

Finalidade:

Teste de aglutinação para determinação qualitativa e quantitativa da Antiestreptolisina-O (ASO) no soro sem diluição.

Registro ANVISA:

10097010-119

Apresentação:

551018 – ASO LATEX DIRETO-R=2mL-KIT 50T
 551020 – ASO LATEX DIRETO-R=4mL-KIT 100T
 551021 – ASO LATEX DIRETO-R=4mL-FR

LB 170163
 Rev. 14 – 08/2024

1. INTRODUÇÃO

Uma das toxinas produzidas pelo estreptococo beta-hemolítico é a Estreptolisina-O, descrita por Todd em 1932, que possui ação antigênica induzindo o organismo a produzir a Antiestreptolisina-O (ASO). O teste em lâmina usando partículas de látex é uma alternativa ao uso das técnicas de hemólise, fornecendo resultados em 3 minutos.

O *Streptococcus* beta-hemolítico do grupo A de Lancefield é responsável por provocar doenças imunológicas como a Febre Reumática que afeta as articulações e o coração. Quando a pessoa, especialmente crianças, apresentam uma infecção da orofaringe pela referida bactéria o organismo produz anti-corpos contra a bactéria procurando eliminá-la do organismo, porém após 10-14 dias se desenvolvem as manifestações clínicas de comprometimento do tecido conjuntivo das articulações e do coração, resultante de uma reação imunológica cruzada entre os componentes da parede celular bacteriana e esta estrutura do ser humano. Assim, a parede celular do *Streptococcus* tem importância fundamental na patogenia da doença e, dos elementos da parede celular, a proteína M, (que tem semelhança estrutural com a tropomiosina do miocárdio) é a de maior interesse. Ela é a responsável pela classificação de mais de 80 sorotipos imunologicamente diferentes. Há também semelhança estrutural da molécula da N-acetil glucosamina da parede celular da bactéria com as glicoproteínas das válvulas, daí a valvulite. A mucoproteína da parede celular é semelhante a componentes do tecido conjuntivo da sinóvia, explicando a artrite. Alguns componentes da membrana protoplasmática da bactéria fazem reação cruzada com componentes do sarcolema dos vasos, explicando a vasculite. Do mesmo modo, outros antígenos da membrana protoplasmática fazem reação cruzada com componentes do citoplasma do núcleo caudato. Anticorpos contra citoplasma do núcleo caudato e subtalâmico foram encontrados em pacientes com coréia de Sydenham e fazem reação cruzada com a membrana do estreptococo.

Os antígenos liberados pelo *Streptococcus* são: estreptolisina O (ASLO), toxina eritrogênica, estreptoquinase (SK), hialuronidase(H), proteinase, esterase, nicotinamida-adenina-dinucleotidase (NADase), estreptolisina O (ASO), desoxirribonuclease (DNAase).

O diagnóstico de Febre Reumática é sobretudo clínico e os exames de atividade inflamatória são úteis. Níveis elevados de anticorpo contra a estreptolisina O, acima de 300 unidades Todd/ml, apenas sugere a presença de recente infecção estreptocócica. Contudo, sua determinação pode ser útil em casos suspeitos de doença reumática. Não raramente observamos níveis elevados de ASLO em indivíduos que tiveram quadro clínico antigo de infecção estreptocócica, sendo que este fato demonstra a possibilidade de uma hiperreatividade imunológica prolongada.

Por outro lado, a determinação da ASLO pode estar normal em 20% a 30% de enfermos portadores de febre reumática aguda. Nestes casos, se pode determinar os níveis de anti-DNAse B e de anti-hialuronidase, aumentando a sensibilidade e especificidade.

2. IMPORTÂNCIA CLÍNICA

O diagnóstico da febre reumática (FR) é clínico, não existindo sinal patognomônico ou exame específico. Os exames laboratoriais, apesar de inespecíficos, sustentam o diagnóstico do processo inflamatório e da infecção estreptocócica. Os critérios de Jones, estabelecidos em 1944, tiveram a sua última modificação em 1992 e continuam sendo considerados o “padrão ouro” para o diagnóstico do primeiro surto da FR. A divisão dos critérios em maiores e menores é baseada na especificidade e não na frequência da manifestação. A probabilidade de FR é alta quando há evidência de infecção estreptocócica anterior, determinada pela elevação dos títulos da antiestreptolisina O (ASO), associada a presença dos critérios de Jones.

Os critérios de Jones modificados pela American Heart Association (AHA) em 1992 devem ser utilizados para o diagnóstico do primeiro surto da doença:

Critérios maiores: cardite, artrite, coréia de Sydenham, eritema marginado, nódulos subcutâneos

Critérios menores: febre, artralgia, elevação dos reagentes de fase aguda (VHS, PCR), intervalo PR. É o intervalo de tempo medido entre o início da onda P e o início do QRS) prolongado no ECG.

É necessária evidência de infecção pelo estreptococo do grupo A por meio de cultura da orofaringe, teste rápido e elevação dos títulos de ASLO.

Embora não seja específico para ataques agudos de faringite por *S.pyogenes*, o requerimento de evidência de infecção estreptocócica prévia como critério essencial para o diagnóstico aumenta a especificidade dos critérios de Jones.

Critérios Maiores**Artrite**

A artrite é a manifestação mais comum da FR, presente em 75% dos casos, com evolução autolimitada e sem sequelas. Muitas vezes é o único critério maior presente, principalmente em adolescentes e adultos. Nos casos de associação com cardite, tem sido descrita correlação inversa entre a gravidade das duas manifestações.

A artrite típica da FR evolui de forma assimétrica e migratória, ou seja, quando os sintomas melhoram em uma articulação, aparecem em outra. O quadro articular afeta preferencialmente as grandes articulações, particularmente dos membros inferiores. A artrite é auto-limitada. A duração do processo inflamatório em cada articulação raramente ultrapassa uma semana e o quadro total cessa em menos de um mês. A artrite é, em geral, muito dolorosa, apesar de não mostrar sinais inflamatórios intensos ao exame físico. A resposta aos anti-inflamatórios não hormonais é rápida e frequentemente a dor desaparece em 24 horas, enquanto os outros sinais inflamatórios cessam de dois a três dias. Durante a fase migratória, diferentes articulações podem estar envolvidas em diferentes fases de instalação e resolução. Alterações crônicas não ocorrem, exceto a artropatia de Jaccoud, uma fibrose periarticular incomum, não específica para FR.

Embora o padrão típico seja observado em cerca de 80% dos casos, existem apresentações atípicas que requerem outras considerações no diagnóstico diferencial, as quais incluem artrite aditiva (envolvimento progressivo e simultâneo de várias articulações, sem cessar a inflamação nas anteriores), monoartrite e acometimento de pequenas articulações e da coluna vertebral. O uso precoce de anti-inflamatórios não hormonais pode ser responsável pela ausência da característica migratória da artrite, já que a excelente resposta impede a progressão dos sinais e sintomas, podendo resultar no quadro monoarticular. Nesses casos, a suspensão dos anti-inflamatórios pode fazer retornar o quadro de artrite e permitir uma melhor avaliação do diagnóstico. As pequenas articulações, como as interfalangeanas e as metacarpofalangeanas, podem estar envolvidas, mas sempre deve haver o acometimento concomitante de grandes articulações.

A aspiração articular revela leucocitose moderada. Como o pico de ASLO ocorre no mesmo momento da artrite, a inflamação articular na ausência de títulos elevados de ASLO falam contra FR.

Cardite

A cardite é a manifestação mais grave da FR, pois é a única que pode deixar sequelas e acarretar óbito. Tende a aparecer em fase precoce e, mais frequentemente, é diagnosticada nas três primeiras semanas. É caracterizado por pancardite, mas são as lesões valvares as responsáveis pelo quadro clínico e pelo prognóstico.

O acometimento pericárdico não é comum, não ocorre isoladamente e não resulta em constrição. A pericardite está sempre associada à lesão valvar e é diagnosticada pela presença de atrito e/ou derrame pericárdico, abafamento de bulhas, dor ou desconforto precordial. Nos casos leves, o acometimento pericárdico é um achado exclusivo do estudo ecocardiográfico. Grandes derrames pericárdicos e tamponamento cardíaco são raros.

A miocardite tem sido diagnosticada com base no abafamento da primeira bulha, no galope protodiastólico, na cardiomegalia e na insuficiência cardíaca congestiva. Apesar das evidências histológicas e imunológicas do envolvimento do miocárdio, a insuficiência cardíaca é causada pela lesão valvar e não pelo acometimento miocárdico. Os índices de função sistólica do ventrículo esquerdo estão geralmente preservados nos surtos iniciais. Na miocardite geralmente não há elevação de troponina, como na miocardite viral.

A pericardite e a miocardite não ocorrem na ausência de valvulite. Na ausência de envolvimento valvar, outras causas devem ser consideradas. A extensão da disfunção de VE se correlaciona mais com a extensão da valvulite do que com a miocardite.

O acometimento do endocárdio constitui a marca diagnóstica da cardite, envolvendo com maior frequência as valvas mitral e aórtica. Na fase aguda, a lesão mais frequente é a regurgitação mitral, seguida pela regurgitação aórtica. Por outro lado, as estenoses valvares ocorrem mais tardiamente, na fase crônica. A regurgitação de valva mitral tem maior tendência para regressão total ou parcial do que a regurgitação aórtica. Três sopros são característicos do primeiro episódio e podem não representar disfunção valvar definitiva: sopro sistólico de regurgitação mitral, sopro diastólico de Carey Coombs e sopro diastólico de regurgitação aórtica.

O envolvimento de tricúspide é menos comum e o envolvimento isolado da válvula aórtica é raro. Há uma relação linear entre a gravidade da IM no primeiro episódio e em episódios subsequentes. Ao exame físico pode ser evidenciado impulso de VE proeminente devido ao aumento cardíaco. Devido ao início recente, geralmente há dilatação apenas leve de VE. B1 pode variar de intensidade, podendo ser normal ou diminuída pela IM e/ou prolongamento de PR. P2 pode estar acentuado por HAP na IM grave. A2 está normal na febre reumática, ao contrário da IA crônica, onde está diminuída, pois a mobilidade da válvula não é afetada precocemente. B3 é comum, mas não é específico para a gravidade da IM, pois crianças podem ter B3 sem doença associada.

O sopro pansistólico da IM é a marca da febre reumática, com irradiação para axila e dorso. O sopro diastólico apical de Carey-Coombs frequentemente está relacionado à gravidade da IM, mas também está associado a alterações no fluxo causados pela deformidade mitral pela valvulite adicionada ao aumento do fluxo na diástole. No envolvimento da válvula aórtica há sopro diastólico em decrescendo, melhor audível na base e borda externa. IA na

ausência de IM é incomum. Pode haver sopro de IT funcional em ic grave, hipertensão pulmonar e dilatação de VD.

A gravidade da cardite, na dependência do grau de envolvimento cardíaco, varia desde a forma subclínica até a fulminante, sendo classificada nas seguintes categorias:

- Cardite subclínica: exame cardiovascular, radiológico e eletrocardiográfico normal, com exceção do intervalo PR; o ECO identifica regurgitação mitral e/ou aórtica em grau leve

- Cardite leve: presença de taquicardia desproporcional à febre, abafamento da primeira bulha, sopro sistólico mitral, área cardíaca normal, exames radiológico e eletrocardiográfico normais, com exceção do prolongamento do intervalo PR; regurgitações leves ou leves/moderadas, com ventrículo esquerdo de dimensões normais.

- Cardite moderada: dados clínicos mais evidentes, com taquicardia persistente e sopro de regurgitação mitral mais intenso, porém sem frêmito, associado ou não ao sopro aórtico diastólico; sopro de Carey Coombs pode estar presente; sinais incipientes de insuficiência cardíaca, aumento leve da área cardíaca e congestão pulmonar discreta podem ser encontrados no RX; ECG pode evidenciar extrassístoles, alterações de ST-T, baixa voltagem, prolongamento dos intervalos do PR e QTc; ao ECO, a regurgitação mitral é leve a moderada, isolada ou associada à regurgitação aórtica de grau leve a moderado e com aumento das câmaras esquerdas em grau leve a moderado.

- Cardite grave: além dos achados da cardite moderada, encontram-se sinais e sintomas de insuficiência cardíaca; arritmias, pericardite e sopros relacionados a graus mais importantes de regurgitação mitral e/ou aórtica podem ocorrer; no exame radiológico, identificam-se cardiomegalia e sinais de congestão pulmonar significativos; o ECG demonstra sobrecarga ventricular esquerda e, às vezes, direita; ao ECO estão presentes regurgitação mitral e/ou aórtica de grau moderado/importante, e as câmaras esquerdas mostram, no mínimo, aumento moderado.

Aproximadamente 40-60% dos episódios de FR resultam em cardiopatia reumática, com a progressão dependente da gravidade da cardite, recorrências e adesão à profilaxia secundária. Em uma porcentagem significativa dos pacientes a cardite é subclínica, com as manifestações ocorrendo anos ou décadas após.

Coréia de Sydenham

Trata-se de uma desordem neurológica caracterizada por movimentos rápidos involuntários incoordenados, que desaparecem durante o sono e são acentuados em situações de estresse e esforço. Os movimentos podem acometer músculos da face, lábios, pálpebras e língua e são, com frequência, generalizados. Pode haver fibrilação da língua e rotação externa das mãos em colher. Há início insidioso caracterizado, geralmente, por labilidade emocional e fraqueza muscular que dificultam o diagnóstico. Disartria e dificuldades na escrita também podem ocorrer. O surto da coréia dura, em média, de dois a três meses, mas pode prolongar-se por mais de um ano.

Embora possa ocorrer como manifestação isolada da FR em 20% dos casos, a coréia se apresenta com frequência associada à cardite clínica ou subclínica (70%) e, mais raramente, à artrite (30%). Também pode aparecer no início do surto, mas geralmente ocorre como manifestação tardia até 7 meses após a infecção estreptocócica. As manifestações coreiformes podem durar meses ou anos. Pode haver desenvolvimento de labilidade emocional, transtorno obsessivo compulsivo, déficit de atenção/hiperatividade, convulsões e enxaqueca crônica, também imunologicamente mediados.

As alterações neurológicas geralmente desaparecem em 2 anos, mas as recorrências são comuns.

Como é tardia, os marcadores inflamatórios frequentemente não estão elevados e a evidência laboratorial de infecção estreptocócica prévia é menos comum do que em cardite ou artrite.

O diagnóstico é clínico, não sendo necessário neuroimagem.

Eritema marginatum

Manifestação rara, descrita em menos de 3% dos pacientes. Tende a ocorrer precocemente, caracterizada por eritema com bordas nítidas, centro claro, contornos arredondados ou irregulares, sendo de difícil detecção nas pessoas de pele escura. As lesões são múltiplas, indolores, não pruriginosas, podendo haver fusão, resultando em aspecto serpiginoso. As lesões se localizam

principalmente no tronco, abdome e face interna de membros superiores e inferiores, poupando a face; são fugazes, podendo durar minutos ou horas, e mudam frequentemente de forma. Ocorrem geralmente no início da doença, porém podem persistir ou recorrer durante meses. Essa manifestação tipicamente está associada à cardite, porém não necessariamente à cardite grave.

Nódulos subcutâneos

Os nódulos subcutâneos são raros, presentes apenas em 2%-5% dos pacientes, e estão fortemente associados à presença de cardite grave. São múltiplos, arredondados, de tamanhos variados (0,5-2 cm), firmes, móveis, indolores e recobertos por pele normal, sem características inflamatórias. Localizam-se sobre proeminências e tendões extensores, sendo mais facilmente percebidos pela palpação do que pela inspeção. Ocorrem preferencialmente em grandes articulações como cotovelos, punhos, joelhos, tornozelos, região occipital, tendão de Aquiles e coluna vertebral. O aparecimento é tardio (uma a duas semanas após as outras manifestações), regride rapidamente com o início do tratamento da cardite e raramente persiste por mais de um mês. São assintomáticos e evanescentes, se resolvendo em poucas semanas a 2 meses.

Crítérios Menores

Artralgia

A artralgia isolada afeta as grandes articulações e se caracteriza pela ausência de incapacidade funcional, cuja presença distingue a artrite. A presença de artralgia com padrão poliarticular migratório e assimétrico envolvendo grandes articulações é altamente sugestiva de febre reumática e frequentemente é associada à cardite. A presença de artrite como critério maior não permite a inclusão da artralgia como critério menor.

Febre

A febre é frequente no início do surto agudo e ocorre em quase todos os surtos de artrite. Pacientes com cardite não associada à artrite podem cursar com febre baixa, enquanto os que se apresentam com coreia pura são afebris.

Outros sinais e sintomas, como epistaxe, dor abdominal, anorexia, fadiga, perda de peso e palidez podem estar presentes, mas não estão incluídos entre as manifestações menores dos critérios de Jones.

Em adultos a artrite domina o quadro, com baixa incidência de cardite. As demais manifestações são raras. Embora os critérios de Jones possam ser aplicados, se tornam menos específicos, devendo se excluir outras causas para as manifestações apresentadas.

Uma vez que outros diagnósticos sejam excluídos, a coreia, a cardite indolente e as recorrências são três exceções em que os critérios de Jones não têm que ser rigorosamente respeitados. Considerando-se a raridade de outras etiologias para a coreia, sua presença implica no diagnóstico de FR, mesmo na ausência dos outros critérios ou da comprovação da infecção estreptocócica anterior. Na cardite indolente, as manifestações clínicas iniciais são pouco expressivas e, quando o paciente procura o médico, as alterações cardíacas podem ser a única manifestação, e os exames de fase aguda, assim como os títulos de anticorpos para o estreptococo, podem estar normais. Nos casos em que o paciente tem história de surto agudo prévio ou de cardiopatia crônica comprovada, o diagnóstico de recorrência pode ser baseado em apenas um sinal maior ou em vários sinais menores ou, simplesmente, em dois sinais menores pelo critério da OMS.

Os critérios de Jones revistos pela OMS e publicados em 2004 destinam-se também ao diagnóstico das recorrências da FR em pacientes com cardiopatia reumática crônica estabelecida:

Primeiro episódio de febre reumática: Dois critérios maiores ou um maior e dois menores mais a evidência de infecção estreptocócica anterior.

Recorrência de febre reumática em paciente sem doença cardíaca reumática estabelecida: Dois critérios maiores ou um maior e dois menores mais a evidência de infecção estreptocócica anterior.

Coreia de Sydenham e cardite reumática de início insidioso: Não é exigida a presença de outra manifestação maior ou evidência de infecção estreptocócica anterior.

Lesões valvares crônicas da cardiopatia reumática: diagnóstico inicial de estenose mitral pura ou dupla lesão de mitral e/ou doença na valva aórtica, com características de envolvimento reumático.

3. AMOSTRA

a- Preparo do paciente

Instruir o paciente a fazer um jejum prévio de pelo menos 8 a 12 horas, para evitar uma possível ocorrência de fenômenos interferentes tais como a lipemia.

b- Tipos de amostra

A amostra para a prova deve ser soro (não usar plasma) recém-obtido, separado o mais rapidamente possível após a coleta, isento de hemólise ou lipemia.

c- Armazenamento e estabilidade

Entre a coleta e a execução da análise, a amostra deve ser mantida sob refrigeração (2 a 8°C) aonde a amostra se mantém estável por até 7 dias, desde que não haja contaminação microbiana. Em temperaturas $\leq 20^\circ\text{C}$ negativos, as amostras permanecem estáveis por até 90 dias, desde que armazenado apenas o soro, após remoção do coágulo e livre de hemácias, e que o congelamento seja realizado antes da amostra completar 12 horas pós coleta.

d- Critérios para rejeição

As amostras que se apresentarem hemólise, lipemia ou alta icterícia, com indícios de contaminação microbiana ou de congelamento com o coágulo deverão ser rejeitadas.

e- Precauções e cuidados especiais

Todas as amostras devem ser manipuladas com extrema cautela, pois podem veicular diversas doenças infecto-contagiosas (hepatite, SIDA etc.). Seu descarte deve ser feito preferencialmente após sua autoclavagem, devendo-se evitar sua eliminação diretamente no meio ambiente. Igual cuidado se recomenda no descarte de outros materiais como ponteiros plásticos, agulhas e seringas, consulte o serviço de vigilância sanitária local sobre as melhores práticas de descarte.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Princípio de técnica

O soro em análise é colocado em contato com um reagente que contém partículas de látex revestidas com Estreptolisina-O. A ASO se presente na amostra, provoca a aglutinação visível a olho nu das partículas do látex. A reação pode ser tanto qualitativa como quantitativa (através da técnica de diluição da amostra).

b- Reagentes

- Reagente do Látex: contém partículas de poliestireno látex a 0,1%, revestidas com Estreptolisina-O de modo a dar sensibilidade de 200 UI/mL, suspensas em tampão glicina pH 8,2, contendo ainda azida sódica a 0,1% como preservativo. Frascos de 2 ou 4 mL.

- Controle ASO Positivo: Soro humano contendo ASO acima de 200 UI/mL e azida sódica a 0,1% como preservativo, pronto para uso. Frascos de 1 mL.

- Controle ASO Negativo: Soro humano normal contendo menos de 200 UI/mL de ASO e azida sódica a 0,1% como preservativo, pronto para uso. Frascos de 1 mL.

- Tampão glicina concentrado: solução salina-glicina tamponada (contém cloreto de sódio a 0,9% e glicina 1%), que depois de diluída a 1:20 apresenta um pH final 8,2 e contendo 0,1% de azida sódica como preservativo. Frasco de 10 mL.

Para preparo do tampão para uso, diluir 1 parte do tampão em 19 partes de água reagentes (por exemplo: 50µL de tampão+1mL de água reagentes). Após diluído, tem validade de 30 dias se armazenado sob refrigeração (2 a 8°C) livre de contaminações.

Obs: Os controles positivo e negativo, e tampão glicina acompanham apenas os produtos de código 551018 e 551020.

c- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte o conjunto pode ser mantido em temperatura ambiente por até 3 dias. No laboratório deve ser armazenado sob refrigeração (2 a 8°C) aonde permanece estável até a data de validade expressa em rótulo desde que isento de contaminação química ou microbiana.

Obs: Não congelar nenhum dos componentes do conjunto.

d- Precauções e cuidados especiais

- Os controles foram testados para a presença de anticorpos anti-HIV e HbsAg, entretanto recomenda-se sua manipulação com a maior cautela possível;
- Os reagentes por conterem azida sódica em sua composição, não podem entrar em contato com metais (como existente em alguns tipos de tubulação), pois há risco de explosão (formação de azidas metálicas); quando de seu descarte, usar água em abundância.
- O produto destinado apenas para o uso diagnóstico *in vitro*;
- Uso restrito por profissionais;
- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;
- Não inalar ou ingerir;
- Não utilizar o produto com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor ou espessura;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;
- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para "Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A" para o manuseio seguro;
- Para acondicionamento e descarte do material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Recomendamos o uso dos sacos DetriLab;
- Os procedimentos de manuseio referentes ao processamento e manuseio para o descarte deverá estar de acordo com a RDC 222, DE 28 DE MARÇO DE 2018 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Tubos de ensaio 12x75 mm;
- Água destilada ou deionizada com condutividade inferior a 0,5 µS/cm;
- Fonte de luz branca incidente;
- Lâmina de vidro com fundo preto com 6 delimitações;
- Micropipeta 40 µL ou outro, e ponteiros descartáveis.

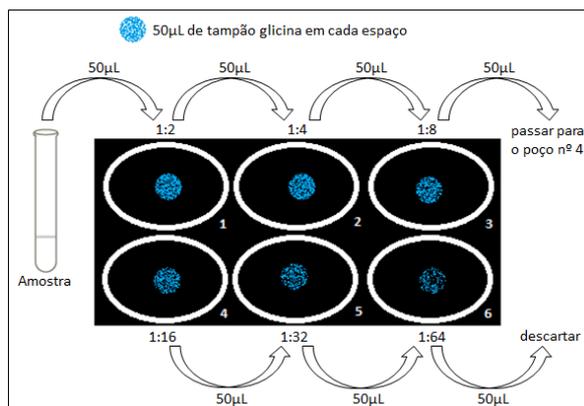
6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

6.1 Prova qualitativa (triagem)

- Deixar que os reagentes e amostras adquiram a temperatura ambiente;
- Adicionar 0,04mL da amostra e dos controles positivo e negativo nas delimitações da lâmina de vidro;
- Agitar vigorosamente o reagente Látex (em vórtex ou batendo contra a palma da mão 10-15 vezes), e adicionar 0,04mL deste a amostra e controles, homogeneizando a seguir com os bastões próprios;
- Agitar em agitador mecânico tipo Kline ou similar (cerca de 80 a 100rpm) por 2 minutos;
- Resultados: observar a lâmina sob uma fonte de luz branca incidente, a olho nu, procurando uma aglutinação das partículas do látex, caracterizando assim a amostra como contendo ASO em concentração superior a 200UI/mL, do contrário, não ocorrendo aglutinação das partículas de látex, considera-se a concentração de ASO na amostra como inferior a 200UI/mL.

6.2 Prova quantitativa

- Preparar uma série de diluições do soro entre 1:2 e 1:128 (podendo ir além deste título), numerando 7 tubos (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 e 1:128), acrescentando a seguir 0,5 mL de tampão glicina pH 8,2 em cada um deles, e 0,5 mL da amostra no primeiro tubo, homogeneizando e transferindo 0,5 mL desta diluição para o próximo tubo, e assim por diante desprezando a última alíquota;



- Testar as diluições conforme o disposto na técnica qualitativa, substituindo as amostras pelas diluições;
- Resultado: o título é considerado como a recíproca da maior diluição que apresentar reação positiva (aglutinação visível a olho nu).

ATENÇÃO

Recomendamos que para a pipetagem de reagentes e controles sejam usadas apenas ponteiros descartáveis a fim de se evitar a contaminação dos reagentes e controles. O usuário pode, a seu critério, visando aumentar o rendimento do material, utilizar 0,025 mL (25 µL) dos controles, amostras e do reagente látex para realizar as reações, porém, considerar a redução da área de avaliação.

6.3 Precauções e cuidados especiais

- Homogeneizar corretamente o látex antes de executar a prova;
- A rotação da lâmina muito rápida pode ocasionar a ruptura das ligações entre o ASO da amostra e as partículas de látex do reagente causando resultados falso negativos;
- Para diluição de amostras usar apenas o tampão glicina;
- Manter a lâmina de reação sempre limpa, seca e desengordurada antes do uso, a presença de partículas de sabão afetam os resultados;
- O uso de reagentes com partículas ressecadas pode ocasionar resultados falso positivos, para se evitar, guardar os frascos com os conta-gotas preenchidos;
- A intensidade da aglutinação não é proporcional à concentração de ASO na amostra analisada (é necessária a execução da técnica quantitativa para todas as amostras reativas);
- Não utilizar o microscópio para executar a leitura da reação;
- O uso de outras substâncias que não o tampão glicina na diluição das amostras (tais como água destilada ou solução salina) acarreta alteração no padrão de resposta do reagente do látex.

7. RESULTADOS

Indicar resultados frente a concentração de ASO na amostra:

- Negativo

Reportar como "Amostra analisada com concentração de Antiestreptolisina-O inferior a 200 UI/mL" ou

- Positivo

Reportar como "Amostra analisada com concentração de Antiestreptolisina-O de (Indicar concentração) UI/mL".

Observação: em soros normais, sempre existe ASO em concentração inferior a 200UI/mL, e por esta razão não se deve expressar um resultado como "negativo". Valores inferiores a 200 UI/mL não são significativos para a infecção estreptocócica.

Efeito prozona: o efeito prozona ocorre quando uma amostra com valor elevado de ASLO apresenta resultado negativo. Não há efeito prozona até a concentração de ASLO de 2000 U.I./mL.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)

- Não se observa efeito prozona com valores até 2000 UI/L.
 - Valores abaixo de 200 UI/L levam a resultados pouco reprodutivos.
 - Dados de literatura relatam que em pacientes submetidos a tratamento com estrogênios podem apresentar resultados falso-positivos.
 - Injeções subcutâneas de certas bactérias mortas, vacinas (estreptococos, A. aerogenes, etc) podem resultar em reações falso-positivas.
 - O congelamento dos reagentes leva a reações inespecíficas de aglutinação.
 - A utilização de amostras inadequadas, com mais de um processo de congelamento e descongelamento, apresentando qualquer turbidez após 24 horas ou que tenham sido armazenadas sem a correta separação soro/coágulo, podem apresentar resultados inespecíficos.
 - Pacientes no uso de corticoides podem apresentar valores artificialmente baixos de ASO.
 - Todos os anticoagulantes interferem no desempenho do teste.
 - Resultado falsamente positivo pode ocorrer em pacientes com artrite reumatóide, escarlatina, amigdalite e infecções estreptocócicas.
 - Resultado falsamente negativo pode ocorrer em pacientes com infecções recentes e crianças com idade entre seis meses e dois anos.
 - A reutilização de materiais e acessórios para a execução desta técnica deve ter total atenção do usuário quanto a possibilidade de contaminações microbianas ou químicas que possam afetar o desempenho da reação e, conseqüentemente, os resultados das análises.
 - As lâminas utilizadas nas reações podem ser reutilizadas, a critério do usuário, porém, é fundamental a atenção ao processo de limpeza destas.
 - A limpeza deve ser feita apenas com água corrente abundante, após molho, ou com a utilização de detergentes enzimáticos, submetendo sempre a enxague longo.
- Interferentes diretos:
- Bilirrubina > 20 mg/dL
 - Hemoglobina > 10 g/L
 - Lipídeos > 10 g/L
 - Fator Reumatóide > 300 UI/mL

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- Materiais necessários

Controles positivo e negativo incluídos no conjunto, ou amostras de referência certificadas.

- Periodicidade

Ao receber o conjunto e preferentemente a cada bateria de amostras, efetuar testes usando os controles que acompanham o conjunto ou amostras de referência.

- Interpretação e avaliação

Uma vez que a função do controle de qualidade é garantir que o material usado esteja fornecendo resultados compatíveis com os esperados e dentro de um padrão de desempenho, espera-se que o controle positivo apresente aglutinação e que o controle negativo não apresente aglutinação. Dispondo-se de amostras de referência com título conhecido, pode-se avaliar a sensibilidade do material, em periodicidade a ser estabelecida pelo próprio laboratório conforme seus procedimentos adotados.

A sensibilidade diagnóstica é 98% e a especificidade diagnóstica 97%. Em testes de desempenho frente a outras marcas do mercado e em amostras com resultados conhecidos, este reagente apresentou 100% de sensibilidade e 100% de especificidade. Em testes de desempenho entre métodos, considerando amostras positivas com resultados ≥ 200 UI/mL e amostras negativas com resultados ≤ 200 UI/mL, nas 185 amostras testadas, tendo por padrão os resultados obtidos por Nefelometria, se obteve os seguintes resultados:

PCR	Látex	Turbidimetria	Nefelometria
Positivo (102 amostras)	99	102	102
Negativo (83 amostras)	81	83	83

Portanto, entre as técnicas de aglutinação de partículas específicas e turbidimetria ou nefelometria, neste grupo de amostras, apresentou 97,1% de sensibilidade e 97,6% de especificidade.

10. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:

- O usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
 - Os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
 - Os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.
- Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-0410027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

11. REFERÊNCIAS

1. Aviles, RJ, Ramakrishna, G, Mohr, DN, Michet, CJ Jr. Poststreptococcal arthritis reactiv in adults: a cases series. Mayo Clin Proc 2000 75:144.
2. Ayoud EM: Acute rheumatic fever and pos streptococcal reative arthritis. In: Cassidy JT, Petty RE, editor. Textbook of pediatric rheumatology, 4 ed Philadelphia: Saunders, 2001.
3. Ayoub, EM. Ressurgimento da febre reumática nos Estados Unidos. A imagem em movimento de uma doença evitável. Postgrad Med 1992 92:133.
4. Bach, G.L.; Wiatr, R.A.; Anderson, T.O. & Cheatie, E. The latex ASO test: A rapid screening procedure for detection of elevated Antistreptolysin titers. Am. J. Clin. Path., Vol. 52, n.1, p. 126-128, 1969.
5. Barbosa PJB, Müller RE, Latado AL, Achutti AC, Ramos AIO, Weksler C, et al. Diretrizes Brasileiras para Diagnóstico, Tratamento e Prevenção da Febre Reumática da Sociedade Brasileira de Cardiologia, da Sociedade Brasileira de Pediatria e da Sociedade Brasileira de Reumatologia. Arq Bras Cardiol.2009;93(3 supl.4):1-18.
6. Borges F, Barbosa ML, Borges RB et al. Características clínicas demográficas em 99 episódios de febre reumática no Acre. Amazônia brasileira. Arq Brasileiro de Cardiologia 2005 84:111-114.
7. Braunwald 9th edition, pp 1868-1876.
8. Burke, JB. Eritema marginado. Arch Dis Child 1955 30:359.
9. Carapetis, JR, Currie, BJ. Rheumatic fever in a high incidence population: the importance of monoarthritis and low grade fever. Arch Dis Child 2001 85:223.
10. Costa LT, Dominiciano DS, Pereira RM. Características demográficas, clínicas, laboratoriais e radiológicas da febre reumática no Brasil: revisão sistemática. Revista Brasileira de reumatologia set/out 2009 vol 49: 606-616.
11. Crea, MA, Mortimer, EA. The nature of scarlatinal arthritis. Pediatrics 1959 23:879.
12. Critérios de Jones (revisto) para orientação no diagnóstico da febre reumática. Circulation 1965 32:664.
13. De Cunto, CL, Giannini, EH, Fink, CW, et al. Prognosis of children with poststreptococcal reactive arthritis. Pediatr Infect Dis J 1988 7:683.
14. Diretrizes para o diagnóstico de febre reumática. Jones Criteria, 1992. Special Writing Group da Comissão da Febre Reumática, Endocardite e Doença de Kawasaki do Conselho sobre Doença Cardiovascular no jovem da Associação Americana do Coração. JAMA 1992, 268:2069.
15. Ferrieri, P. Proceedings of the workshop criteria de Jones. Circulation 2002 106:2521.

16. Henry, J.B. et al.: Diagnósticos clínicos e conduta terapêutica por exames laboratoriais, 16a. ed., Ed. Manole, 1983.
17. Hodge, B.E. & Swit, H.F. Varying hemolytic and constant combining capacity of streptolysins, J. Exp. Med., 58, p. 277-287, 1933.
18. Ingram, G.B.P. & Hughes, J.E.P. A modified rapid slide test for anti-streptolysin-O. Am. J. Clin. Ath., V.25, p. 543-544, 1972.
19. Jones, TD. O diagnóstico de febre reumática. JAMA 1944 126:481.
20. Kalbak, K. The anti-streptolysin reaction. The State Serum Institute Denmark, 1947.
21. Kaplan EL: Febre Reumática In: Harrison Medicina Interna, 15ed, McGraw-Hill Interamericana do Brasil Ltda. 2002 v1 235:1418-1421.
22. Kelin, G.C.; Baker, C.N. & Moody, M.D. Comparison of anti-streptolysin-O latex screening test with the anti-streptolysin-O hemolytic test, App. Mic., V. 19, 60-61, 1970.
23. Narula, J, Kaplan, EL. Echocardiographic diagnosis of rheumatic fever. Lancet 2001 358:2000.
24. Narula, J, Malhotra A, Yasuda, T, et al. Utilidade da imagem antimitocôndrio anticorpos para a detecção de miocardite reumática ativa. Am J Cardiol 1999 84:946.
25. Palieri, S. Validità del test al lattice nella degli anticorpi anti-streptolisinici e proposta per l'utilizzazione del test nella titolazione. Quad Sclavo diagn. V5, n2, p. 236-241, 1969.
26. Paulo LT, Terrier MT, Barbosa CM, Len CA, Hilario MO. Is a rheumatic fever a more severe disease in preschool children? Acta Reumatol port 1994 34:61-4.
27. Pereira BAF, Silva NA, Netto JCA. Controvérsias no diagnóstico e manejo da Febre Reumática. Rev Bras de Reumat Jul/Agost 2002 42(4):236-240.
28. Prokopowistsh AS, Lotufo PA. epidemiologia da febre reumática no século XXI. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo 200515:1-6.
29. Rachid A. Novidades e aspectos clínicos controversos da Febre Reumática. Revista Brasileira de Reumatologia maio/jun 2002, vol 42 3:176-181
30. Rachid A. Avaliação de outros métodos de diagnósticos da febre reumática. Rev Bras Reumat jul/ago 2002 42(4):231-235.
31. Rachid A, Mayer KC, Munhoz ES. Novas doenças estreptocócicas de interesse reumatológico, nossa experiência com artrite reativa pos-estreptocócica. Rev Bras de Reumat Mai/jul 2002 42:3 169-175.
32. Rantz, L.A. and Randal, E. A modification of the technic for determination of the anti-streptolysin titer. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med n59, p. 22-25, 1945.
33. Robins, S. et al.: Patologia estrutural e funcional, 4a ed., G. Koogan, 1991.
34. Sacks, L, Feinstein, AR, Taranta, A. A controlled psychologic study of Sydenham's chorea. J Pediatr 1962 61:714.
35. Silva CHM. Febre Reumática: um estudo multicêntrico no estado de São Paulo. Ver Hosp Fac Med de São Paulo 1999 54:85-90.
36. Tarasoutchi F, Montera MW, Grinberg M, Barbosa MR, Piñeiro DJ, Sánchez CRM, Barbosa MM et al. Diretriz Brasileira de Valvopatias – SBC 2011 / I Diretriz Interamericana de Valvopatias – SIAC 2011. Arq Bras Cardiol 2011; 97(5 supl. 1): 1-67.
37. Terrier MTRA, Caldas AM, Len CA, Ultchak F, Hilario MOE. Características clínicas e demográficas de 193 pacientes com febre reumática. Rev Bras de Reumatologia 2006 46:3 85-90.
38. Todd, E.W. Antigenic streptococcal hemolysin, J. Med. N 55, p.267-280, 1932.
39. Todd, E.W. A comparative serological study of streptolysins derived from human and from animal infections, with notes on pneumococcal hemolysin, tetanolysin and Staphylococcus toxin. J. Path. And Bact., N 39, p. 299-320, 1934.
40. Veasy, LG. Time to take soundings in acute rheumatic fever. Lancet 2001 357:1994.
41. Zamen MM Rouf MA ET AL. Int j of Cardiol 1998 66:17-21.



Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

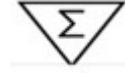
CNPJ 76.619.113/0001-31
Insc. Estadual 1370012926
Rua Casimiro de Abreu, 521
Pinhais/PR CEP 83.321-210
Telefone (41) 3661-9000

www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:

Maire Wakamori – CRF/PR-20176
Serviço de Assessoria ao Cliente
SAC 0800-0410027
sac@laborclin.com.br

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnóstico in vitro.
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Européia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento		Esterilização utilizando óxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco.
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso.
	Controle		Controle Negativo
	Controle Positivo		Manter seco
	Manter afastado da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho
	Não utilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)