



Para la medición cualitativa y cuantitativa de anticuerpos de antistreptolisina –O en suero humano.

Sólo para uso profesional In-Vitro
Conservar a temperatura de 2°C - 8°C

USO PREVISTO

La antistreptolisina-O (ASO) latex es utilizada para la medición cualitativa y cuantitativa de anticuerpos de antistreptolisina –O en suero humano.

INTRODUCCION

El grupo A- β estreptococos hemolíticos produce varias toxinas que pueden actuar como antígenos. Una de estas exotoxinas streptolisinas-O, fue descubierta por Todd en 1932.¹

Una persona infectada con el grupo A- β estreptococos hemolíticos produce anticuerpos específicos en contra de estas toxinas, una de las cuales es la streptolisina-O. La calidad de este anticuerpo en el suero del paciente establecerá el grado de infección debido al β - estreptococo hemolítico.²

El procedimiento usual para la determinación de la titulación de antistreptolisina está basado en el efecto inhibitorio que el suero del paciente produce en la fuerza hemolítica de un pretitulado y streptolisina-O reducida.²⁻⁶

Sin embargo, la reacción del antígeno-anticuerpo ocurre independientemente de la actividad hemolítica de streptolisina-O.⁷ Esta propiedad permite el establecimiento de la prueba cualitativa y cuantitativa para la determinación de la antistreptolisina-O por aglutinación de partículas de latex en el slice.²

PRINCIPIOS.

El método de la prueba de ASO es basado en la reacción inmunológica entre exotoxinas estreptocócicas ligado a partículas de latex biológicamente inertes y anticuerpos estreptocócicos en la muestra de la prueba.

MATERIALES SUMINISTRADOS.

- Reactivo ASO Latex: una suspensión de partículas de poliestireno recubiertas con exotoxinas estreptocócicas. **Mezcle bien antes de usar.**
- Control positivo ASO: Un suero reactivo humano estabilizado con el reactivo de la prueba. Lista para usar; no diluir. (>200 IU/ml).
- Control ASO negativo: Un suero no-reactivo humano estabilizado con el reactivo de la prueba. Lista para usar; no diluir.
- Slide de reacción.
- Palillo para agitar.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS.

- Reloj.
- Tubos de ensayo 12x75mm.
- Gradilla para tubos de ensayo.
- Pipetas serológicas.
- Luz de alta intensidad.
- Solución salina, 0.9% NaCl.

PRECAUCIONES

• Todos los reactivos contienen 0.1% (w/v) de azida de sodio como un preservativo. Conservar todos los reactivos a 2-8°C. **NO CONGELAR.**

• Los reactivos que contienen azida de sodio pueden combinarse con cobre y conducir el canal para formar ázidas metálicas altamente explosivas. Deseche los reactivos lavando con gran cantidad de agua para prevenir la acumulación de ázida.

• Sólo para uso diagnóstico In Vitro.

• Los controles positivos y negativos preparados utilizando suero humano fueron encontrados negativo para el antígeno de la hepatitis B (HbsAg) y HIV-III mediante la prueba requerida por la FDA; sin embargo, maneje los controles como si fueran potencialmente infecciosos.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL REACTIVO.

• Los reactivos estarán estables hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta de la botella cuando es conservado refrigerado (2-8°C).

•NO CONGELAR.

• El reactivo ASO Latex, una vez mezclado debe ser uniforme sin aglutinación visible. Cuando se conserva refrigerado podría ocurrir una leve sedimentación, y debe ser considerada normal.

• No use el reactivo latex o controles si han sido contaminados.

COLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DEL ESPECIMEN.

• Utilice un suero fresco colectado por centrifugación de la sangre coagulada. Si la prueba no puede llevarse a cabo el mismo día, almacene el espécimen por 7 días a 2-8°C y por 3 meses a -20°C.

• Para largos períodos de tiempo, la muestra debe ser congelada.

• Como en todas las pruebas serológicas, no debe usarse hemolíticas y sueros contaminados.

•NO UTILICE PLASMA.

PROCEDIMIENTO.

A. Prueba cualitativa:

1. Lleve los reactivos y especímenes a temperatura ambiente antes de utilizarlos.
2. Coloque una gota (40 μ l) del control positivo de ASO en la casilla #1 del slice de reacción. Coloque una gota (40 μ l) del control negativo ASO en la casilla #2 del slice de reacción. Utilizando una pipeta serológica coloque (40 μ l) de diluyente de la muestra en la casilla #3. Continúe igualmente con incógnitas adicionales. Utilice diferentes pipetas para diferentes muestras.
3. Suavemente re-suspenda el reactivo de ASO látex y agregue una gota en cada casilla de prueba.
4. Mezcle bien usando el palillo para agitar. Suavemente sacuda el slice por tres (3) minutos y lea inmediatamente bajo la luz directa.

B. Prueba cuantitativa:

1. Establecer al menos cinco tubos de ensayo: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, etc.
2. Diluya la muestra de acuerdo al factor de dilución en cada tubo de ensayo con solución salina al 0.9%.
3. Coloque una gota de cada control positivo y negativo en los anillos del slice. Coloque una gota de

cada dilución en campos sucesivos en el slice de reacción.

4. Suavemente re-suspenda el reactivo de ASO látex y agregue una gota en cada casilla de la prueba.

5. Mezcle bien con el palillo para agitar. Suavemente sacuda el slice por tres (3) minutos y lea inmediatamente bajo la luz directa.

CONTROL DE CALIDAD.

Los controles positivos y negativos deben ser incluidos en cada lote de la prueba.

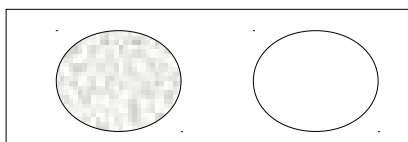
Un rendimiento aceptable es indicado cuando una suspensión lechosa uniforme sin aglutinación es observada con el control ASO negativo y con el control ASO positivo se observa aglutinación con grandes agregados.

RESULTADOS

A.PRUEBA CUALITATIVA:

Una reacción negativa es indicada por una suspensión lechosa uniforme sin aglutinación como se observa con el control ASO negativo.

Una reacción positiva es indicada por cualquier aglutinación observable en la reacción de la mezcla. La reacción del espécimen debe compararse al control ASO negativo (Fig.1).



Positivo

Negativo

B.PRUEBA CUANTITATIVA

Una reacción positiva es indicada por cualquier aglutinación observable en la reacción de la mezcla. Registre la última dilución mostrando una reacción positiva. La concentración de ASO puede ser determinada multiplicando el último factor de dilución positiva de la muestra con la concentración del control positivo (200 IU/ml).

La titulación del suero es recíproca de la mayor dilución que exhibe una reacción positiva.

IU/ml de muestra = conc. De control positivo (200) x titulación de especimen

DILUTION	IU/ml
1:1	200
1:2	400
1:4	800
1:8	1600
Etc.	

LIMITACIONES

- Los resultados deben leerse tres (3) minutos después de la mezcla de los reactivos en el slide. Una lectura realizada después de este período de tiempo podría ser incorrecta.
- No ha sido encontrada la existencia de prozona a altas titulaciones.

VALORES ESPERADOS

1. A pesar de que los valores normales pueden variar con la edad, la estación del año y el área geográfica², el "límite superior de la normalidad" de la titulación de antiestreptolisina-O está por encima de 200IU/ml para adultos y 100.0 IU/ml para niños. Debido a esta variación, titulaciones por encima del límite superior debe ser un indicativo de una infección estreptocócica, pero sólo un aumento de dilución en la titulación entre aguda y estado convalescente del espécimen deben ser consideradas significativas¹.

2. Después de la infección estreptocócica aguda, la titulación de antiestreptolisina-O, generalmente se elevará después de una semana, incrementándose a el nivel máximo dentro de 3 a 5 semanas y generalmente retornando al nivel de pre-infección en aproximadamente 6 a 12 meses².

CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica:

200 (±50) IU/ml.

Efecto Prozone:

Ningún efecto prozone fue detectado hasta 1500IU/ml.

Sensibilidad:

98%

Especificidad:

97%

INTERFERENCIAS

SUSTANCIAS QUE NO INTERFIEREN:

Hemoglobina (10g/dl)
Bilirrubina (20mg/dl)
Lipemia (10g/dl)
Otras sustancias pueden interferir.

REFERENCIAS

1. Todd. E.W., J. Exp. Med. 55:267-280, (1932).
2. Klein. O.C. Immune Response to Streptococcal Infection, Manual of Clinical Immunology, American Society of Microbiology, (1974).
3. Kalbak, K., The State Serum Institute. Denmark, (1947).
4. Klein, G.C., et al., Applied Microbiology. 19:60 (1970).
5. Klein, G.C., et al. Applied Microbiology, 21:999 (1971).
6. Rantz, L.A. et al. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 59:22 (1945).
7. Hodge, B.K. Exp. Med. 58:277 (1933).

ATLAS Medical

William James House,
Cowley Road, Cambridge, CB4 4WX, UK
Tel: ++44 (0) 1223 858 910
Fax: ++44 (0) 1223 858 524
PPI003A01
Rev D (15.05.2010)