

Stanbio RaPET® ASO Procedimiento No. 1125

Prueba en placa por aglutinación de látex para la determinación cualitativa y semi-cuantitativa de antiestreptolisina-O en suero no-diluido.

Resumen y principio

En infecciones causadas por el estreptococos B-hemolíticos, la estreptolisina es liberada de la bacteria, estimulando la producción de anticuerpos antiestreptolisina-O (ASO). La presencia y nivel de estos anticuerpos en una muestra de suero pueden reflejar la naturaleza y severidad de una infección.¹

El producto RaPET® ASO de Stanbio utiliza una suspensión diluida estabilizada de partículas de látex con poliestireno que han sido cubiertas con estreptolisina-O.² Cuando el reactivo del látex es mezclado con una muestra de suero conteniendo anticuerpos de estreptolisina-O, ocurre aglutinación. El reactivo de látex ha sido producido para que una aglutinación ocurre sólo cuando el nivel de anticuerpos para estreptolisina-O es mayor de 200 IU/mL, un nivel ya determinado ser indicativo de enfermedad por estudios epidemiológicos y clínicos.³

Reactivos

Reactivo látex ASO, Ref. No. 1126 (Tapa blanca)

Suspensión de partículas de látex con poliestireno recubiertas con una solución salina diluyente de estreptolisina-O.

Control ASO positivo, Ref. No. 1127 (Tapa Roja)

Suero humano estabilizado, conteniendo más de 200 IU/mL de antiestreptolisina-O.

Control negativo, Ref. No. 1192 (Tapa Verde)

Suero humano estabilizado, conteniendo menos de 100 IU/mL de antiestreptolisina-O.

Diluyente concentrado de glicina-salina (20X), Ref. No. 1191

Solución de glicina y cloruro de sodio, pH 8.2 ± 0.1.

Advertencias y precauciones: Para uso de diagnóstico in vitro.

Los controles utilizados en este juego han sido analizados por método aprobado por la FDA y se han encontrado no reactivo para la presencia del HbsAg y anticuerpo de HIV. Mientras que estos métodos son de gran precisión, ninguna prueba puede ofrecer con completa seguridad sobre la ausencia de agentes infecciosas. Esta material y toda muestra de paciente se debe manipular considerando que puede transmitir enfermedades infecciosas. La FDA de los Estados Unidos recomienda que las muestras sean manejadas de acuerdo al Nivel 2 de Bioseguridad del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (Center for Disease Control's Biosafety Level 2).

Reactivos en este juego contienen azida de sodio como preservativo. Azida de sodio se ha reportado formar plomo o azida de cobre en la plomería de laboratorio, que pueden explotar por percusión. Enjuagar los drenajes con amplia cantidad de agua después de tirar los líquidos conteniendo sodio azide.

Preparación y estabilidad del reactivo

Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad marcada en sus etiquetas respectivas a ser almacenados correctamente de 2 – 8°C. Para preparar el diluyente de glicina-salina, añada el concentrado (5 mL) a un frasco volumétrico de 100 mL y diluir hasta la marca de 100 mL con agua destilada o desionizada. Almacena el reactivo preparado de 2 – 8°C hasta por 12 meses de su fecha de preparación.

No congele!

Material incluido

Placa de plástico – 6 celdas • Pipetas/mezcladores desechables

Materiales requeridos pero no incluido

Cronómetro • Rotador (opcional) • Fuente de luz

Tubos de prueba y su rack (solo para método semi-cuantitativa)

Pipetas serológicas (solo para método semi-cuantitativa)

Recolección y preparación de la muestra

Se recomienda sólo usar suero. Las muestras deben estar coaguladas completamente sin tener partículas ni huella de fibrinas después de la descongelación. No inactiva por calor los sueros de prueba o los controles. Evite congelar/descongelar las muestras varias veces.

Estabilidad de la muestra: Las muestras de suero se mantienen estables hasta por 8 días de 2 – 8° C y por hasta 3 meses si se congela (a o a menos de -25° C) entre 24 horas de punción venosa y que no sean descongeladas y congeladas varias veces.

Substancias interferentes: Como en todas las pruebas serológicas, los sueros hemolíticos, lipémicos o turbios pueden causar resultados incorrectos y no deben ser utilizados. Utilice solamente una placa limpia y seca lavada con detergente suave y enjuagada bien con agua destilada.

Limitaciones

Tiempos de reacción mayor de 2 minutos pueden dar reacciones falsas positivas (debido al efecto del secado). Sueros muy lipémicos también pueden causar reacciones no específicos. La intensidad de la aglutinación no es indicativa de la concentración de ASO en la muestra.

En el procedimiento de la prueba cualitativa, pueden ocurrir reacciones débiles con concentraciones significativamente elevados. En casos de las concentraciones grandemente crecientes de ASO (mas de 2000 IU/mL), la aglutinación se puede inhibir debido a el exceso del anticuerpo (efecto del prozone). Cuando tales altas concentraciones son esperadas, la muestra se debe probar diluida. Los resultados de esta prueba se deben interpretar siempre teniendo en cuenta resultados clínicos y otros del laboratorio. Resultados negativos no eliminan la diagnóstico de la fiebre reumática aguda o de la glomerulonefritis poste-estreptocócica.

Procedimiento

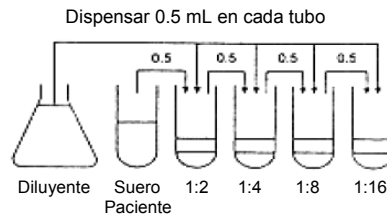
A. Método cualitativo

- Lleve el reactivo y las muestras a temperatura ambiente.
- Sacuda suavemente el vial de reactivo para dispersar y suspender las partículas del látex. **No sacuda vigoroso!**
- Utilizando las pipetas/mezcladores, coloque 1 gota (40 µL) de la muestra de paciente no-diluida en celda(s) separadas en la placa. También coloque 1 gota de los controles positivo y negativo en celdas separadas de la placa.
- Mezcle suavemente los contenidos del reactivo látex, incluyendo el contenido en la cuentagotas de vidrio. Llene la cuentagotas con la suspensión de látex bien mezclado y coloque una gota a lado de la gota de la muestra en cada celda usada.
- Mezcle las 2 gotas con mezcladores, cubriendo toda la superficie de cada una de la celdas.
- Manualmente gire la placa suavemente por 2 minutos para que la mezcla gira lentamente dentro de las células o en un rotador automático fijado en 80 – 100 rpm.
- Después de 2 minutos, examine cada celda para la ausencia o presencia de aglutinación.

Control de Calidad: Un control positivo y un negativo se deben incluir en cada serie de pruebas. Un control positivo produce una apariencia granulosa con un fondo claro, mientras que la negativa produce una suspensión suave y homogénea.

B. Método semi-cuantitativo

Esta reacción puede ser usada para estimar la concentración de ASO usando una serie de diluciones. La muestra del paciente se diluye con el diluyente de glicina-salina como demostrado:



Después, cada tubo es probado con látex siguiendo el procedimiento debajo la sección A. Método cualitativo.

Resultados

A. Método cualitativo

Una aglutinación indica que hay una concentración de ASO mayor de 200 IU/mL ± 20% en la muestra.

Las muestras que no muestran una aglutinación contienen concentraciones de ASO menos de 200 IU/mL.

B. Método semi-cuantitativo

La más alta dilución de muestra que aún muestra aglutinación distinta es reportada. El contenido de ASO de la muestra del paciente se toma de la siguiente tabla:

Dilución de Aglutinación	Concentración de ASO-IU/mL (± 20%)
1:2	≥ 400
1:4	≥ 800
1:8	≥ 1600
1:16	≥ 3200

Valores Esperados⁴

Un nivel de anticuerpos antiestreptolisina detectable de 200 IU/mL es usualmente conocido como el límite superior normal ya que menos del 15-20% de personas sanas muestran concentraciones mayores de 200 IU/mL cuando su suero es probado. Concentraciones de ASO elevados pueden ser asociados con la espondilitis anquilosante, glomerulonefritis, fiebre escarlata y tonsilitis. En general, altos niveles de ASO no son encontrados en el suero de pacientes con artritis reumatoide excepto durante episodios agudos.

Características⁵

Una comparación de 354 muestras de suero fueron probados comparando este método con otro en el mercado. Resultados equivalentes fueron obtenidos en el método cualitativo en 349 de los 354 muestras al azar. El acuerdo general es aproximadamente del 99%

Referencias

- Rantz L. D., DiCaprio JM, Randall E. Am. J. Med. Sci., 24, 1952.
- Halbert, SP. Ann. N.Y. Acad. Sci., 103, 1027:1051; 1963.
- Klein GL, Applied Microbiology, 21:999, 1971.
- Klein GC: Manual of Clinical Immunology ASM, 264-273: 1976.
- Datos de Stanbio Laboratory.

STANBIO LABORATORY NIEGA CUALESQUIER GARANTÍAS EXPRESADAS O IMPLICADAS SOBRE LA COMERCIABILIDAD E IDONEIDAD DE ESTE PRODUCTO QUE NO ESTÉN DETALLADAS EN LA INFORMACIÓN EN EL EMPAQUETADO O EN ALGÚN ACUERDO ESCRITO ENTRE EL COMPRADOR Y EL VENDEDOR DE ESTE PRODUCTO.

STANBIO LABORATORY SE SOSTIENE EN QUE ESTE PRODUCTO SE AJUSTA A LA INFORMACIÓN QUE SE ENCUENTRA EN ESTA DECLARACIÓN. EL COMPRADOR DEBERÁ CONCLUIR SI EL PRODUCTO ES ÚTIL PARA EL USO INTENCIONADO. ÚSESE DE ACUERDO CON LAS INDICACIONES ADJUNTAS.

Índice de Símbolos			
	Atención, leer las instrucciones de uso		Pruebas por juego
	Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>		Usar antes de
	Almacenar entre		No. de lote
	Representante Europeo		No. de referencia
			Inflamable
			Contenido

Para servicio técnico llame al: 800-531-5535 • (830) 249-0772

Stanbio Laboratory
1261 North Main Street
Boerne, Texas 78006, USA
Toll Free: (800)-531-5535
Phone: (830) 249-0772
Fax: (830) 249-0851
e-mail: stanbio@stanbio.com
www.stanbio.com

EC REP
BDS International Diagnostics GmbH
Anselm-Feuerbach-Str. 12,
68723 Schwetzingen, Germany
e-mail: info@bds-international.de



Stanbio RaPET® ASO Procedure No. 1125

Latex agglutination slide test for the Qualitative and Semi-quantitative determination of Antistreptolysin-O in non-diluted serum.

Summary and Principle

In infections caused by B-hemolytic streptococci, Streptolysin-O is liberated from the bacteria stimulating production of Antistreptolysin-O antibodies (ASO). The presence and level of these antibodies in a serum specimen may reflect the nature and severity of infection.¹

The Stanbio RaPET® ASO uses a stabilized buffered suspension of polystyrene latex particles that have been coated with Streptolysin-O.² When the latex reagent is mixed with a serum specimen containing antibodies to Streptolysin-O, agglutination occurs. The latex reagent has been produced so that agglutination will take place only when the level of antibodies to Streptolysin-O is at/or greater than 200 IU/mL, a level determined to be indicative of disease by epidemiological and clinical studies.³

Reagents

ASO Latex Reagent, Ref. No. 1126 (White Cap) Suspension of polystyrene latex particles coated with Streptolysin-O in a saline buffer.

ASO Positive Control, Ref. No. 1127 (Red Cap) Stabilized human serum, containing more than 200 IU/mL of Antistreptolysin-O.

Negative Control, Ref. No. 1192 (Green Cap) Stabilized human serum, containing less than 100 IU/mL of Antistreptolysin-O.

Glycine-Saline Buffer(20X) Concentrate, Ref. No. 1191 Solution of glycine and sodium chloride, pH 8.2 ± 0.1.

Warnings and Precautions: For In Vitro Diagnostic Use.

The controls used in this kit have been tested by an FDA-approved method and found non-reactive for the presence of HBsAg and antibody to HIV. While these methods are highly accurate, no test can offer complete assurance that infectious agents are absent. This material, as well as all patient samples, should be handled as though capable of transmitting infectious disease. The United States Food and Drug Administration recommends such samples be handled at Center for Disease Control's Biosafety Level 2.

Reagents in this kit contain sodium azide as a preservative. Sodium azide has been reported to form lead or copper azide in laboratory plumbing which may explode on percussion. Flush drains with water thoroughly after disposing of fluids containing sodium azide.

Reagent Preparation and Stability

Reagents are stable when stored at 2-8°C until the expiration date shown on their respective labels. Prepare Glycine-Saline Buffer by adding the Concentrate (5mL) to a 100mL volumetric flask and diluting to the 100mL mark with distilled or deionized water.

Do Not Freeze!

Materials Provided

Glass Slide - 6 cell Disposable
Pipette/Mixers

Material Required (Not Provided)

Timer Rotator (optional)

Light Source

Test Tubes & Rack (Semi-quantitative test only) Serological Pipettes (Semi-quantitative test only)

Specimen Collection and Preparation

It is recommended that serum only be used. Samples must have clotted completely and contain no particulates nor traces of fibrin after thawing. Do

not heat inactivate test sera or controls. Avoid repeated freeze/thawing of specimens.

Sample Stability: Serum specimens are reportedly stable up to 8 days at 2-8°C and for up to 3 months if they are frozen (at/or below -25°C) within 24 hours of venipuncture and are not repeatedly thawed and re-frozen.

Interfering Substances: As in all serological test, hemolytic, lipemic or turbid sera may cause incorrect results and should not be used. Use only a clean, dry slide washed in mild detergent and rinsed thoroughly with distilled water.

Limitations

Reaction times greater than 2 minutes can lead to false positive results (due to drying effect). Very lipemic sera can also cause non-specific reactions.

Strength of agglutination is not indicative of the ASO concentration in the sample. In the qualitative test procedure, weak reactions may occur with markedly elevated concentrations. In cases of greatly increased ASO titer (more than 2000 IU/mL), agglutination may be inhibited because of antibody excess (prozone effect). When such high ASO concentrations are to be expected, the sample should be tested diluted. The results of this test should always be interpreted in the light of clinical and other laboratory findings. Negative results do not rule out the diagnosis of acute rheumatic fever or poststreptococcal glomerulonephritis.

Procedure

A. Qualitative Method

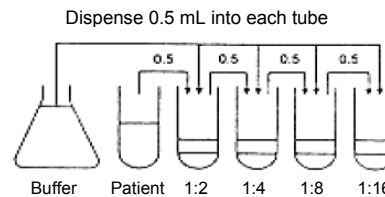
1. Bring all reagents and patient samples to room temperature.
2. Gently shake the reagent vial to disperse and suspend the latex particles.
Do Not Shake Vigorously!
3. Using a dispensing pipette provided, add one drop of the non-diluted patient sample(s) onto a separate cell(s) on the glass slide. Also place one (1) drop of the positive and negative control on separate cells of the test slide.
4. Gently mix the contents of the latex reagent including the contents of the glass dropper. Fill the dropper with the well-mixed latex suspension and place one (1) drop next to the drop of serum sample(s) on each of the separate cells in use.
5. Mix both drops with the mixer provided, covering the whole surface of each of the cell(s).
6. Tilt the slide back and forth for 2 minutes manually so that the mixture rotates slowly inside the cells or place the slide on a automatic rotator set at 80 – 100 rpm.
7. After the 2 minutes, examine each cell(s) for the absence or presence of agglutination.

Quality Control

A positive control and a negative control should be included in each test series. A positive control will produce a coarse agglutination against a clear background, while a negative control will produce a smooth, homogeneous suspension.

B. Semi-Quantitative Method

1. This reaction can be used to estimate the ASO concentration using a dilution series. The patient sample is diluted with the Glycine-Saline Buffer as shown:



Thereafter, each is tested with the latex as described under section "A. Qualitative Method."

Results

A. Qualitative Method

Agglutination identifies a ASO concentration greater than 200 IU/mL ± 20% in the sample.

Those samples that do not show agglutination contain ASO concentrations less than 200 IU/mL.

B. Semi-Quantitative Test Results

The highest sample dilution which still shows distinct agglutination is reported. The ASO content of the patient sample is taken from the following table:

Dilution of Agglutination	Concentration of ASO-IU/mL (± 20%)
1:2	≥ 400
1:4	≥ 800
1:8	≥ 1600
1:16	≥ 3200

Expected Values⁴

A detectable level of 200IU/mL Antistreptolysin-O antibodies is usually regarded as the normal upper limit, since less than 15-20% of healthy individuals demonstrate titers higher than 200IU/mL when their sera are assayed. Elevated ASO titers may be associated with ankylosing spondylitis, glomerulonephritis, scarlet fever and tonsillitis. Increased ASO levels are generally not found in sera of patients with Rheumatoid Arthritis except during acute episodes.

Performance Characteristics⁵

A comparison of 354 serum specimens were tested comparing this method with another commercially available procedure. Equivalent results were obtained on the qualitative method on 349 of the 354 random specimens. The overall agreement is approximately 99%.

References

1. Rantz L. D., DiCaprio JM, Randall E. Am. J. Med. Sci., 24, 1952.
2. Halbert, SP. Ann. N.Y. Acad. Sci., 103, 1027:1051; 1963.
3. Klein GL, Applied Microbiology, 21:999, 1971.
4. Klein GC: Manual of Clinical Immunology ASM, 264-273: 1976.
5. Stanbio Laboratory Data

STANBIO LABORATORY, LP DISCLAIMS ALL EXPRESS AND IMPLIED WARRANTIES OF THE MERCHANTABILITY AND FITNESS PERTAINING TO THIS PRODUCT WHICH ARE NOT EXPRESSLY DETAILED IN THIS PACKAGING INFORMATION OR A WRITTEN AGREEMENT BETWEEN THE BUYER AND SELLER OF THIS PRODUCT.

STANBIO LABORATORY, LP MAINTAINS THAT THIS PRODUCT CONFORMS TO THE INFORMATION CONTAINED IN THIS INSERT. PURCHASER MUST DETERMINE THE SUITABILITY OF THE PRODUCT FOR ITS PARTICULAR USE. USE ONLY IN ACCORDANCE WITH LABELING INSTRUCTIONS.

Index of Symbols			
	Attention, see instructions for use		Tests per kit
	For <i>in vitro</i> diagnostic use only		Use by
	Store between temperature indicated		Lot No.
	European Representative		Flammable
	Manufactured by		Do not reuse
	Reference No.		Contents

Stanbio Laboratory
1261 North Main Street
Boerne, Texas 78006, USA
Toll Free: (800)-531-5535
Phone: (830) 249-0772
Fax: (830) 249-0851
e-mail: stanbio@stanbio.com
www.stanbio.com

EC REP
BDS International Diagnostics GmbH
Anselm-Feuerbach-Str. 12,
68723 Schwetzingen, Germany
e-mail: info@bds-international.de

