

Determinazione quantitativa degli anticorpi Anti Streptolisina O (ASO) nel siero. Metodo turbidimetrico al lattice.

REF TB1000 R1: 2x40 mL + R2: 2x10 mL + R3: 1x1 mL (calibratore)

PRINCIPIO DEL METODO

ASO Turbidimetric è un kit per il dosaggio quantitativo degli anticorpi specifici anti-Streptolisina O (ASO) nel siero umano. Le particelle di latex, rivestite con l'antigene streptococcico Streptolisina O (SLO), vengono agglutinate quando reagiscono con campioni che contengono anticorpi anti Streptolisina O (ASO) dando luogo ad un incremento della torbidità. La quantità di agglutinazione (torbidità) che si produce è direttamente proporzionale alla concentrazione degli anticorpi ASO nel campione in esame ed è misurabile fotometricamente. Allestendo una curva di calibrazione ad una o più concentrazioni è possibile determinare il valore di campioni incogniti.

SIGNIFICATO CLINICO

Il test ASO misura la quantità di anticorpi Anti Streptolisina O che si producono dopo contatto con streptococchi. Essi contrastano la streptolisina, una proteina emolitica prodotta da alcuni streptococchi (gruppo A, C e G). Se il titolo ASO è basso o negativo significa che non è in corso un'infezione streptococcica. Un valore elevato o in aumento può segnalare, invece, una infezione recente o in corso. In questo caso, è consigliabile eseguire il test due volte, nel giro di dieci giorni di distanza, per verificare un suo incremento (infezione in corso) oppure una sua stabilità (infezione pregressa). Lo streptococco è un agente patogeno molto diffuso. Questo batterio si localizza tipicamente a livello delle alte vie respiratorie, dove è in grado di causare faringotonsillite. Quando l'organismo è debilitato, lo streptococco si moltiplica in prossimità del cavo orale, provocando febbre alta (fino a 39-40°C), brividi, alito cattivo, gonfiore delle tonsille, difficoltà a deglutire e placche biancastre in gola. Lo streptococco è responsabile di una varietà di altre infezioni, incluse quelle della cute, come pioderma, impetigine e cellulite. Tuttavia, se un'infezione non presenta una sintomatologia chiara, se essa non viene individuata e debellata con una terapia antibiotica mirata, il batterio resta latente nell'organismo, infiltrandosi negli organi vitali, come il cuore o i reni determinando complicazioni post-streptococciche, pericolose soprattutto nei bambini piccoli, come la glomerulonefrite (infiammazione dei glomeruli renali), la febbre reumatica o la miocardite. Le conseguenze secondarie a queste patologie sono piuttosto gravi e comprendono lo scompenso cardiaco e la disfunzione renale.

Il titolo ASO può aiutare a chiarire il quadro clinico in presenza di sintomi ben riconoscibili, per determinare se una recente infezione da streptococco abbia causato una glomerulonefrite o un episodio di febbre reumatica.

La presenza degli anticorpi ASO è rilevabile a partire da almeno una settimana dal momento in cui è stata contratta l'infezione streptococcica.

L'Antistreptolisina O non viene, infatti, subito prodotta, ma aumenta dopo 7 giorni dal contagio, raggiungendo il picco nel giro di 4-6 settimane, per poi diminuire alla risoluzione dell'infezione e tornare a valori normali dopo un periodo di tempo che può durare anche un anno.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagente 1:

Tampone Tris, pH 8.2 20 mmol/L

Reagente 2:

Particelle di lattice coattate con Streptolisina O

Reagente 3 (Calibratore) concentrazione in etichetta:

Siero umano anticorpi ASO
(Reference Material anti- Streptolysin O 97/662) (NIBS).

PREPARAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta. Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riportarli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

Procedura Anticorpo Start (Bi-Reagente)

I Reagenti sono pronti all'uso. Prima dell'uso, agitare gentilmente per inversione il Reagente R2 (latex), evitando formazione di schiuma.

Procedura Campione Start (Mono-Reagente)

Miscelare 4 parti di R1 + 1 parte di R2 (per es. 8 mL di R1 + 2 mL di R2).

Evitando formazione di schiuma, agitare gentilmente R2 prima di prelevare. Fare lo stesso con la Soluzione di Lavoro prima dell'uso.

Stabilità: 4 settimane a 2°- 8°C o a bordo macchina su rack refrigerato.

CAMPIONI:

Siero. Evitare campioni emolisati o lipemici. Separare il siero dal coagulo rapidamente. Se il campione presenta dei precipitati, centrifugare prima dell'uso. Evitare inquinamento. Stabilità: 3 giorni a 15-25° C ; 8 giorni a 2-8° C; 3 mesi a -20° C (congelare e scongelare solo una volta).

PROCEDURA

Lunghezza d'onda: 540 nm +/-20 nm
Temperatura: +37°C
Azzeramento: acqua distillata

Procedura Anticorpo Start :

Reagente (R1) 800 µL
Campione / Calibratore 10 µL

Miscelare e dopo 30" leggere l' Assorbanza (Abs1). Poi aggiungere:

Reagente (R2) 200 µL

Miscelare, dopo altri 120" leggere ancora l'Assorbanza (Abs 2).

Calcolare ΔAbs (Abs2-Abs1) per calibratore, campioni e controlli.

Procedura Campione Start:

Soluzione Lavoro 1000 µL
Campione / Calibratore 10 µL

Miscelare e leggere immediatamente l'Assorbanza (Abs1). Dopo altri 120 secondi leggere di nuovo l'Assorbanza (Abs2).

Calcolare ΔAbs (Abs2 – Abs1) per calibratore, campioni e controlli.

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

In alternativa al calibratore incluso nel kit, è possibile usare un set di calibrazione multipunto, liquido e pronto all'uso (flaconi pronti, nessuna diluizione) (concentrazione in etichetta).

ASO CALIBRATOR SET REF TUC1070 (4 x 1 mL)

CALCOLO

Con calibratore fornito nel kit (calibrazione mono punto)

$$ASO = \frac{\Delta Abs (Abs2-Abs1)_{Campione}}{\Delta Abs (Abs2-Abs1)_{Calibratore}} \times \text{Concentrazione Calibratore}$$

Con ASO CALIBRATOR SET (calibrazione multi punto)

Calcolare per ogni campione in esame e per ogni calibratore il ΔAbs (Abs2-Abs1). Costruire una curva di calibrazione dose/risposta e su di essa riportare i valori del ΔAbs dei campioni in esame per ricavarne le concentrazioni incognite. Per calcoli computerizzati, il metodo di calcolo consigliato è la Curva SPLINE ma altri metodi possono essere utilizzati (Punto-Punto, Logit-Log 4P, etc.).

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare i seguenti prodotti MTD Diagnostics:

Plasma Protein Control Level 1 REF: TUC1040 (3 x 1 mL)

Plasma Protein Control Level 2 REF: TUC1050 (3 x 1 mL)

Il range dei valori dei controlli deve essere valutato come una linea guida potendo esso essere determinato dall'applicazione del metodo o dalla manualità dell'utente o da altri fattori. I valori ottenuti devono essere utilizzati ai fini della valutazione della Precisione del metodo (Ripetibilità). Per la valutazione della Accuratezza del metodo (Riproducibilità) è necessario aderire ad un programma di Valutazione Esterna Qualità' (VEQ) gestito da enti certificati.

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Adulti: fino a 200 UI/mL

Bambini (< 2 anni): fino a 150 UI/mL

Altri Bambini: fino a 250 UI/mL

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 161; D.S. = 5,3; CV = 3,3%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 525; D.S. = 8,2; CV = 1,5%

ACCURATEZZA (CORRELAZIONE): Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y = 1.002 x - 0.71 \quad r = 0.999$$

SENSIBILITA': 12 UI/mL

LINEARITA': da 12 a 800 UI/mL

INTERFERENZE E SPECIFICITA'

Non interferiscono: Bilirubina a 40 mg/dL, Emoglobina fino a 12 g/L, Trigliceridi fino a 1000 mg/dL, Fattore Reumatoide fino a 800 UI/mL.

Altre sostanze possono interferire

PRECAUZIONI

R1 contiene TRIS BUFFER 20 mmol/L – pH 8.2 - CAS 1185-53-1

H315: Provoca irritazione cutanea

H319: Provoca gravi irritazioni oculari

H335: Può irritare le vie respiratorie

I sieri umani presenti nel Reagente R3 (calibratore) sono stati testati con metodi marcati CE e approvati FDA e sono stati trovati negativi per presenza di HBsAg, HIV 1&2, HCV. Tuttavia, poiché non ci sono metodi capaci di assicurare la totale assenza di tali agenti infettanti o di altri microbi, questo prodotto deve essere maneggiato come se fosse rischioso e potenzialmente capace di trasmettere malattie infettive di ogni tipo, in accordo con le norme di Buona Pratica di Laboratorio.

L'anticorpo presente nel reagente è di origine animale e non è in grado di trasmettere malattie infettive all'uomo. Tuttavia, poiché non ci sono metodi per garantire la totale assenza di tali agenti infettivi o di altri microbi, questo prodotto deve essere maneggiato come se fosse rischioso e potenzialmente in grado di trasmettere malattie infettive di qualsiasi tipo, in conformità con gli standard della Buona Pratica di Laboratorio.

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Il prodotto non è soggetto ad etichettatura secondo le direttive CE o le corrispondenti normative nazionali. Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorché maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

Borque L, et al. J Clin Immunoassay. 15 :182 (1992)

Spaun J et al. Bull WldHlth Org. 24: 271 (1961)

Haffejee I, Quarterly Journal of Medicine. New series 84; 305:641 (1992)

Kassem AS et al. Pediatric Annals. 21 : 853 (1992)