de rotação manualmente ou em agitador automático a 100 rpm durante 2 minutos, e observar a aglutinação sob luz incidente.
- Marcar os resultados.

OBS.: Para a realização de 100 testes com este kit, o volume adicionado da amostra/controles e reagente é de 0,020mL (20µL). Após o uso, a placa deverá ser lavada com água destilada, se isto não for efetuado imediatamente, usar água com detergente neutro e enxaguar abundantemente com água destilada ou deionizada. Resíduo de detergente pode provocar resultados falso-positivo.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS.

Qualitativo: Examinar macroscopicamente a presença ou ausência de aglutinação logo após 2 minutos. A presença de aglutinação indica um conteúdo de Anti-Estreptolisina "O" no soro igual ou superior a 200 UI/mL.



Teste semi-quantitativo:

- Diluir o soro em tubos, conforme esquema abaixo. Diluições adicionais podem ser preparadas caso o resultado seja positivo até a diluição 1/64. Separar 6 tubos e adicionar 0,2mL de NaCl a 0,9% em cada tubo. Transferir para o 1º tubo 0,2mL da amostra. Misturar, transferir 0,2mL do 1º tubo para o 2º tubo, misturar e transferir 0,2mL do 2º para o 3º tubo e assim sucessivamente até o 6º tubo desprezando 0,2mL restantes.

2.

TUBO	1	2	3	4	5	6
Solução Salina (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Soro (mL)	0,2	-	-	-	-	-
Misturar e Transferir (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Diluição	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
UI/mL	400	800	1600	3200	6400	12800

- Pipetar 40 µL de cada tubo e adicionar nas divisões da placa.
- Adicionar uma gota (40 µL) do reagente látex sobre cada uma das divisões.
- Misturar com a espátula descartável, estendendo o líquido igualmente sobre cada divisão da placa.
- Agitar a placa com suave movimento de rotação manualmente ou em agitador automático a 100 rpm durante 2 minutos e observar a aglutinação sob luz incidente.
- Marcar os resultados.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS.

Semi-Quantitativo: Semi-Quantitativo: O título aproximado corresponderá a última diluição mais alta do soro que apresentar aglutinação claramente visível.

A faixa aproximada de ASO presente na amostra pode ser obtida multiplicando-se o limite de sensibilidade (200 UI/mL) pelo título obtido.

Cerca de 95% da população adulta sadia possui títulos de ASO < 200 UI/mL, sendo este valor superior em populações infantis sadias em idade escolar (até 300 UI/mL).

CONTROLE DE QUALIDADE. Para cada série de testes devem se fazer controles positivo e negativo para verificar a correta execução da técnica e o estado de conservação dos reagentes.

VALORES DE REFERÊNCIA.

Adultos: Até 200 UI/mL

Crianças (< 5 anos): 100 UI/mL

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Podem aparecer falsas positivities em outras doenças distintas da febre reumática e da glomerulonefrite, como a artrite reumatóide, escarlatina, amigdalite e infecções estreptocócicas diversas.
- Podem aparecer falsas negativas, em infecções precoces e em crianças com idades compreendidas entre 6 meses e 2 anos.
- Devido a uma única determinação não dar informação suficiente sobre o estado atual da doença, recomenda-se nos casos duvidosos e com o propósito de seguir a evolução da doença, repetir o teste em intervalos quinzenais durante 4 ou 6 semanas.
- A sensibilidade do teste diminui em temperaturas baixas. Recomenda-se trabalhar acima dos 10°C.
- Atrasos nas leituras podem ocasionar uma supervalorização da faixa de Anti-Estreptolisina.
- As reações devem ser lidas logo após 2 minutos da adição da amostra de soro. Reações por mais tempo podem causar resultados falsos devido efeitos de secagem.

OBS: Não se observa efeito prozona, pelo menos, até 800 UI/mL.

INTERFERÊNCIAS. Nenhuma interferência foi verificada em amostras contendo até: 5 g/L de Hemoglobina, 5 g/L de Lipídeos, 15 mg/dL de Bilirrubina e 300 UI/mL de Fator reumatóide.

GARANTIA DE QUALIDADE. Este produto é garantido pela Ebram Produtos Laboratoriais Ltda ser conservado na temperatura recomendada, utilizado durante o prazo de validade e seguindo recomendações do rótulo e dessa instrução de uso.

REFERÊNCIAS.

- Ingram G B P et al. Am J Clin Pathol 1972; 25: 543-544.
- Halbert SP. Ann N e Acad Sci 1963; 103-111.
- Bach G et al. Am J Clin Pathol 1969; 52-57.
- Schmidt et al. Rheumatol 1970; 29: 29-32.
- Alouf et al. Rheumatol 1970; 29: 29-32.
- Klein et al. Applied Microbiology 1970; 19: 60-61.

SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO			
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		REAGENTE
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES		DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)
	LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)		PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO
	CONTROLE		CONTROLE NEGATIVO
			CONTROLE POSITIVO