

Quantitative determination of anti-streptolysin O (ASO)

IVD

Store 2-8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The ASO-Turbilatex is a quantitative turbidimetric test for the measurement of ASO in human serum or plasma.

Latex particles coated with streptolysin O (SLO) are agglutinated when mixed with samples containing ASO. The agglutination causes an absorbance change, dependent upon the ASO contents of the patient sample that can be quantified by comparison from a calibrator of known ASO concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

SLO is a toxic immunogenic exoenzyme produced by β-hemolytic Streptococci of groups A, C and G. Measuring the ASO antibodies are useful for the diagnostic of rheumatoid fever, acute glomerulonephritis and streptococcal infections. Rheumatic fever is an inflammatory disease affecting connective tissue from several parts of human body as skin, heart, joints etc... and acute glomerulonephritis is a renal infection that affects mainly to renal glomerulus.

REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, pH 8.2. Sodium azide 0.95 g/L.
Latex (R2)	Latex particles coated with streptolysin O, pH 10.0. Sodium azide 0.95 g/L.
ASO-CAL	Liquid Calibrator. Human serum. ASO concentration is stated on the vial label.
Optional	Ref.:1102114 Control ASO/CRP/RF Level L Ref.:1102115 Control ASO/CRP/RF Level H

PRECAUTIONS

Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HBsAg, HCV, and antibody to HIV (1/2). However handle cautiously as potentially infectious.

CALIBRATION

Use ASO Calibrator Reference 1107012.

The sensitivity of the assay and the target value of the calibrator have been standardized against the ASO International Calibrator (WHO).

The calibration in the SPINLAB 180 is stable for 3 weeks.

Recalibrate when control results are out of specified tolerances, when using different lot of reagent and when the instrument is adjusted.

PREPARATION

Working reagent: Swirl the latex vial gently before use. Prepare the necessary amount as follow:

- 1 mL Latex Reagent + 9 mL Diluent

ASO Calibrator: Ready for use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Reagent deterioration: Presence of particles and turbidity.

Working reagent: Stable for 30 days at 2-8°C.

Do not freeze; frozen Latex or Diluent could change the functionality of the test.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Thermostatic bath at 37°C.

- Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 540 nm filter.

SAMPLES

Fresh serum. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C.

Samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing.

Do not use highly hemolized or lipemic samples.

PROCEDURE

1. Bring the working reagent and the photometer (cuvette holder) to 37°C.

2. Assay conditions:

Wavelength: 540 nm (530-550)

Temperature: 37°C

Cuvette lighth path: 1 cm

3. Adjust the instrument to zero with distilled water.

4. Pipette into a cuvette:

Working Reagent (mL)	1.0
Calibrator or sample (μL)	10

5. Mix and read the absorbance immediately (A₁) and after 2 minutes (A₂) of the sample addition.

Spinreact has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

CALCULATIONS

$$\frac{(A_2 - A_1)_{\text{sample}}}{(A_2 - A_1)_{\text{calibrator}}} \times \text{Calibrator concentration} = \text{IU/mL ASO}$$

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. It should be used the SPINREACT Controls ASO/CRP/RF Level L (Ref.: 1102114) and Level H (Ref.: 1102115).

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES

Normal values up to 200 IU/mL (adults) and 100 IU/mL (children < 5 years old)⁶. Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Linearity limit: Up to 800 IU/mL, under the described assay conditions. Samples with higher concentrations, should be diluted 1/3 in NaCl 9 g/L and retested again. The linearity limit depends on the sample-reagent ratio, as well the analyzer used. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.

2. Detection limit: Values less than 20 IU/mL give non-reproducible results.

3. Prozone effect: No prozone effect was detected up to 3000 IU/mL.

4. Sensitivity: Δ 0.73 mA. IU/mL.

5. Precision:

Mean (IU/mL)	Intra-assay (n=10)			Inter-assay (n=10)		
	135	236	372	135	236	372
SD	3.4	5.4	5.9	7.9	13.2	17.7
CV	2.5	2.3	1.6	5.9	5.5	4.8

6. Accuracy: Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using a commercial reagent (x) with similar characteristics. 80 samples ranging from 20 to 800 IU/mL of ASO were assayed. The correlation coefficient (r) was 0.98 and the regression equation y = 1.305x - 7.65.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Bilirubin (20 mg/dL), hemoglobin (10 g/L), lipemia (10 g/L) and rheumatoid factors (600 IU/mL), do not interfere. Other substances may interfere⁷.

NOTES

Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

- Haffeejee I, Quarterly Journal of Medicine 1992, New series 84; 305: 641 - 658.
- Alouf Jodeph E. Pharma Ther 1980; 11: 661-717.
- M Fasani et al. Eur J Lab Med 1994; vol2.nº1: 67.
- Todd E W. J Exp Med 1932; 55: 267 - 280.
- Klein, GC. Applied Microbiology 1970; 19:60-61.
- Klein GC. Applied Microbiology 1971; 21: 999-1001.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PACKAGING

Ref.: 1107010N	Cont.	: 1 x 45 mL R1. Diluyente
		: 1 x 5 mL R2. Latex
		: 1 x 1 mL ASO-CAL
Ref.: 1107010L		: 1 x 225 mL R1. Diluyente
		: 1 x 25 mL R2. Latex
		: 1 x 1 mL ASO-CAL

Determinación cuantitativa de anti-estreptolisina O (ASO) IVD

Conservar a 2- 8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El ASO-turbilátex es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de anti-estreptolisina O (ASO) en suero humano.

Las partículas de látex recubiertas con estreptolisina O (SLO) son aglutinadas por anticuerpos ASO presentes en la muestra del paciente. El proceso de aglutinación provoca un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de ASO de la muestra, y por comparación con un calibrador de ASO de concentración conocida se puede determinar el contenido de ASO en la muestra ensayada.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La estreptolisina O es un exoenzima inmunogénico tóxico producido por estreptococos β-hemolíticos del grupo A, C y G. La cuantificación de los anticuerpos ASO se utiliza para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades como las fiebres reumáticas, glomerulonefritis agudas, y otras infecciones estreptocócicas. La fiebre reumática es una enfermedad inflamatoria que afecta al tejido conectivo de diversas zonas del cuerpo humano (piel, corazón, articulaciones etc...) y la glomerulonefritis aguda es una inflamación del riñón que afecta principalmente a los glomérulos renales.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris, 20 mmol/L, pH, 8,2. Azida sódica 0,95 g/L.
Látex (R2)	Partículas de látex cubiertas con SLO, pH, 10,0. Azida sódica 0,95 g/L.
ASO-CAL	Calibrador líquido. Suero humano. La concentración de ASO viene indicada en la etiqueta del vial.
Opcional	Ref.: 1102114 Control ASO/PCR/RF Nivel L Ref.: 1102115 Control ASO/PCR/RF Nivel H

4. Pipetear en una cubeta:

Reactivo de Trabajo (mL)	1,0
Calibrador o muestra (µL)	10

5. Mezclar y leer la absorbancia frente al blanco inmediatamente (A₁) y a los 2 minutos (A₂) de efectuada la mezcla.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CÁLCULOS

$$\frac{(A_2 - A_1)_{muestra}}{(A_2 - A_1)_{calibrador}} \times \text{concentración del Calibrador} = \text{UI/mL ASO}$$

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Debe usarse los controles de SPINREACT ASO/PCR/FR nivel L (Ref: 1102114) y nivel H (Ref: 1102115). Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA

Valores normales hasta 200 UI/mL (adultos) y 100 UI/mL (niños < 5 años)⁶. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

- Límite de linealidad:** Hasta 800 UI/mL, en las condiciones descritas del ensayo. Puede variar en función del analizador o espectrofotómetro utilizado. Muestras con valores superiores deben diluirse 1/3 en ClNa 9 g/L y ensayarse de nuevo. La linealidad del ensayo depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior de linealidad, aunque se reduce la sensibilidad.
- Límite de detección:** Valores por debajo de 20 UI/mL dan lugar a resultados poco reproducibles.
- Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 3000 UI/mL.
- Sensibilidad:** Δ 0,73 mA. UI/mL
- Precisión:**

Media(UI/mL)	Intra-ensayo (n=10)			Inter-ensayo (n=10)		
	135	236	372	135	236	372
SD	3,4	5,4	5,9	7,9	13,2	17,7
CV	2,5	2,3	1,6	5,9	5,5	4,8

- Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con otro método (x) de características similares. 80 muestras de concentraciones de ASO entre 20 y 800 UI/mL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,98 y la ecuación de la recta de regresión y = 1,305x - 7,65.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (10 g/L), lípidos (10 g/L) y factores reumatoides (600 UI/mL) no interfieren. Otras sustancias pueden interferir⁷.

NOTAS

El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFÍA

- Haffejee I, Quarterly Journal of Medicine 1992, New series 84; 305: 641 - 658.
- Alouf et al. Biocheimie 1973; 56-61.
- Fasani M et al. Eur J Lab Med 1994; vol2.nº1: 67.
- Todd E W. J Exp Med 1932; 55: 267 - 280.
- Klein et al. Applied Microbiology 1970; 19: 60-61.
- Klein GC. Applied Microbiology 1971; 21: 999-1001.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PRESENTACIÓN

Ref.: 1107010N	Cont.	: 1 x 45 mL R1. Diluyente
		: 1 x 5 mL R2. Látex
		: 1 x 1 mL ASO-CAL
Ref.: 1107010L		: 1 x 225 mL R1. Diluyente
		: 1 x 25 mL R2. Látex
		: 1 x 1 mL ASO-CAL

PRECAUCIONES

Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

CALIBRACIÓN

Usar el Calibrador ASO Referencia 1107012. La sensibilidad de los reactivos y el valor de concentración del calibrador están estandarizados frente el Patrón Internacional de ASO de OMS. La calibración en el SPINLAB 180 es estable durante 3 semanas. Recalibrar cuando los resultados del control están fuera de especificaciones, cuando se usa diferente lote de reactivo y cuando se ajusta el instrumento.

PREPARACIÓN

Reactivo de Trabajo: Homogeneizar el Reactivo de Látex con suavidad antes de diluirlo. Preparar la cantidad necesaria según la siguiente proporción:
- 1 mL Reactivo Látex + 9 mL Reactivo Diluyente

Calibrador de ASO: Listo para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el envase cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

Indicadores de deterioro de los reactivos : Presencia de partículas y turbidez.
Reactivo de Trabajo: Estable 30 días a 2-8°C.
La congelación de los reactivos de Látex y Diluyente altera irreversiblemente la funcionalidad de los mismos.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatizable a 37°C para lecturas a 540 nm.

MUESTRAS

Suero fresco. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C. Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de usar. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

- Calentar el Reactivo de Trabajo y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.
- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 540 nm (530 - 550)
Temperatura: 37°C

Paso de luz de la cubeta: 1 cm
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

