

**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. Preservative.
Latex (R2)	Latex particles coated with streptolysin O, pH 10.0. Preservative.
ASO-CAL	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 from NIBSC ASO. Recalibrate when control results are out of specified tolerances, when using different lot of reagent and when the instrument is adjusted.

PREPARATION

Ready for use.

ASO Calibrator: Reconstitute (→) with 1.0 mL of distilled water. Mix gently and incubate at room temperature for 10 minutes before 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.

ASO Calibrator: Stable for 1 month at 2-8°C or 3 months at -20°C.

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

ADDITIONAL EQUIPMENT

- SPINLAB 180 autoanalyzer
- Laboratory equipment.

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 hemolyzed or lipemic samples.

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.

SPINLAB 180 APPLICATION

Name	ASO	Ref. male low	*
Abbr. Name	ASO	Ref. male high	*
Mode	Twopoints	Ref. female low	*
Wavelength	546 nm	Ref. female high	*
Units	IU/mL	Ref. Ped. Low	*
Decimals	2	Ref. Ped. High	*
Low Conc.	20 IU/mL	Panic value low	*
High Conc.	800 IU/mL	Panic value high	*
Calibrator name	CAL ASO	Control 1	*
Prozone check	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Correlat. factor	1.000
		Correlat. offset	0.000

DUAL MODE	
Sample blank	No
R1 bottle (mL)	25 mL
normal volume	240 μ L
rerun volume	240 μ L
Sample	
normal volume	3.0 μ L
rerun volume	2.0 μ L
R2 bottle (mL)	5 mL
normal volume	60 μ L
rerun volume	60 μ L
Predilución	No
Slope blank	No
Point one,two	6, 130 sec.

Reagent blank	Yes
Low Absorbance	-0.100 Abs
High Absorbance	3.000 Abs
R. Abs. L. Limit	-0.100 Abs
R. Abs. H. Limit	3.000 Abs
Substr.Depletion	3.000 Abs

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.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- 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.
- Detection limit:** Values less than 20 IU/mL give non-reproducible results.
- Prozone effect:** No prozone effect was detected up to 1000 IU/mL.
- Sensitivity:** Δ 0.73 mA. IU/mL.
- Precision:** The reagent has been tested for 20 days, using three different ASO concentrations in a EP5-based study.

EP5	CV (%)		
	+/- 100 IU/mL	+/- 200 IU/mL	+/- 400 IU/mL
Total	6.4%	5.7%	5.1%
Within Run	2.4%	1.7%	1.4%
Between Run	3.6%	4.2%	4.9%
Between Day	4.7%	3.5%	0.7%

- Accuracy:** Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using a commercial reagent (x) with similar characteristics. 60 samples of different concentrations of ASO were assayed. The correlation coefficient (r) was 0.99 and the regression equation $y = 0.915x - 4.844$. The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

NOTES

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

BIBLIOGRAPHY

- Haffejee 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.: SP1107010

Cont.	R1. Diluent: 2 x 20 mL
	R2. Latex: 2 x 5 mL
	ASO-CAL :1 x 1 mL

**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 una exoenzima inmunogénica tóxica producida 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. Conservante.
Látex (R2)	Partículas de látex cubiertas con SLO, pH, 10,0. Conservante.
ASO-CAL	Calibrador. 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

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 al Patrón Internacional de ASO de NIBSC ASO. Recalibrar cuando los resultados del control están fuera de especificaciones, cuando se usa diferente lote de reactivo y cuando se ajusta el instrumento.

PREPARACIÓN

Listo para su uso.

Calibrador de ASO: Reconstituir (→) el liofilizado con 1,0 mL de agua destilada. Mezclar con suavidad y dejar 10 minutos en reposo antes de usarlo.

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.

Calibrador reconstituido: Estable 1 mes a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

La congelación de los reactivos de Látex y Diluyente altera irreversiblemente la funcionalidad de los mismos.

MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador SPINLAB 180
- Equipamiento habitual de laboratorio.

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.

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.

APLICACIÓN AL SPINLAB 180

Nombre	ASO	Ref. Hombre Inf.	*
Nombre abreviado	ASO	Ref. Hombre Sup.	*
Modo	Twopoint	Ref. Mujer Inf.	*
Long. ondas	546 nm	Ref. Mujer Sup.	*
Unidades	IU/mL	Ref. Ped. Inf.	*
Decimales	2	Ref. Ped. Sup.	*
Conc. Inferior	20 IU/mL	Valor pánico bajo	*
Conc. Superior	800 IU/mL	Valor pánico alto	*
Calibrador	CAL ASO	Control 1	*
Chequeo prozona	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Factor correl.	1.000
		Offset de correl.	0.000
MODO DUAL			
Blanco muestra	No		
Frasco R1 (mL)	25 mL		
Vol. normal	240 μ L		
Vol. repet.	240 μ L		
Muestra			
Vol. normal	3.0 μ L		
Vol. repet.	2.0 μ L		
Frasco R2 (mL)	5 mL		
Vol. normal	60 μ L		
Vol. repet.	60 μ L		
Predilución	No		
Pendiente Blco.	No		
1er, 2º punto	6,130 sec.		
Blanco reactivo	Si		
Absorbancia inf.	-0.100 Abs		
Absorbancia sup.	3.000 Abs		
Lim.Inf. Abs. React.	-0.100 Abs		
Lim.Sup. Abs. React.	3.000 Abs		
Agotam. sustrato	3.000 Abs		

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.

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 NaCl 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 1000 UI/mL.
- Sensibilidad:** Δ 0,73 mA. UI/mL
- Precisión:** El reactivo ha sido probado durante 20 días con tres concentraciones diferentes de ASO en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	+/- 100 IU/mL	+/- 200 IU/mL	+/- 400 IU/mL
Total	6.4%	5.7%	5.1%
Within Run	2.4%	1.7%	1.4%
Between Run	3.6%	4.2%	4.9%
Between Day	4.7%	3.5%	0.7%

- Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con otro método (x) de características similares. 60 muestras de diferentes concentraciones de ASO fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,99 y la ecuación de la recta de regresión $y = 0.915x - 4.844$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

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. Biochimie 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.: SP1107010	Cont.	R1. Diluyente: 2 x 20 mL R2. Látex: 2 x 5 mL ASO-CAL: 1 x 1 mL
-----------------	-------	--