

Método

Aglutinação do Látex.

Finalidade

Reagentes para a determinação qualitativa e semi-quantitativa da anti-estreptolisina O (AEO) no soro.

Somente para uso diagnóstico in vitro.
Princípio

A antiestreptolisina O (ASO) sérica com 200 UI/mL ou concentrações mais elevadas, provoca uma aglutinação das partículas do látex recobertas com estreptolisina O.

Significado Clínico

A antiestreptolisina O é o conjunto de anticorpos específicos frente à estreptolisina O, uma enzima extracelular produzida por estreptococos do grupo A de Lancefield β-hemolítico (*Streptococcus pyogenes*).

A antiestreptolisina pode ser detectada a partir de uma semana até um mês depois da infecção do estreptococo. O *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 considerando o resultado de um único ensaio, senão que deve integrar os dados clínicos e de laboratório.

Reagentes
Reagente nº 1 - Látex AEO: Suspensão de partículas de látex branco sensibilizadas com estreptolisina O, azida de sódio 0,95 g/L, tampão cloreto de amônio 200 mmol/L.

Reagente nº 2 - Controle Positivo: Soro humano contendo mais de 200 IU/mL.

Reagente nº 3 - Controle Negativo: Soro contendo menos de 200 IU/mL.

Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto e na embalagem externa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evitado a contaminação durante o uso. A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. Os produtos não deverão exceder as temperaturas entre 2 e 30°C por até 120 horas (5 dias) para fins de transporte. **Não congelar.**
Cuidados Especiais e Precauções

- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.bioanalitica.com.br ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Indicações de deterioração quando reagente indicar presença de aglutinação no frasco e nos Controles presença de material particulado.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.

Materiais Necessários e Não Fornecidos

- Agitador mecânico rotatório de velocidade regulável a 100 rpm;
- Cronômetro;
- Tubos de ensaio;
- Pipetas automáticas;
- Estante;
- Salina 0,9%;
- Ponteiras descartáveis;

Amostra

Soro. A anti-estreptolisina O no soro é estável 7 dias a 2 - 8°C, quando livres de contaminação.

Para descarte dos reagentes e materiais biológicos deve-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Preparação dos Reagentes

Reagentes prontos para uso.

Procedimento Qualitativo

1. Deixar os reagentes e as amostras à temperatura ambiente.
2. Depositar 50 µL da amostra a analisar e uma gota de cada Controle nos círculos separados do cartão de testes.
3. Homogeneizar o Látex com suavidade antes do ensaio. Manter o frasco do Látex em posição vertical. Acrescentar a cada círculo uma gota próxima à amostra a analisar.
4. Misturar com ajuda de uma ponteira descartável, procurando estender a mistura por toda a superfície interior da área. Empregar ponteiras distintas para cada diluição.
5. Agitar o cartão a 100 rpm. durante 2 minutos.

Leitura

Examinar macroscopicamente a presença ou ausência de aglutinação dentro do minuto seguinte à parada do agitador.

Resultados positivos: A presença de aglutinação indica um conteúdo de AEO no soro igual ou superior a 200 UI/mL.

Resultados negativos: A ausência de aglutinação indica um conteúdo de AEO no soro inferior a 200 UI/mL.

Procedimento Semi-quantitativo

1. Tomar 6 tubos e pipetar 200 µL de NaCl a 0,9% em cada tubo. Adicionar ao primeiro tubo 200 µL da amostra que apresentou teste qualitativo positivo. Misturar, transferir 0,2 mL do 1º tubo para o 2º tubo, misturar, transferir 200 µL do 2º tubo para o 3º tubo e assim sucessivamente até o 6º tubo. As diluições obtidas são 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 e 1:64, respectivamente.
2. Nas áreas da placa, pipetar 50 µL de cada diluição da amostra, previamente preparada.
3. Homogeneizar o Látex AEO (Antígeno) com suavidade antes do ensaio. Adicionar a cada área contendo as diluições da amostra, 50 µL do Látex AEO.
4. Misturar com ajuda de uma ponteira descartável, procurando estender a mistura por toda a superfície interior da área. Empregar ponteiras distintas para cada diluição.
5. Agitar o cartão a 100 rpm. durante 2 minutos. Se a aglutinação estiver presente até 1:64, continuar as diluições a partir do 6º tubo e prosseguir com o teste.

Leitura

Examinar macroscopicamente a presença ou ausência de aglutinação logo após os 2 minutos. Será considerada como título da reação, a maior diluição que apresentou resultado positivo.

Resultados

Multiplicar a taxa de sensibilidade do teste (200 UI/mL) pelo título da maior diluição que apresentou resultado positivo.

Exemplo

Maior diluição com resultado positivo = 16 Sensibilidade do teste = 200 UI/mL Resultado do teste = 16 x 200 = 3200 UI/mL

Interpretação dos Resultados

Teste Negativo Expressar o resultado como menor que 200 UI/mL.

Teste Positivo Expressar o resultado em UI/mL.

UI/mL = sensibilidade x recíproca do título encontrado no método semi-quantitativo.

Características do Desempenho

Detecção: 200 UI/mL de ASO, usando um padrão interno traçável ao Material de Referência Biológico 97/662 (National Institute for Biological Standards and Control, United Kingdom). Este valor pode variar até um 25% dependendo das variações não controladas do procedimento e da experiência do operário na leitura.

- Efeito da alta concentração (zona): Ausente, pelo menos, até às concentrações de 800 UI/mL.
- Resultados falsos: Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças significativas ao serem comparados com os reagentes de referência.
- Interferências: a lipemia (5 g/L), a hemoglobina (5 g/L), o fator reumatóide (300 UI/mL) e a bilirrubina (15 mg/dL) não interferem. Outros medicamentos e substâncias podem interferir.

Notas

1. Os cartões testes são reusáveis e devem ser lavados e completamente enxaguados com água destilada sem detergentes.
2. A sensibilidade do ensaio pode reduzir-se se for efetuado a baixas temperaturas.
3. Atrasos nas leituras podem ocasionar uma sobrevalorização dos resultados.

Valores de Referência

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Soro: AEO menor que 200 UI/mL.

Controle Interno da Qualidade

Os Controles Positivo e Negativo fornecidos com o kit têm que ser ensaiados conjuntamente com as amostras dos pacientes, com o objetivo de verificar o correto funcionamento do kit.

O Controle Positivo provoca a aparição de uma aglutinação visível das partículas de látex.

O Controle Negativo não provoca a aparição de uma aglutinação visível das partículas de látex.

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos.

Observações

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megaohms/ cm ou condutividade < 1 microsiemens /cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megahoms ou condutividade < 10 microsiemens.

No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

Referências Bibliográficas

1. Klein GC, Baker CN, Moody MD. Comparison of antistreptolysin O latex screening test with the antistreptolysin O hemolytic test. Appl Microbiol 1970; 19:60-1.
2. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Klein GC, Baker CN, Jones WL. Upper limits of normal antistreptolysin O and antideoxyribonuclease B titers. Appl Microbiol 1971; 21: 758-60.
5. Bisno AL. Group A streptococcal infections and acute rheumatic fever. N Engl J Med 1991; 325: 783-93.
6. Stevens DL. Invasive group A streptococcal disease. Clin Infect Dis 1992; 14: 2-11.
7. Immunology and Serology in Laboratory Medicine, 2nd edition. Turgeon ML. Mosby, 1996.
- 8 - Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

Termos e Condições de Garantia

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

Apresentações

Ref.	Látex AEO	Controle Negativo	Controle Positivo
BA013-3 Látex	1 x 3 mL	---	---
BA013-3C (Com controles)	1 x 3 mL	1 x 1 mL	1 x 1 mL

Bioanalítica Diagnóstica S/A

Rua Álvares da Silva, 12 - União

CEP: 31160-360 – Belo Horizonte MG - Brasil

Tel. +55 31 3657-0051

www.bioanalitica.com.br

E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br

CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira

SAC: 0800 006 8111

E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Outubro / 2022.