

USO

Dispositivo medico-diagnostico, in vitro, per la determinazione rapida qualitativa e/o semiquantitativa su card degli anticorpi anti-streptolisina O (ASLO) nel siero (metodo al lattice).

Il test viene eseguito facendo reagire una sospensione di particelle di lattice rivestite con antigeni streptolisina O ed il campione di siero da analizzare. Lo sviluppo, o meno, di agglutinazione visibile indica la presenza, o l'assenza di ASLO nel campione testato.

CONTENUTO DEL KIT

Codice	Confezione		
S31519	2 flaconi	2 x 3 ml	Immunoagente
	1 flacone	1 x 1 ml	Controllo positivo
	1 flacone	1 x 1 ml	Controllo negativo
	cards	2	

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

- Immunoagente (ASLO-Latex):** sospensione stabilizzata di particelle di lattice in polistirene, sensibilizzate con streptolisina O, in soluzione salina tamponata. Contiene sodio azoturo 0.95 g/l
- Controllo positivo:** siero umano con attività > 200 IU/ml di ASLO. Contiene sodio azoturo 0.95 g/l
- Controllo negativo:** siero di provenienza animale con attività < 100 IU/ml di ASLO. Contiene sodio azoturo 0.95 g/l

Gli emoderivati di origine umana sono stati analizzati e riscontrati negativi per la presenza di anticorpi anti-HIV 1-2, anti-HCV e per HBsAg. Tali emoderivati e tutti i campioni biologici impiegati devono essere considerati, comunque, POTENZIALMENTE INFETTI e, come tali, manipolati secondo la B.P.L.



ATTENZIONE: il materiale reagentario presente nel kit contiene sodio azoturo: evitare il contatto con la pelle e/o le mucose

CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI.

Il contenuto del kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sulle relative etichette, se conservato a 2-8°C ben chiuso, lontano da fonti di luce, evitando accuratamente contaminazioni durante l'uso.
NON CONGELARE.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

I reagenti sono pronti all'uso.

RACCOLTA DEL CAMPIONE



Utilizzare siero fresco ottenuto per centrifugazione. La stabilità dell'ASLO nel siero è di 7 giorni a 2-8°C. Per lunghi periodi di stoccaggio è necessario conservare il campione a -20°C: evitare procedure di scongelamento-congelamento

MATERIALE AGGIUNTIVO

- Micropipette automatiche
- Agitatore orbitante (100 r.p.m.)
- Contagocce monouso
- Timer
- Soluzione fisiologica (NaCl 0.9%, da utilizzarsi soltanto per la procedura semiquantitativa)

PROCEDURA OPERATIVA I (test qualitativo)

- Portare i reattivi ed i campioni a temperatura ambiente (Nota 1).
- Risospendere delicatamente il contenuto del flacone di immunoagente: utilizzare il contagocce per omogeneizzare accuratamente il contenuto
- Depositare 1 goccia (50 µl) del campione da testare ed una goccia di ciascun controllo in cerchi separati della card di reazione.
- Aggiungere ad ogni cerchio una goccia dell'immunoagente, vicina al campione da analizzare.
- Mescolare con l'aiuto della bacchetta monouso, stendendo la miscela su tutta la superficie interna del cerchio. Impiegare bacchette diverse per ciascun campione.
- Porre la card sul piano dell'agitatore orbitante, regolato a 100 r.p.m. per 2 minuti (Nota 2).
- Subito dopo, valutare la presenza o assenza di agglutinazione sotto idonea fonte luminosa.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Non reattivo: sospensione uniforme, senza visibile agglutinazione, simile alla reazione del controllo negativo
Reattivo: agglutinazione visibile macroscopicamente di qualsiasi grado

PROCEDURA OPERATIVA II (test semi-quantitativo)

- Per ciascun campione dispensare 50 µl di soluzione fisiologica ai cerchi 1, 2, 3 della card e 25 µl al cerchio 4 della card stessa, evitandone la fuoriuscita all'esterno dell'area circolare
- Relativamente a ciascun campione, aggiungere, al cerchio 1 utilizzato, 50 µl di campione ed, utilizzando la stessa punta, mescolare la soluzione fisiologica con il campione mediante ripetute aspirazioni ed espulsioni della miscela reattiva e, quindi, trasferire 50 µl di tale miscela al cerchio 3. Mescolare come sopra. Togliere 50 µl da questo cerchio
- Al cerchio 2 aggiungere 25 µl di campione alla soluzione fisiologica e, utilizzando la stessa punta, mescolare la soluzione come sopra descritto. Trasferire 25 µl della soluzione nella soluzione fisiologica presente nel cerchio 4. Le diluizioni in serie risulteranno, pertanto: 1:2, 1:3, 1:4, 1:6.
- Testare ogni diluizione come descritto nei punti da 4 a 7 della PROCEDURA OPERATIVA I

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La procedura è la medesima riportata per il test qualitativo. Il titolo di ASLO nel campione viene definito come la più alta diluizione del campione che mostra reattività. La diluizione successiva deve risultare negativa (Nota 3). Il valore approssimativo della concentrazione di ASLO (IU/ml) nel campione si ottiene moltiplicando il titolo dell'ultima diluizione reattiva per la minima concentrazione rilevabile (sensibilità analitica).

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si raccomanda l'utilizzo di siero controllo NEGATIVO e POSITIVO per verificare la qualità della procedura analitica. Il controllo positivo deve evidenziare un'agglutinazione evidente: qualora non fosse possibile ottenere i risultati attesi, il kit dovrebbe essere scartato. Ciascun Laboratorio deve stabilire la propria procedura interna di Controllo di Qualità.

RISULTATI ATTESI^{1,2}

Circa il 95% della popolazione sana evidenzia titoli sierici di ASLO ≤ 200 IU/ml, mentre titoli anticorpali più elevati si riscontrano negli adolescenti in età scolare (>250 IU/ml). Poiché una singola determinazione di ASLO potrebbe non fornire informazioni sull'eventuale sieroconversione, si consiglia di eseguire, per i casi dubbi, ulteriori titolazioni ad intervalli bisettimanali, per un periodo da 4 a 6 settimane, per monitorare l'evoluzione della malattia. I titoli di ASLO che si osservano nelle tipiche infezioni streptococciche e nella febbre reumatica acuta, rispetto al titolo riscontrabile in altre condizioni patologiche, risultano usualmente più elevati e persistono per un più lungo periodo di tempo.

CONSIDERAZIONI CLINICHE^{3,4}

Titoli antistreptolisinici elevati si osservano nel siero, in risposta ad infezioni sostenute da streptococchi emolitici dei gruppi A, C e G, produttori della streptolisina O, una proteina extracellulare ad attività enzimatica con spiccate proprietà antigeniche. I tests immunochimici riguardanti tali specifici anticorpi, diretti contro metaboliti dello streptococco, forniscono informazioni di notevole ausilio nella diagnosi di infezioni streptococciche (febbre reumatica acuta, glomerulonefriti). Il test ASLO possiede un elevato valore predittivo per una diagnosi presuntiva, effettuata su basi anamnestiche e riscontrati clinici obiettivi.

PRESTAZIONI DEL METODO

- La minima concentrazione rilevabile (sensibilità analitica) è di circa 200 IU/ml (± 50 IU/ml), determinata dopo calibrazione contro standard ASO International Calibrator WHO.
- Specificità diagnostica: 97%
- Effetto prozona: assente fino a 1500 IU/ml di ASLO.
- I risultati ottenuti con la presente procedura analitica non mostrano significative differenze quando correlati a dosaggi effettuati con reagenti di riferimento; sono disponibili, a richiesta, i dettagli relativi a studi di correlazione.
- L'emoglobina (< 10 g/l), la bilirubina (< 20 mg/dl) e la lipemia (< 10 g/l) non provocano interferenze analitiche. Altre sostanze possono interferire nel dosaggio⁵

LIMITI DEL METODO

- Reazioni positive possono essere prodotte anche in patologie diverse dalle febbri reumatiche e dalla glomerulonefrite, nelle quali la produzione di ASLO è particolarmente elevata. La scarlattina, le fasi precoci ed acute dell'artrite reumatoide, i portatori asintomatici, le tonsilliti complicate e non ed infine varie infezioni streptococciche evidenziano titoli elevati di ASLO.
- Risultati falsamente negativi biologici possono riscontrarsi nelle fasi iniziali di un'infezione primaria e durante la prima infanzia (dai 6 mesi ai 2 anni di vita).

NOTE

- La sensibilità del test si riduce a bassa temperatura. Risultati ottimali si ottengono tra 15-25°C.
- Un ritardo eccessivo nella lettura dei risultati può provocare una sovrastima dell'anticorpo presente.
- I titoli anticorpali ottenuti con test al lattice correlano in modo soddisfacente con quelli ottenuti con procedure SHA (emoagglutinazione, n.d.t.), entro l'intervallo di precisione dei due metodi⁷

CAUSE DI ERRORE

- Risultati falsamente positivi possono essere provocati da contaminazione batterica dei controlli e o dei campioni, oppure da congelamento e scongelamento dell'immunoagente.
- Tracce di detergente presenti sulle cards possono provocare false positività. Lavare le cards usate inizialmente sotto acqua corrente, fino alla rimozione completa dei reattivi ed, infine, con acqua deionizzata. Lasciar asciugare, evitando l'uso di solventi organici, in quanto questi potrebbero danneggiare la speciale finitura della card.
- L'immunoagente non deve mai essere utilizzato oltre la data di scadenza, poiché una prolungata conservazione potrebbe alterare la sensibilità della sospensione.

BIBLIOGRAFIA

- Klein, G.C., Manual of Clinical Immunology, chapter 33, American Society for Microbiology Washington D.C. (1976)
- Klein, G.C., et Al., *Applied Microbiology* 21: 999 (1971)
- Halbert, S.P., *Ann. NY Acad. Sci.* 103 (1963)
- Alouf, J.E. and Raynaud, M., *Biochimie*, 56 (1973)
- Bisno, A.L., *Principles and Practice of Infectious Diseases* 3rd ed. (Mandell G.L. et al. eds), Churchill Livingstone NY, 176-177 (1990)
- Young, D.S., *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th Edition, AACCC Press (1995)
- Schmidt, K., et Al., *Rheumatol.* 29 (1970)

Codici di Riordino:

S31519 ANTI-STREPTOLISINA O (ASLO) 100 test



Bio Plastic Sas - 00100 Roma