

N Latex ASL

Intended Use

In vitro diagnostic reagents for the quantitative determination of Anti-Streptolysin O (ASL) in human serum by means of particle-enhanced immunonephelometry using the BN* Systems.

Summary and Explanation

Immunochemical assay of specific antibodies to streptococcal metabolites provides valuable information regarding past streptococcal infection (rheumatic fever, scarlet fever, tonsillitis, glomerulonephritis, etc.)(1 - 3). Rheumatic fever has, to be sure, become rarer in some regions; the increase in mild or sub-clinical cases requires a correspondingly more detailed evaluation by means of serological methods. Among the assays for antibodies to various streptococcal exoenzymes, the Anti-Streptolysin O assay should be given prominence as a sensitive parameter since it has been found to be elevated in about 80 to 85% of the cases. Moreover, up to now, international standardization has only been performed for ASL.

Principle of the Method

Polystyrene particles coated with streptolysin O are aggregated when mixed with samples containing human ASL. These aggregates scatter a beam of light passed through the sample. The intensity of the scattered light is proportional to the concentration of the relevant protein in the sample. The result is evaluated by comparison with a standard of known concentration.

Reagents

Materials provided

N Latex ASL, Code No. OUSS

N ASL Reagent, 3 vials for 2 mL each

N ASL Accelerator, 2 vials with 4 mL each or

N ASL Reagent, 4 vials for 3 mL each

N ASL Accelerator, 4 vials with 4 mL each

Composition

N ASL Reagent consists of a lyophilisate of polystyrene particles which are coated with streptolysin O.

N ASL Accelerator consists of a solution of polyethyleneglycol and detergents.

Preservative:

N ASL Reagent after reconstitution: Sodium azide < 0.6 g/L

N ASL Accelerator: Sodium azide < 1 g/L

Warnings and Precautions

- For in vitro diagnostic use.
- Reagents containing sodium azide must be handled with due caution.
Do not ingest or allow to contact skin or mucous membranes! If discarded into drain, flush with a large volume of water to prevent azide build-up. Sodium azide can form explosive azides when contacting heavy metals such as copper or lead.
- Each individual blood donation for use in the manufacture of the N ASL Reagent was tested for HBsAg, anti-HCV, anti-HIV1 and anti-HIV2 by FDA-required testing. Only donations with negative findings are used for manufacture.
Nevertheless, since absence of infectious agents cannot be proven, all samples (e.g. patient serum) and products obtained from human blood should always be handled with due care, observing the precautions recommended for biohazardous material (4).

Preparation of Reagents

N ASL Reagent: The lyophilized content of a vial must be reconstituted in the volume of distilled water given on the label. The reagent may be used 15 minutes after reconstitution. Shake carefully before the first use.

N ASL Accelerator is ready-for-use.

Storage and Stability

Stability at +2 to +8 °C:

see expiry date on label;

Stability once opened:

4 weeks (reconstituted N ASL Reagent and N ASL Accelerator), if stored at +2 to +8 °C securely capped immediately after each use.

Do not freeze.

On-board Stability:

On-board stability may vary, depending on BN* System used and laboratory conditions. The reagents should not left opened on the BN* A, BN* 100 and BN* II System, but stored again at +2 to +8 °C securely capped immediately after use. Further details are inclosed in the BN* II and BN ProSpec® System Instruction Manual.

Materials required but not provided

BN* System

N Rheumatology Standard SL, Code No. OQKZ

N/T Rheumatology Controls SL/1 and 2, Code No. OQDB and OQDC

N Reaction Buffer, Code No. OUMS

N Diluent, Code No. OUMT

BN* II Evaporation Stoppers (optional), Code No. OVLE

Additional and supplies materials as described in your BN* System Instruction Manual.

Specimens

Suitable samples are human serum, either as fresh as possible (stored no more than 8 days at +2 to +8 °C) or stored frozen. Samples can be stored at below –25 °C for up to 3 months if they are frozen within 24 hours after collection and if repeated freeze-thaw cycles are avoided. Serum samples must be completely coagulated and, after centrifugation, must not contain any particles or traces of fibrin.

Lipemic samples or frozen samples which became turbid after thawing, must be clarified by centrifugation (10 minutes at approximately 15,000 x g) prior to testing

Procedure

Notes

- Consult your BN* System Instruction Manual for details regarding operation of the instrument.
- The reagents must not be used beyond the expiry date.
- The lyophilized reagent must not be used until properly reconstituted (at least 15 minutes after the addition of distilled water).
- Allow reagents and samples to equilibrate to room temperature (+15 to +25 °C) before use on the BN* A or BN* 100 Systems. With a BN* II or BN ProSpec® System reagents and samples stored at +2 to +8 °C can be used immediately.
- On the BN* A and BN* 100 Systems, samples should be run at approximately the same ambient temperature (maximum 3 °C deviation) as the measurements used for recording the reference curve.

Assay Protocol for the BN* Systems

The assay protocol is given in the BN* System Instruction Manual and software of the instrument. All steps are performed automatically by the system.

Establishment of the Reference Curve

Reference curves are constructed by multi-point calibration. Serial dilutions of the N Rheumatology Standard SL are automatically prepared by the instrument using N Diluent. The standard dilutions are to be used within 4 hours. The reference curve is valid for 2 weeks and can be used beyond this period, as long as the accuracy controls, e. g. N/T Rheumatology Control SL/1 and SL/2, are reproduced within their respective confidence interval. If a different lot of reagent is used, a new reference curve must be recorded.

The exact measuring range depends upon the concentration of the protein in each lot of N Rheumatology Standard SL. For typical figures refer to the respective BN* System Instruction Manual.

Assay of Specimens

Samples are automatically diluted 1:400 with N Diluent. The dilutions must be measured within 4 hours. If the results obtained are outside the measuring range, the assay can be repeated using a higher or lower dilution of the sample. Refer to BN* System Instruction Manual for information on repeat measurements using other dilutions.

Internal Quality Control

Assay N/T Rheumatology Controls SL/1 and SL/2 after each establishment of a reference curve, the first opening of a reagent vial as well as with each run of samples. The controls are assayed and evaluated as for patient samples. The assigned value and confidence interval are listed in the Table of Assigned Values of the respective control. If the result of the controls is outside the confidence interval, the determination must be repeated. If the repeated determination confirms the deviation, a new reference curve should be established. Do not release patient results until the cause of deviation has been identified and corrected.

Results

The results are evaluated automatically by means of a logit-log function.

Limitations of the Procedure

Turbidity and particles in the sample may interfere with the determination. Therefore, samples containing particles must be centrifuged prior to testing. Lipemic samples, which cannot be clarified by centrifugation (10 minutes at approximately 15,000 x g) and heat-inactivated samples must not be used. In the case of monoclonal gammopathies (e.g. Waldenström's macroglobulinaemia) the measurements yield false highly elevated ASL concentrations in some patients. Such samples should be assayed by another method.

Due to matrix effects, inter-laboratory survey samples and control samples may yield results that differ from those obtained with other methods. It may therefore be necessary to assess these results in relation to method-specific target values.

Reference Interval

As upper limit of the reference interval 200 IU/mL is accepted internationally. ASL concentrations depend upon the age of the patients (5), on the geographic location, and on the local frequency of streptococcal infections. In a study of 503 central European blood donors values up to 370 IU/mL (95th percentile) were yielded with N Latex ASL. In a further study performed in Japan on a population of 477 blood donors, values up to 240 IU/mL (95th percentile) were measured. Nevertheless, each facility should determine its own reference intervals since values may vary depending on the population studied.

Since an individual result provides no information about a change of the ASL concentration, an appropriate assessment is only possible if the assay is repeated after 1 or 2 weeks.

Specific Performance Characteristics

Sensitivity

The analytical sensitivity of the assay is determined by the lower limit of the reference curve and depends therefore on the concentration of the protein in the N Rheumatology Standard SL.

Specificity

The test is specific for anti-streptolysin O.

Precision

Two control samples with different ASL concentrations were analyzed in duplicate on 20 days each with N Latex ASL. Analysis of variance of the results (6) yielded the following coefficients of variation (CV):

Sample	Precision			
	Mean (IU/mL)	Intra Assay CV (%)	Inter Assay CV (%)	Total CV (%)
Control Serum 1	131	5.7	4.8	6.7
Control Serum 2	385	6.7	5.7	8.0

Method Comparison

64 serum samples with ASL concentrations ranging from 27 to 600 IU/mL were assayed on the BN* System with N Latex ASL (y) and in parallel with a hemolysis inhibition test (x) which was also calibrated against the WHO reference preparation. Comparison of the results by regression analysis yielded the following line: y = 0.80 x + 16.5 (IU/mL).

Note

The values cited for specific performance characteristics of the assay represent typical values and are not to be regarded as specification for N Latex ASL.

Bibliography

- Myrvik QN, Pearsall NM, Weiser RS. Fundamentals of Medical Bacteriology and Mycology. Philadelphia: Lea and Febiger, 1976.
- Hederstedt B, Holm S, Wadström T. Medical Laboratory, Behringwerke AG, Marburg, 1979; 7: 24-8.
- Dillon HC, Avery Reeves MS. Streptococcal immune responses in nephritis after skin infections. Am J Med 1974; 56: 333-46.
- U.S. Department of Health and Human Services CDC, Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS Publication (CDC) 93-8395; 1999; Section II; 8-16
- Renneberg J, Söderström M, Prellner K, et al. Age-related variations in anti-streptococcal antibody levels. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1989; 8: 792-5.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline. NCCLS document EP5-A (ISBN 1-56238-368-X). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898, USA, 1999.

BN ProSpec is a registered trademark of Dade Behring Marburg GmbH in the USA, Germany and other countries.

* BN is a trademark of Dade Behring Marburg GmbH in the USA.

Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com

USA Distributor: Dade Behring Inc.
Newark, DE 19714 U.S.A.



N Latex ASL

Anwendungsbereich

In-vitro-Diagnostika zur quantitativen Bestimmung von Anti-Streptolysin O (ASL) in humanem Serum mittels partikelverstärkter Immun-Nephelometrie mit den BN* Systemen.

Diagnostische Bedeutung

Die immunchemische Bestimmung von spezifischen Antikörpern gegen Streptokokken-Stoffwechselprodukte liefert wertvolle Informationen über eine vorausgegangene Streptokokken-Infektion (rheumatisches Fieber, Scharlach, Tonsillitis, Glomerulonephritis u. a.) (1-3). Zwar ist das rheumatische Fieber in verschiedenen Regionen seltener geworden; die Zunahme leichter bzw. subklinisch verlaufender Fälle erfordert um so mehr eine eingehende Klärung durch die Serodiagnose. Bei der Bestimmung von Antikörpern gegen verschiedene Streptokokken-Exoenzyme ist dem Anti-Streptolysin O der Vorzug zu geben, da es als sensibler Parameter in etwa 80 bis 85 % der Fälle als erhöht gefunden wird. Außerdem ist bisher nur beim ASL eine internationale Standardisierung erfolgt.

Prinzip der Methode

Polystyrol-Partikel, die mit Streptolysin O beladen sind, bilden bei Mischung mit Anti-Streptolysin O enthaltenden Proben Aggregate, an denen eingestrahktes Licht gestreut wird. Die Intensität des Streulichts ist von der Konzentration des jeweiligen Analyten in der Probe abhängig. Die Auswertung erfolgt durch Vergleich mit einem Standard bekannter Konzentration.

Reagenzien

Inhalt der Handelspackungen

N Latex ASL, Bestell-Nr. OUSS

N ASL-Reagenz, 3 Flaschen für je 2 ml

N ASL-Accelerator, 2 Flaschen mit je 4 ml *oder*

N ASL-Reagenz, 4 Flaschen für je 3 ml

N ASL-Accelerator, 4 Flaschen mit je 4 ml

Zusammensetzung

N ASL-Reagenz besteht aus einem Lyophilisat von Polystyrol-Partikeln, die mit Streptolysin O beladen sind.

N ASL-Accelerator besteht aus einer Lösung von Polyethylenglycol und Detergenzien.

Konservierungsmittel:

N ASL-Reagenz nach Rekonstitution: Natriumazid < 0,6 g/l

N ASL-Accelerator: Natriumazid < 1 g/l

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur zur *in vitro* diagnostischen Anwendung.
2. Beim Umgang mit Natriumazid-haltigen In-vitro-Diagnostika ist zu beachten:
Verschlucken und Kontakt mit Haut oder Schleimhäuten vermeiden! Bei Entsorgung ins Abwasser mit viel Wasser nachspülen. Natriumazid kann mit Schwermetallen wie Kupfer oder Blei explosive Azide bilden.
3. Jede individuelle Blutspende, die zur Herstellung von N ASL-Reagenz vorgesehen war, wurde auf HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV1 und Anti-HIV2 untersucht. Für die Herstellung wurden nur Spenden mit negativem Befund verwendet.
Unabhängig davon sollten alle aus menschlichem Blut gewonnenen Proben (z. B. Patientenserum) und Produkte wegen nie völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger mit angemessener Sorgfalt unter Einhaltung den bei Biogefährdung empfohlenen Sicherheitsmaßnahmen gehandhabt werden (4).

Vorbereitung der Reagenzien

N ASL-Reagenz: Der lyophilisierte Inhalt einer Flasche ist mit der auf dem Flaschenetikett angegebenen Menge destilliertem Wasser zu rekonstituieren. Das Reagenz ist 15 min nach Rekonstitution einsetzbar. Es ist vor dem ersten Gebrauch behutsam zu durchmischen.

N ASL-Accelerator ist gebrauchsfertig.

Haltbarkeit und Lagerungsbedingungen

Lagerung bei +2 bis +8 °C:

das Haltbarkeitsdatum ist auf dem Etikett angegeben;

Stabilität nach Öffnen:

4 Wochen (rekonstituiertes N ASL-Reagenz sowie N ASL-Accelerator), sofern unmittelbar nach Gebrauch wieder dicht verschlossen bei +2 bis +8 °C gelagert.

Die Reagenzien dürfen nicht eingefroren werden.

Stabilität auf den BN* Systemen:

Die „on-board“ Stabilität hängt von dem verwendeten BN* System sowie den Laborbedingungen ab. Die Reagenzien sollen nicht offen auf dem BN* A, BN* 100 oder BN* II System verbleiben, sondern unmittelbar nach Gebrauch wieder dicht verschlossen bei +2 bis +8 °C gelagert werden. Weiterführende Angaben sind in den Bedienungsanleitungen des BN* II und BN ProSpec® Systems enthalten.

Zusätzlich benötigte Materialien

BN* System

N Rheuma Standard SL, Bestell-Nr. OQKZ

N/T Rheuma-Kontrollen SL/1 und SL/2, Bestell-Nr. OQDB und OQDC,

N-Reaktionspuffer, Bestell-Nr. OUMS

N-Diluens, Bestell-Nr. OUMT

BN* II Evaporation Stoppers (wahlweise), Bestell-Nr. OVLE

Verbrauchsmaterial und Ausrüstung wie in den Bedienungsanleitungen der BN* Systeme beschrieben.

Untersuchungsmaterial

Zur Messung sollen möglichst frische (max. 8 Tage bei +2 bis +8 °C aufbewahrte) oder gefroren gelagerte humane Serumproben eingesetzt werden. Werden Proben innerhalb von 24 Stunden nach Entnahme eingefroren, so ist eine Lagerung unterhalb –25 °C bis zu 3 Monaten möglich, wenn wiederholtes Auftauen und Einfrieren vermieden wird. Serumproben müssen vollständig geronnen sein und dürfen nach Zentrifugation keine Partikel oder Spuren von Fibrin enthalten. Lipämische Proben oder eingefrorene Proben, die nach dem Auftauen trüb sind, müssen vor der Bestimmung durch Zentrifugation (10 min bei ca. 15.000 x g) geklärt werden.

Testdurchführung

Hinweise

1. Einzelheiten zur Bedienung der BN* Systeme sind der entsprechenden Bedienungsanleitung zu entnehmen.
2. Die Reagenzien dürfen nach dem angegebenen Haltbarkeitsdatum nicht mehr verwendet werden.
3. Die angegebene Rekonstitutionszeit lyophilisierter Reagenzien (mind. 15 min nach Zugabe von destilliertem Wasser) ist einzuhalten.
4. Reagenzien und Proben sollen vor der Messung am BN* A und BN* 100 System Raumtemperatur (+15 bis +25 °C) erreicht haben. Am BN* II und BN ProSpec® System können bei +2 bis +8 °C gelagerte Reagenzien und Proben direkt eingesetzt werden.
5. Am BN* A und BN* 100 System soll die Messung von Proben bei der Umgebungstemperatur durchgeführt werden, die auch bei der Aufnahme der Referenzkurve herrschte (max. 3 °C Abweichung).

Assay-Protokoll an den BN* Systemen

Das Assay-Protokoll ist in der Bedienungsanleitung sowie der Software des jeweiligen Gerätes enthalten. Alle Schritte werden automatisch vom System durchgeführt.

Erstellung der Referenzkurve

Referenzkurven werden über Mehrpunktkalibrierung aufgenommen. Für die Erstellung werden automatisch Verdünnungsreihen des N Rheuma Standards SL mit N-Diluens hergestellt. Die Standard-Verdünnungen müssen innerhalb von 4 Stunden verwendet werden. Die Referenzkurve ist zwei Wochen lang gültig. Sie kann über diesen Zeitraum hinaus verwendet werden, solange Richtigkeitskontrollen, wie z.B. die N/T Rheuma-Kontrollen SL/1 und SL/2, innerhalb des jeweiligen Vertrauensbereichs wiedergefunden werden. Bei Verwendung einer anderen Reagenzcharge muß eine neue Referenzkurve aufgenommen werden.

Der exakte Meßbereich hängt von der Analytkonzentration jeder N Rheuma Standard SL Charge ab. Typische Meßbereiche sind in der jeweiligen BN* System Bedienungsanleitung angegeben.

Messung der Patientenproben

Proben werden automatisch 1:400 mit N-Diluens verdünnt. Die Verdünnungen müssen innerhalb von 4 Stunden gemessen werden.

Bei Meßwerten, die außerhalb des Meßbereichs liegen, kann die Messung aus einer höheren oder niedrigeren Probenverdünnung wiederholt werden. Wiederholungsmessungen aus weiteren Probenverdünnungen sind in den Bedienungsanleitungen der BN* Systeme beschrieben.

Interne Qualitätskontrolle

Die N/T Rheuma-Kontrollen SL/1 und SL/2 sollten nach jeder Erstellung einer Referenzkurve, nach erstmaliger Verwendung einer Reagenzabfüllung sowie bei jeder Serie von Proben eingesetzt werden. Die Kontrollen werden im Ansatz und bei der Auswertung wie Patientenproben behandelt. Sollwert und Vertrauensbereich sind der Tabelle der Sollwerte der entsprechenden Kontrolle zu entnehmen.

Wenn das Ergebnis der Kontrollmessungen außerhalb des Vertrauensbereichs liegt, ist die Kontrollbestimmung zu wiederholen. Wird die Abweichung durch die Wiederholungsmessung bestätigt, sollte eine neue Referenzkurve aufgenommen werden. Patientenergebnisse dürfen erst dann wieder freigegeben werden, wenn die Ursache der Abweichung identifiziert und behoben wurde.

Berechnung der Analysenergebnisse

Die Auswertung erfolgt automatisch mittels einer Logit-Log-Funktion.

Einschränkungen der Testdurchführung

Trübungen und Partikel in den Proben können die Bestimmung stören. Deshalb müssen Proben, die Partikel enthalten, vor der Bestimmung zentrifugiert werden. Lipämische Proben, die durch Zentrifugation (10 min bei ca. 15.000 x g) nicht zu klären sind, sowie Hitze-inaktivierte Proben sind von der Bestimmung auszuschließen. Bei monoklonalen Gammopathien (z. B. Makroglobulinämie Waldenström) werden in einzelnen Fällen fälschlich stark erhöhte ASL-Konzentrationen gemessen. Die betreffenden Proben sollten mit einer anderen Methode untersucht werden.

Aufgrund von Matrixeffekten können für Kontroll- und Ringversuchsproben unterschiedliche Ergebnisse in Abhängigkeit von der verwendeten Bestimmungsmethode resultieren. Es kann daher notwendig sein, die Bewertung dieser Ergebnisse an methoden-spezifischen Zielwerten vorzunehmen.

Referenzbereich

Als Orientierungshilfe werden 200 IU/ml als obere Grenze des Referenzbereichs angesehen. Die ASL-Konzentration hängt vom Alter des Patienten (5), von den geographischen Gegebenheiten und von der lokalen Häufigkeit von Streptokokken-Infektionen ab. In einer Untersuchung mit 503 Blutspendern im mitteleuropäischen Raum wurden mit N Latex ASL Resultate bis zu 370 IU/ml (95. Perzentile) erhalten. In einer weiteren Studie in Japan an einem Kollektiv von 477 Blutspendern wurden Werte bis zu 240 IU/ml (95. Perzentile) gemessen. Darüber hinaus sollte jedes Labor seine eigenen Referenzbereiche ermitteln, da diese vielen Einflußgrößen unterliegen, die für jedes untersuchte Kollektiv verschieden sein können. Da bei einer Einzelbestimmung die Information über den Verlauf der ASL-Konzentration fehlt, wird eine relevante Aussage erst mit der Wiederholung der Bestimmung nach 1 bis 2 Wochen möglich.

Leistungsmerkmale der Bestimmung

Empfindlichkeit

Die Empfindlichkeit wird durch die untere Grenze der Referenzkurve festgelegt und hängt damit von der Konzentration des Analyten im N Rheuma Standard SL ab.

Spezifität

Die Bestimmung ist spezifisch für Anti-Streptolysin O.

Präzision

Zwei Kontrollseren mit unterschiedlicher ASL Konzentration wurden mit N Latex ASL an 20 Tagen jeweils in einer Doppelbestimmung am BN* System analysiert. Die Varianzanalyse der Resultate (6) ergab nachfolgende Variationskoeffizienten (VK):

Präzision				
Probe	Mittelwert (IU/ml)	Intra assay VK (%)	Inter assay VK (%)	Gesamt VK (%)
Kontrollserum 1	131	5,7	4,8	6,7
Kontrollserum 2	385	6,7	5,7	8,0

Methodenvergleich

64 Seren mit ASL-Konzentrationen im Bereich von 27 bis 600 IU/ml wurde am BN* System mit N Latex ASL (y) und parallel dazu mit einem Hämolysehemmungs-Test (x), der ebenfalls am Internationalen Referenzpräparat der WHO kalibriert war, bestimmt. Der Vergleich der Ergebnisse durch Regressionsanalyse ergab folgende Gerade: $y = 0,80 x + 16,5$ IU/ml.

Anmerkung

Die angegebenen Werte für die Leistungsmerkmale der Bestimmung stellen typische Ergebnisse dar und sind nicht als Spezifikation für N Latex ASL anzusehen.

Literatur

Siehe Seite 1.

BN ProSpec ist eine eingetragene Marke der Dade Behring Marburg GmbH in den USA, Deutschland und anderen Ländern.

* BN ist eine Marke der Dade Behring Marburg GmbH in den USA.

 Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com



N Latex ASL

Domaine d'utilisation

Réactifs pour la détermination quantitative de l'antistreptolysine O (ASL) dans le sérum humain par immunonéphélométrie sensibilisée avec des particules, à l'aide des systèmes BN*.

Intérêt diagnostique

Le dosage immunochimique des anticorps spécifiques dirigés contre les produits métaboliques du streptocoque fournit des informations précieuses sur une infection à streptocoques ancienne (fièvre rhumatismale, scarlatine, amygdalite, glomérulonéphrite, etc.) (1 – 3). Dans la mesure où la fièvre rhumatismale se raréfie dans certaines régions, l'augmentation du nombre de cas se développant de façon insidieuse ou sub-clinique exige d'autant plus une confirmation par sérodiagnostic. Parmi tous les anticorps dirigés contre les différents exoenzymes du streptocoque, il est recommandé de privilégier le dosage de l'antistreptolysine O, qui est un paramètre sensible, trouvé augmenté dans 80 à 85% des cas. Par ailleurs, seule l'ASL permet une standardisation internationale.

Principe de la méthode

Les particules de polystyrène recouvertes de streptolysine O s'agglutinent lorsqu'elles sont mélangées à un échantillon contenant de l'antistreptolysine O. L'intensité de la lumière dispersée par le système est proportionnelle à la concentration du paramètre recherché. L'exploitation se fait par rapport à un standard de concentration connue.

Réactifs

Conditionnement

N Latex ASL, code OUSS

N ASL Réactif, 3 flacons pour 2 ml

N ASL Accélérateur, 2 flacons de 4 ml, ou

N ASL Réactif, 4 flacons pour 3 ml

N ASL Accélérateur, 4 flacons de 4 ml

Composition

N ASL Réactif est composé d'un lyophilisat de particules de polystyrène recouvertes de streptolysine O.

N ASL Accélérateur est composé d'une solution de polyéthylène glycol et de détergents.

Agents de conservation :

N ASL Réactif reconstitué : azide de sodium < 0,6 g/l

N ASL Accélérateur : azide de sodium < 1 g/l

Mises en garde et précautions d'emploi

- Réservé à un usage *in vitro*.
- Les réactifs contenant de l'azide de sodium doivent être manipulés avec précaution : ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau et les muqueuses ! En cas d'évacuation dans l'évier, rincer avec beaucoup d'eau. L'azide de sodium peut devenir explosif au contact de métaux lourds comme le cuivre ou le plomb.
- Tout don de sang individuel prévu pour la préparation du N ASL Réactif est testé vis-à-vis de l'antigène HBS, de l'anticorps anti-VHC, de l'anticorps anti-VIH 1 et de l'anticorps anti-VIH 2. Seuls les dons trouvés négatifs sont utilisés.
Indépendamment de cela, tout échantillon (par ex. sérum de patient) ou préparation obtenu à partir de sang humain doit être manipulé avec les précautions nécessaires en cas de risque biologique, dans la mesure où on ne peut exclure totalement un risque d'infection (4).

Préparation des réactifs

N ASL Réactif : reconstituer le lyophilisat d'un flacon avec le volume d'eau distillée indiqué sur l'étiquette du flacon. Le réactif est prêt à l'emploi 15 min après sa reconstitution. L'homogénéiser en l'agitant avec précaution avant le premier emploi.

Le N ASL Accélérateur est prêt à l'emploi.

Stabilité et conditions de conservation

Conservation à +2/+8°C :

la date de péremption est indiquée sur l'étiquette.

Stabilité après ouverture :

4 semaines (N ASL Réactif reconstitué et N ASL Accélérateur), à condition de bien refermer les flacons immédiatement après emploi et de les replacer à +2/+8°C.

Ne pas congeler les réactifs.

Stabilité sur les systèmes BN* :

La stabilité « on-board » dépend du système BN* utilisé ainsi que des conditions d'analyse du laboratoire. Ne pas laisser les réactifs ouverts sur les systèmes BN* A, BN* 100 et BN* II, mais bien refermer les flacons et les replacer à +2/+8°C immédiatement après emploi. Pour plus de détails, se reporter au manuel d'utilisation des systèmes BN* II et BN ProSpec®.

Matériel et autres réactifs nécessaires

Système BN*

N Rheuma Standard SL, code OQKZ

N/T Rheuma Contrôles SL/1 et SL/2, codes OQDB et OQDC

N Tampon de réaction, code OUMS

N-Diluant, code OUMT

BN* II Bouchons anti-évaporation (utilisation optionnelle), code OVLE

Consommable et équipement selon les instructions des manuels d'utilisation des systèmes BN*.

Echantillons à tester

Utiliser des échantillons sériques humains, de préférence frais (conservés 8 jours maximum à +2/+8°C), sinon congelés. S'ils ont été congelés dans les 24 heures qui ont suivi leur prélèvement et conservés à < -25°C, ils peuvent être utilisés pendant 3 mois ; ne les congeler qu'une seule fois. Les échantillons sériques doivent être totalement coagulés et ne plus contenir ni particules ni traces de fibrine après centrifugation.

Les échantillons lipémiques ou devenus troubles après décongélation doivent être clarifiés par centrifugation (10 min à env. 15 000 g) avant leur emploi dans le test.

Réalisation du test

Remarques

- Pour plus de détails sur l'utilisation des systèmes BN*, se reporter au manuel d'utilisation du système utilisé.
- Ne pas utiliser les réactifs au-delà de leur date de péremption.
- Respecter le temps de reconstitution indiqué pour le réactif lyophilisé (au moins 15 min après l'addition de l'eau distillée).
- Pour un dosage sur les systèmes BN* A et BN* 100, porter réactifs et échantillons à la température ambiante (+15/+25°C) avant leur emploi dans le test. Sur les systèmes BN* II et BN ProSpec®, ils peuvent être directement utilisés à +2/+8°C.
- Sur les systèmes BN* A et BN* 100, la mesure des échantillons doit se faire à peu près à la même température d'environnement que lors de la mesure de la courbe d'étalonnage (maximum 3°C d'écart).

Protocole de dosage sur les systèmes BN*

Le protocole de dosage est indiqué dans le manuel d'utilisation ainsi que dans le logiciel de chaque système. Toutes les étapes sont effectuées automatiquement par le système.

Etablissement de la courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage est établie automatiquement selon une calibration en plusieurs points, à partir d'une série de dilutions du N Rheuma Standard SL avec le N Diluant. Une fois préparées, les dilutions du standard doivent être utilisées dans les 4 heures. La courbe d'étalonnage est valable pendant deux semaines. Elle peut être réutilisée pendant cette période aussi longtemps que les contrôles d'exactitude, par ex. les N/T Rheuma Contrôles SL/1 et SL/2, sont trouvés à l'intérieur de leur domaine de confiance respectif. Etablir une nouvelle courbe d'étalonnage à chaque changement de lot de réactif.

Le domaine de mesure exact dépend de la concentration en ASL du lot de N Rheuma Standard SL utilisé. Des domaines de mesure types sont indiqués dans les manuels d'utilisation des systèmes BN*.

Mesure des échantillons de patients

Les échantillons sont dilués automatiquement au 1/400 avec le N-Diluant. Les dilutions doivent être testées dans les 4 heures.

Si des valeurs mesurées sortent du domaine de mesure, refaire le dosage à une dilution plus élevée ou plus basse. Pour le retest des échantillons à d'autres dilutions, se reporter aux manuels d'utilisation des systèmes BN*.

Contrôle de qualité interne

Tester les N/T Rheuma Contrôles SL/1 et SL/2 à chaque nouvelle courbe d'étalonnage, à chaque changement de flacon de réactif, ainsi qu'à chaque nouvelle série d'échantillons. Traiter les contrôles comme des échantillons de patients, aussi bien dans le test que pour l'exploitation des résultats. Les valeurs théoriques et les domaines de confiance sont indiqués dans le tableau des valeurs théoriques de chacun des contrôles.

Si les valeurs mesurées des contrôles sortent des domaines de confiance correspondants, repasser les contrôles. Si la déviation est confirmée, établir une nouvelle courbe d'étalonnage. Les résultats des patients ne peuvent être rendus qu'après avoir identifié et annulé la source d'erreur.

Calcul des résultats d'analyse

L'exploitation se fait automatiquement selon une fonction log-logit.

Limites de réalisation du test

Les échantillons troubles ou contenant des particules peuvent perturber le test. Aussi les échantillons contenant des particules doivent-ils être centrifugés avant le test. Les échantillons lipémiques qui ne peuvent être clarifiés par centrifugation (10 mn à env. 15 000 g) ainsi que les échantillons inactivés à la chaleur doivent être exclus du test. Dans les gammopathies monoclonales (par ex. la macroglobulinémie de Waldenström), on peut dans certains cas obtenir des concentrations d'ASL augmentées à tort. Ces échantillons doivent alors être testés selon une autre méthode.

Du fait d'effets matriciels, les résultats obtenus dans le cadre de contrôles nationaux peuvent diverger selon la méthode de dosage utilisée. Il peut dans ces cas-là être nécessaire d'évaluer les résultats selon des valeurs-cibles spécifiques à chaque méthode.

Domaine de référence

A titre indicatif, on considère que 200 UI/ml correspondent à la limite supérieure du domaine normal. La concentration d'ASL dépend de l'âge du patient (5), des données géographiques et de la fréquence locale des infections à streptocoques. Une étude qui a porté sur 503 donneurs de sang d'Europe centrale a donné avec le test N Latex ASL des valeurs jusqu'à 370 UI/ml (95^{ème} percentile). Une autre étude effectuée au Japon sur un collectif de 477 donneurs de sang a donné des valeurs jusqu'à 240 UI/ml (95^{ème} percentile).

Indépendamment de ces données, chaque laboratoire doit déterminer son propre domaine de référence dans la mesure où celui-ci peut varier considérablement en fonction du collectif étudié. Dans la mesure où un seul dosage ne donne pas d'information sur l'évolution d'une concentration en ASL, seul un deuxième dosage effectué 1 à 2 semaines plus tard permet une interprétation significative.

Caractéristiques du dosage

Sensibilité

La sensibilité est déterminée par la limite inférieure de la courbe d'étalonnage et dépend donc de la concentration en ASL du N Rheuma Standard SL.

Spécificité

Le dosage est spécifique de l'antistreptolysine O.

Précision

Deux sérums de contrôle ayant des concentrations d'ASL différentes ont été testés en double avec le test N Latex ASL sur un système BN* sur 20 jours. L'analyse de variance des résultats (6) a donné les coefficients de corrélation (CV) suivants :

Précision				
Echantillon	valeur moyenne (UI/ml)	répétabilité CV (%)	reproductibilité CV (%)	global CV (%)
Sérum de Contrôle 1	131	5,7	4,8	6,7
Sérum de Contrôle 2	385	6,7	5,7	8,0

Comparaison avec une autre méthode

64 sérums avec des concentrations d'ASL comprises entre 27 et 600 UI/ml ont été testés en parallèle sur un système BN* avec N Latex ASL (y) et un test d'inhibition de l'hémagglutination (x), également étalonné d'après une préparation de référence internationale de l'OMS. La comparaison des résultats par une analyse de régression a donné la droite suivante : $y = 0,80 x + 16,5$ UI/ml.

Remarque

Les valeurs indiquées comme caractéristiques du dosage représentent des résultats types et ne doivent pas être considérées comme des spécifications du N Latex ASL.

Littérature

Cf. page 1.

BN ProSpec est une marque déposée de Dade Behring Marburg GmbH aux USA, en Allemagne et dans d'autres pays.

* BN est une marque de Dade Behring Marburg GmbH aux USA.

 Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com



N Latex ASL

Uso previsto

Diagnostici *in vitro* per la determinazione quantitativa dell' anti-streptolisina O (ASL) nel siero umano mediante immunonefelometria amplificata con particelle con i sistemi BN*.

Significato diagnostico

La determinazione immunologica degli anticorpi specifici diretti verso i prodotti del metabolismo degli streptococchi fornisce una informazioni utili su infezioni streptococciche pregresse (febbre reumatica, scarlattina, tonsillite, glomerulonefrite, ecc.).¹⁻³ Da quando la febbre reumatica è diminuita di frequenza in varie regioni, l'aumento dei casi con decorso lieve o subclinico esige, a maggior ragione, una accurata valutazione attraverso la sierodiagnosi. Di tutti gli anticorpi diretti contro le diverse esotossine streptococciche è data la precedenza alla ricerca degli anticorpi verso la streptolisina O, in quanto questa risulta essere il parametro più sensibile nell'80-85% dei casi. Inoltre, attualmente, la standardizzazione è stata effettuata soltanto per ASL.

Principio del metodo

Le particelle di polistirene rivestite con streptolisina O sono agglutinate quando sono miscelate con campioni contenenti anti-streptolisina O. Questi aggregati diffondono un fascio di luce dopo aver attraversato il campione. L'intensità della luce diffusa è proporzionale alla concentrazione della proteina presente nel campione. La valutazione del risultato avviene per confronto con uno standard a concentrazione nota.

Reagenti

Contenuto della confezione

N Latex-ASL, codice OUS

N Reagente ASL, 3 flaconi per 2 mL ciascuno

N Acceleratore ASL, 2 flaconi da 4 mL ciascuno oppure

N Reagente ASL, 4 flaconi per 3 mL ciascuno

N Acceleratore ASL, 4 flaconi da 4 mL ciascuno

Composizione

N Reagente ASL, liofilizzato, è costituito da particelle di polistirene rivestite con streptolisina O. N Acceleratore ASL è costituito da una soluzione di polietilenglicole e detergenti.

Conservante:

N Reagente ASL dopo ricostituzione: sodio azide < 0,6 g/L

N Acceleratore ASL: sodio azide < 1 g/L

Avvertenze e precauzioni

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Quando si impiegano diagnostici *in vitro* contenenti sodio azide osservare le seguenti precauzioni: non ingerire ed evitare contatti con la cute e le mucose! La sodio azide a contatto con metalli come rame e/o piombo, può formare azidi esplosive.
- Ogni singola donazione di sangue, impiegata per la produzione di N Reagente ASL, è stata esaminata per la ricerca dell'HBsAg e degli anticorpi anti- HCV, anti-HIV 1 e anti-HIV 2. Solo i campioni risultati negativi sono stati impiegati per la produzione. Tuttavia, poiché non è possibile escludere con assoluta certezza il pericolo di agenti patogeni, tutti i derivati da sangue umano devono essere trattati con le necessarie precauzioni, rispettando le norme di sicurezza sul rischio biologico⁴.

Preparazione dei reagenti

N Reagente ASL: ricostituire il contenuto di un flacone con la quantità di acqua distillata indicata in etichetta. Dopo la ricostituzione, attendere 15 minuti prima dell'uso. Agitare accuratamente, prima del primo impiego.

N Acceleratore ASL pronto per l'uso.

Conservazione e stabilità

Stabilità a +2 / +8°C:

vedi data di scadenza sull'etichetta

Stabilità dopo apertura:

4 settimane (N reagente ASL ricostituito e N Acceleratore ASL), se conservati ben chiusi a +2/+8°C subito dopo l'uso.

Non congelare.

Stabilità sui sistemi BN*:

la stabilità "on-board" dipende dai sistemi BN* utilizzati e dalle condizioni del laboratorio. Non lasciare i reagenti aperti sul sistema BN* A, BN* 100 e BN* II ma conservarli, ben chiusi subito dopo l'uso, a +2/+8°C. Per maggiori informazioni consultare il manuale d'uso dei sistemi BN* e BN ProSpec®.

Materiale necessario ma non fornito

Sistema BN*

N Standard per Reumatologia SL, codice QKZ

N/T Controlli per Reumatologia SL/1 e 2, codice QBC e QDC

N Tampone per reazione, codice UMS

N Diluente, codice UMT

Tappi anti-evaporazione per BN*II (facoltativo), codice VLE

Altro materiale e attrezzature come descritto nel manuale d'uso del sistema BN*.

Campioni in esame

Si impiegano come campioni in esame sieri umani possibilmente freschi (conservati per un massimo di 8 giorni a + 2/+ 8 °C) o congelati. I campioni possono essere conservati ad una temperatura inferiore a -25°C fino a 3 mesi, se congelati entro 24 ore dal prelievo, evitando ripetuti congelamenti e scongelamenti. I sieri devono essere completamente coagulati e dopo la centrifugazione non devono contenere particelle o tracce di fibrina.

I campioni lipemici o che si presentino torbidi dopo lo scongelamento, devono essere chiarificati mediante centrifugazione (10 minuti a ca. 15000 x g), prima del test.

Metodica

Note

- Per maggiori informazioni sull'uso dello strumento, consultare il manuale d'uso del sistema BN*.
- I reagenti non devono essere utilizzati oltre la data di scadenza.
- Per i reagenti liofilizzati rispettare un tempo di ricostituzione (almeno 15 minuti dopo l'aggiunta di acqua distillata).
- Prima della misurazione sui sistemi BN* A o BN* 100, portare i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (+15/+25°C). Con i sistemi BN* II e BN ProSpec® possono essere analizzati immediatamente anche campioni e reagenti conservati a +2/+8°C.
- Sui sistemi BN* A e BN* 100 la misurazione dei campioni in esame deve essere eseguita alla stessa temperatura ambiente (max. 3 °C di differenza) alla quale è stata registrata la curva di calibrazione.

Protocollo analitico per i sistemi BN*

Il protocollo analitico è riportato nel manuale d'uso del sistema BN* e nel software dello strumento. Tutte le fasi vengono eseguite automaticamente dallo strumento.

Preparazione della curva di calibrazione

Le curve di calibrazione vengono costruite con una calibrazione multi-punto. La serie di diluizioni dell'N Standard per Reumatologia SL viene preparata automaticamente dallo strumento, utilizzando N Diluente. Le diluizioni dello standard devono essere usate entro 4 ore. La curva di calibrazione è valida 2 settimane e può essere impiegata oltre tale periodo se i controlli di accuratezza, ad es. N/T Controllo per Reumatologia SL/1 e SL/2, si trovano entro i rispettivi intervalli di accettabilità. Utilizzando un nuovo lotto di reagente è necessario preparare una nuova curva di calibrazione.

L'intervallo di misura esatto dipende dalla concentrazione della proteine di ogni lotto di N Standard per Reumatologia SL. Per intervalli di misura tipici, fare riferimento al manuale d'uso del rispettivo sistema BN*.

Misurazione dei campioni dei pazienti

I campioni vengono diluiti automaticamente 1:400 con N Diluente. Le diluizioni devono essere utilizzate entro 4 ore. Se il risultato ottenuto si trova al di fuori dell'intervallo di misura, il test può essere ripetuto utilizzando una diluizione più alta o più bassa del campione. per informazioni sulla ripetizione della misurazione con altre diluizioni, consultare il manuale d'uso del sistema BN*.

Controllo qualità interno

Impiegare l'N/T Controllo per Reumatologia SL/1 e SL/2 dopo la preparazione di ogni curva di calibrazione, al primo impiego di un flacone di reagente e con ogni serie di campioni. I controlli vengono analizzati e valutati allo stesso modo dei campioni dei pazienti. I valori teorici e l'intervallo di accettabilità sono indicati nella tabella dei valori teorici del rispettivo controllo. Se il risultato dei controlli si trova al di fuori dell'intervallo di accettabilità, la determinazione deve essere ripetuta. se anche questa determinazione conferma la deviazione, è necessario preparare una nuova curva di calibrazione. Rilasciare i risultati dei pazienti solo dopo aver identificato e rimosso le cause della deviazione.

Risultati

La valutazione dei risultati è eseguita in modo automatico mediante una funzione logit-log.

Limitazioni della procedura

I campioni torbidi o contenenti particelle possono influenzare il test. Pertanto, i campioni contenenti particelle, devono essere centrifugati prima del test. I campioni lipemici, che non possono essere chiarificati mediante centrifugazione (10 minuti a circa 15.000 x g) e i campioni inattivati con il calore, non devono essere utilizzati per il test. Nelle gammopatie monoclonali (ad es. macroglobulinemia di Waldenström) possono essere erroneamente determinate, in alcuni casi, concentrazioni di ASL molto elevate. Questi campioni dovrebbero essere analizzati con un altro metodo.

A causa dell'effetto matrice, i campioni delle indagini inter-laboratorio ed i campioni di controllo possono dare risultati differenti da quelli ottenuti con altri metodi. pertanto è necessario valutare questi risultati in relazione ai valori di target specifici del lotto.

Intervallo di riferimento

200 UI/mL sono accettati internazionalmente come limite superiore dell'intervallo di riferimento.

La concentrazione di ASL dipende dall'età del paziente⁵, dalla posizione geografica e dalla frequenza locale delle infezioni streptococciche. Ogni laboratorio deve quindi determinare i propri valori di riferimento.

Una indagine condotta su 503 donatori dell'Europa centrale con il kit N Latex ASL ha riportato valori fino a 370 UI/mL (95° percentile). In una ulteriore indagine condotta in Giappone su 477 donatori sono stati misurati valori fino a 240 UI/mL (95° percentile). Tuttavia, ogni laboratorio dovrebbe determinare il proprio intervallo di riferimento, in quanto i valori possono variare a seconda della popolazione esaminata.

Poiché una determinazione isolata non fornisce informazioni sull'evoluzione della concentrazione di ASL, una valutazione può essere fatta dopo ripetizione della determinazione a distanza di 1-2 settimane.

Caratteristiche specifiche del test

Sensibilità

La sensibilità del test viene determinata dal limite inferiore della curva di calibrazione e dipende quindi dalla concentrazione della proteina nell'N Standard Reumatologia SL.

Specificità

Il test è specifico per l'anti-streptolisina O.

Precisione

Due campioni a diverse concentrazioni di ASL sono stati analizzati con N Latex ASL per 20 giorni, ciascuno in una doppia determinazione. L'analisi della varianza dei risultati ha dato i seguenti coefficienti di variazione (CV):

Precisione				
Campione	Media (UI/mL)	Intra-serie CV (%)	Inter-serie CV (%)	Totale CV (%)
Siero controllo 1	131	5,7	4,8	6,7
Siero controllo 2	385	6,7	5,7	8,0

Confronto tra metodi

64 campioni di sieri con concentrazione di ASL compresa tra 27 e 600 UI/mL sono stati esaminati con N Latex ASL sul sistema BN* (y) e, parallelamente, con un test di inibizione dell'emolisi (x) calibrato contro la preparazione di riferimento dell'OMS. Il confronto dei risultati mediante analisi di regressione ha dato la seguente retta:

y = 0,80 x +16,5 (UI/mL).

Nota:

I valori indicati per le caratteristiche specifiche del test rappresentano dei risultati tipici e non devono essere considerati quali specifici per N Latex ASL.

Bibliografia

Vedi pagina 1

BN ProSpec è un marchio registrato della Dade Behring Marburg GmbH negli USA, in Germania e in altri Paesi.

* BN è un marchio registrato della Dade Behring Marburg GmbH negli USA.

 Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com



N Latex ASL

Campos de aplicación

Reactivos de diagnóstico *in-vitro* para la determinación cuantitativa de la antiestreptolisina O (ASL) en suero humano y en plasma heparínico, mediante inmunonefelometría con partículas intensificadoras usando los sistemas BN*.

Significado diagnóstico

La determinación inmunquímica de anticuerpos específicos contra productos del metabolismo de estreptococos suministra información muy importante sobre una infección precedente con estreptococos (entre otras: fiebre reumática, escarlatina, amigdalitis, glomerulonefritis) (1-3). Aunque que la fiebre reumática en diferentes regiones casi no existe, el aumento de casos ligeros o con desarrollo subclínico requiere tanto más una minuciosa aclaración mediante el diagnóstico sérico. En la determinación de los anticuerpos contra diferentes exoenzimas de estreptococos se le da preferencia a la antiestreptolisina O, ya que ésta, como parámetro sensible, se ha encontrado elevada en un 80 a 85% de los casos. Además solamente existe una estandarización internacional para el ASL.

Principio del método

Las partículas de poliestireno recubiertas con estreptolisina O al mezclarse con las muestras que contienen antiestreptolisina O forman agregados, en los cuales se va a dispersar el rayo de luz incidente. La intensidad de la luz dispersada depende de la concentración de la correspondiente proteína en la muestra. La valoración se hace por comparación con un estándar de concentración conocida.

Reactivos

Contenido del envase comercial

N Látex ASL, N° de pedido OUSS

Reactivo N ASL, 3 frascos c/u para 2 ml

Acelerador N ASL, 2 frascos c/u con 4 ml o

Reactivo N ASL, 4 frascos c/u para 3 ml

Acelerador N ASL, 4 frascos c/u con 4 ml

Composición

El Reactivo N ASL está compuesto por un liofilizado de partículas de poliestireno recubiertas con estreptolisina O.

Acelerador N ASL está formado por una solución de polietilenglicol y detergentes.

Agente de conservación:

Reactivo N Látex ASL reconstituido: Azida de sodio < 0,6 g/l

Acelerador N ASL: Azida de sodio < 1 g/l

Advertencias y medidas de seguridad

- Sólo para ser utilizado en diagnósticos *in-vitro*.
- En el manejo de diagnósticos *in-vitro* que contengan azida sódica debe observarse la siguiente regla:
¡No ingerir y evitar contacto con la piel y mucosas! Al eliminar en las aguas residuales lavar con bastante agua. La azida sódica puede formar azidas explosivas con metales como cobre y plomo.
- Cada donación de sangre destinada a la preparación del reactivo N ASL, fue sometida a pruebas para detectar la presencia de HBsAg, anti-HCV, anti-HIV 1 y anti-HIV 2. Para la elaboración sólo se utilizaron donaciones con resultados negativos.
Independientemente de esto, todos los muestras obtenidos a partir sangre humana (por ej., sueros y plasmas de pacientes) deben ser manipuladas con las precauciones necesarias, siguiendo las medidas de seguridad recomendadas en caso de riesgo biológico, puesto que nunca se puede excluir completamente la existencia de agentes patógenos (4).

Preparación del reactivo

Reactivo N ASL: El contenido liofilizado de un frasco debe resuspenderse en la cantidad de agua destilada indicada en la etiqueta. El reactivo se puede usar 15 min. después de reconstituido y se debe agitar con precaución antes de usarse por primera vez.

El Acelerador N ASL viene listo para el uso.

Estabilidad y condiciones de almacenamiento

Almacenamiento entre +2 y +8°C:

La fecha de vencimiento viene indicada en la etiqueta;

Estabilidad después de abierto:

4 semanas, (reactivo N ASL reconstituido), siempre que después de usarse, se mantenga perfectamente cerrado y almacenado entre +2 y +8°C.

Los reactivos no se deben congelar.

Estabilidad en los sistema BN*:

La estabilidad „on board“ depende del sistema BN* utilizado, así como de las condiciones del laboratorio. Los reactivos no deben permanecer abiertos en los sistemas BN* A, BN* 100 o BN* II, sino que deben ser almacenados entre +2 y +8°C directamente después de ser usados. Para más información consultar los manuales de operación de los sistemas BN* II y BN ProSpec®.

Material adicional necesario

Sistemas BN*

N Reuma Estándar SL, N° de pedido OQKZ

N/T Reuma Controles SL 1 y SL 2, N° de pedido QQDB y QQDC

N Tampón de reacción, N° de pedido OOMS

N Diluyente, N° de pedido OUMT

Tampón protector de evaporación para el BN* II (opcional), N° de pedido OVLE

Otros materiales necesarios vienen descritos en los manuales de operación de los Sistemas BN*.

Material a investigar

Para las medidas se deben usar, en lo posible, muestras de sueros humanos frescas (máx. conservadas 8 días entre +2 y +8°C) o muestras de sueros humanos almacenadas congeladas. Si las muestras de suero se congelan dentro de las 24 horas subsiguientes a su toma, se pueden almacenar por debajo de -25°C durante 3 meses, siempre que se evite su repetida congelación y descongelación. Las muestras de suero deben estar perfectamente coaguladas y no presentar partículas o restos de fibrina después de centrifugadas. Las muestras lipémicas o las muestras congeladas, que presenten turbidez después de su descongelación, deben ser aclaradas por centrifugación (10 min. a aprox 15000 x g) antes de empezar con la determinación.

Procedimiento

Advertencias:

- Para una detallada información sobre el manejo de los Sistemas BN* consultar el manual de operaciones del sistema correspondiente.
- El reactivo sólo se debe utilizar hasta la fecha de vencimiento dada en la etiqueta.
- Debe cumplirse el tiempo de reconstitución (mínimo 15 min. después de agregar el agua destilada).

- Antes de iniciar el test en los sistemas BN* A y BN* 100, los reactivos y las muestras tienen que haber alcanzado la temperatura ambiente (entre +15 y +25°C). En los sistemas BN* II y BN ProSpec® se pueden utilizar los reactivos almacenados entre +2 y +8°C directamente en la determinación.
- La medida de las muestras en los sistemas BN* A y BN* 100 se debe efectuar a la misma temperatura ambiente (máx. 3°C de desviación) a la que se realizó la curva de calibración.

Protocolo del ensayo en los sistemas BN*

Los protocolos de ensayo vienen descritos en los correspondientes manuales de operación, así como también, en el software del aparato correspondiente. Todas las etapas van a ser realizadas por el sistema de forma automática.

Preparación de la curva de referencia

Las curvas de referencia se hacen sobre una calibración de varios puntos. Para su elaboración se preparan automáticamente una serie de diluciones del N Reuma estándar SL con el N diluyente. Las diluciones del estándar deben ser usadas dentro de las 4 horas siguiente. La curva de referencia es válida por dos semanas. Esta curva puede ser utilizada por más tiempo, siempre que los controles de exactitud por ej., el N/T Reuma control SL 1 y SL 2 se vuelvan a encontrar dentro de su rango de confianza al repetir la medida. Al utilizar un nuevo lote de reactivos se debe hacer una nueva curva de referencia.

El rango exacto de medida depende de la concentración del analito en cada lote del N Reuma estándar SL. Rangos de referencia típicos vienen descritos en el manual de operaciones del sistema BN* correspondiente.

Medida de las muestras de pacientes

Las muestras van a ser automáticamente diluidas 1:400 con N diluyente y deben ser medidas en un plazo de 4 horas.

Para los valores medidos que se encuentren por fuera del rango de medida, se puede repetir la medida en una dilución mayor o menor de la muestra. La repetición de las medidas a otras diluciones de las muestras vienen descrita en los manuales de operaciones de los sistemas BN*.

Control de calidad interno

Los N/T Reuma controles SL 1 y SL 2 se deben usar después de cada elaboración de una curva de referencia, después de abrir un frasco de reactivo por primera vez, así como, con cada serie de muestras. Los controles se deben tratar en su preparación y medida como las muestras de pacientes. Los valores teóricos y los rangos de confianza vienen dados en la etiqueta del frasco del control correspondiente.

Si los resultados de las medidas de los controles se encuentran por fuera de su rango de confianza, se debe repetir su determinación. Si después de la repetición, se comprueba la desviación, se debe realizar una nueva curva de referencia. Los resultados de los pacientes deben ser entregados únicamente cuando la causa de esta desviación sea conocida y eliminada.

Cálculo de los resultados del análisis

La valoración se efectúa automáticamente mediante una función logit-log.

Limitaciones y fuentes de error

La presencia de turbidez o partículas en la muestra puede alterar la determinación. Por esta razón, las muestras que contengan partículas deberán ser centrifugadas antes de la determinación. Muestras altamente lipémicas que no se puedan aclarar por centrifugación (10 min. a aproximadamente 15 000 x g), así como las muestras inactivadas por medio de calentamiento deben ser eliminadas de la determinación.

Para gammopatías monoclonales (por ej., macroglobulinemia de Waldenström) se van a medir, en algunos casos aislados, valores de la concentración de ASL falsos notablemente elevados. Las muestras concernientes deben ser medidas por otro método.

Debido a los efectos matriz, las muestras para analizar inter-laboratorios y las muestras control pueden producir resultados diferentes, dependiendo del método utilizado para la determinación. Por esta razón, es necesario evaluar estos resultados en relación con valores objetivo específicos del método.

Rango de referencia

Como ayuda para orientarse se da el valor de 200 UI/ml como límite superior del rango de referencia. La concentración de ASL depende de la edad del paciente (5), de la situación geográfica y de la frecuencia local de infecciones por estreptococos. En una investigación de 503 donantes de sangre de Europa central se encontraron con el N Látex ASL resultados hasta del 370 UI/ml (95. percentile). En un estudio posterior en Japón a un colectivo de 477 donantes de sangre se midieron valores hasta de 240 UI/ml (95. percentile).

Por esta razón, cada laboratorio deberá determinar sus propios valores de referencia ya que estos están influenciados por muchos factores, que pueden ser diferentes para cada colectivo o grupo investigado.

Ya que para una única determinación, la información sobre el desarrollo de la concentración del ASL falta, solamente al repetir la determinación 1 o 2 semanas después es posible tener una afirmación relevante.

Características de la determinación

Sensibilidad

La sensibilidad está definida por el límite inferior de la curva de referencia y depende de la concentración del analito en el N Reuma estándar SL.

Especificidad

La determinación es específica para la antiestreptolisina O.

Precisión

Dos sueros de control, con diferente concentración de ASL, fueron analizados con N Látex ASL durante 20 días, cada uno en una doble determinación en el sistema BN*. El análisis de varianza de los resultados (6) dio los siguientes coeficientes de variación (CV) :

Precisión				
Muestra	Valor promedio (UI/ml)	Intra assay CV (%)	Inter assay CV (%)	Total CV (%)
Suero control 1	131	5,7	4,8	6,7
Suero control 2	385	6,7	5,7	8,0

Comparación de métodos

64 muestras de suero con concentraciones de ASL en un rango de 27 a 600 UI/ml fueron determinadas en el sistema BN* con el N Látex ASL (y) y paralelamente a esto fueron medidas también en un test de inhibición de la hemólisis (x), que igualmente estaba calibrado con un preparado de referencia internacional de la OMS. La comparación de los resultados mediante el análisis de regresión dio la siguiente línea: y = 0,80 x + 16,5 UI/ml.

Nota:

Los valores dados para las características del test representan valores típicos y no se deben tomar como especificaciones para el N Látex ASL.

Bibliografía

Ver página 1

BN ProSpec es una marca de fábrica registrada de Dade Behring Marburg GmbH en USA, Alemania y en otros países.

* BN es una marca de fábrica de Dade Behring Marburg GmbH en USA.



Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com



N Latex ASL

Campo de aplicação

Diagnósticos *in vitro* para a determinação de anti-streptolisina O (ASL) no soro humano, por meio da imunonefelometria de partículas reforçadas nos sistemas BN*.

Significado diagnóstico

A determinação imunológica de anticorpos específicos contra os estreptococos – produtos metabólicos fornece informações valiosas sobre uma infecção por estreptococos precedente (febre reumática, escarlatina, tonsilite e glomerulonefrite, entre outras.) (1- 3). Efectivamente, a febre reumática tornou-se mais rara; mas o aumento nos casos com evolução ligeira ou subclínica, exige uma clarificação mais profunda através do serodiagnóstico. Na determinação de anticorpos contra diversas exoenzimas estreptocócicas, a predominância deverá ser dada à anti-streptolisina O como parâmetro sensível, uma vez que, em aprox. 80 a 85% dos casos, foi detectado um aumento da mesma. Além disso, até à data a estandarização internacional só foi executada para a ASL.

Princípio metodológico

As partículas de poliestireno, revestidas de streptolisina O, ao serem misturadas com amostras contendo anti-streptolisina O, formam aglutinados que dispersam a luz irradiada. A intensidade da luz dispersa depende da concentração da respectiva substância a analisar na amostra. A avaliação é feita por comparação com um padrão de concentração conhecida.

Reagentes

Conteúdo das embalagens comerciais

N Latex ASL, n.º de ref. OUSS

N ASL-Reagente, 3 frascos para 2 ml cada

N ASL-Accelerator, 2 frascos com 4 ml cada ou

N ASL-Reagente, 4 frascos para 3 ml cada

N ASL-Accelerator, 4 frascos com 4 ml cada

Composição

O N ASL-Reagente é composto por um liofilizado de partículas de poliestireno, revestidas de streptolisina O.

O N ASL-Accelerator é composto por uma solução de polietilenoglicol e detergentes.

Conservante: N ASL-Reagente após reconstituição: Azida de sódio < 0,6 g/l

N ASL-Accelerator: Azida de sódio < 1 g/l

Advertências e medidas de precaução

1. Só para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Ao manipular diagnósticos *in vitro* que contêm azida de sódio, é necessário prestar atenção ao seguinte: Evitar a ingestão ou o contacto com a pele ou mucosas! Ao eliminar no esgoto, lavar com água abundante. A azida de sódio em contacto com os metais pesados como o cobre ou o chumbo pode formar azidas explosivas.
3. Cada dávida individual de sangue destinada à preparação de Reagente N ASL, foi previamente examinada com vista à detecção de HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV1 e Anti-HIV2. Na preparação só foram utilizadas dávidas com resultado negativo. Independentemente disso, todos as amostras e produtos obtidos a partir de sangue humano (p. ex., soros de pacientes) devem ser manuseadas com as precauções devidas, seguindo as medidas de segurança recomendadas em caso de risco biológico, uma vez que o risco de contaminação por agentes patogénicos nunca pode ser inteiramente excluído (4).

Preparação dos reagentes

N ASL-Reagente: Reconstituir o conteúdo do liofilizado de um frasco com a quantidade de água destilada indicada no rótulo. O reagente pode ser utilizado 15 min. após a reconstituição. Antes do primeiro uso, deverá ser misturado cuidadosamente.

O N ASL-Accelerator está pronto para uso.

Estabilidade e condições de conservação

Conservação entre +2 e +8 °C:

A data de validade está indicada no rótulo;

Estabilidade depois de aberto:

4 Semanas (reagente N ASL reconstituído e N ASL-Accelerator), desde que seja conservado de novo, hermeticamente fechado, entre +2 e +8 °C. Os reagentes não devem ser congelados.

Estabilidade nos sistemas BN*:

A estabilidade "on-board" depende do sistema BN* utilizado e das condições laboratoriais. Os reagentes não devem permanecer abertos nos sistemas BN* A, BN* 100 ou BN* II, e devem ser conservados de novo, hermeticamente fechados, entre +2 e +8 °C. Os manuais de instrução do sistema BN* II e BN ProSpec® contêm indicações mais pormenorizadas.

Outros materiais necessários

Sistema BN*

N Standard Reumatológico, n.º de ref. OQKZ

N/T Controlos Reumatológicos SL/1 e SL/2, n.º de ref. OQDB e OQDC,

N Tampão de reacção, n.º de ref. OUMS

N Diluente, n.º de ref. OUMT

BN* II Evaporation Stoppers (opcionais), n.º de ref. OVLE

Material de consumo e equipamento como descritos nos manuais de instruções dos sistemas BN*.

Material de análise

Para a medição deverão ser utilizadas amostras de soro humano tão frescas quanto possível, (conservadas 8 dias, no máximo, entre +2 e +8 °C) ou amostras de soro humano conservadas congeladas. Se as amostras forem congeladas num período de tempo de 24 horas após a colheita, podem ser conservadas durante 3 meses a uma temperatura inferior a –25 °C, se se evitar que as mesmas sejam descongeladas e congeladas novamente. As amostras de soro devem estar completamente coaguladas e não apresentar partículas ou vestígios de fibrina após a centrifugação. As amostras lipémicas ou as amostras congeladas que apresentem turvação após descongelação, têm de ser clarificadas por centrifugação (10 min. a aprox. 15 000 x g) antes da determinação.

Execução do teste

Notas

1. Retirar os pormenores para a manipulação dos sistemas BN* dos respectivos manuais de instrução.
2. Após a data de validade indicada, os reagentes já não podem ser usados.
3. O tempo de reconstituição indicado para os reagentes liofilizados (15 min., no mínimo, após adição de água destilada) deverá ser respeitado.
4. Antes da medição no sistema BN* A e BN* 100, os reagentes e as amostras deverão ter atingido a temperatura ambiente (+15 a +25 °C). Os reagentes e amostras conservados entre +2 e +8 °C podem ser usados directamente no sistema BN* II e BN ProSpec®.
5. A medição de amostras no sistema BN*A e BN* 100 deve ser executada à temperatura ambiente existente no momento em que o registo da curva de referência foi feito (máx. 3 °C de desvio).

Protocolos de ensaio nos sistemas BN*

O protocolo de ensaio está contido no manual de instruções e no Software do aparelho respectivo. Todos os passos são executados automaticamente pelo sistema.

Preparação da curva de referência

As curvas de referência são obtidas por uma calibração de pontos múltiplos. Para a preparação, são efectuadas automaticamente séries de diluição do N Standard Reumatológico SL com o N Diluente. As diluições padrão têm de ser usadas num período de tempo de 4 horas.

OUSS G07 E0540 (148) H 6

Edição Fevereiro 2002

A curva de referência é válida durante duas semanas. A curva de referência pode ser utilizada para além desse período de tempo, desde que os controlos de exactidão, como por ex., os N/T Controlos Reumatológicos S/L1 e S/L 2 continuem presentes dentro do respectivo intervalo de referência. Em caso de utilização de um outro lote de reagente, é necessário registar uma nova curva de referência. O intervalo de medição exacto depende da concentração da substância a analisar de cada lote N Standard Reumatológico SL. Os intervalos de medição típicos estão indicados no manual de instruções do respectivo sistema BN*.

Medição de amostras de pacientes

As amostras são diluídas automaticamente com N Diluente na relação de 1:400. As diluições têm de ser medidas num período de tempo de 4 horas. Para os valores medidos que se encontrem fora do intervalo de medição, a medição pode ser repetida a partir de uma diluição de amostra superior ou inferior (só no protocolo de ensaio do soro/plasma). As repetições de medição a partir de outras diluições de amostras estão descritas no manual de instruções dos sistemas BN*.

Controlo interno de qualidade

Os N/T Controlos Reumatológicos SL/1 e SL/2 deverão ser utilizados após a preparação de uma curva de referência, após a primeira utilização de um frasco de reagente ou em cada série de amostras. Na preparação e na avaliação do teste, os controlos são tratados como amostras de paciente. O valor teórico e o intervalo de confiança deverão ser retirados da tabela de valores teóricos do controlo respectivo. Se o resultado das medições de controlo se situar fora do intervalo de confiança, a determinação do controlo deverá ser repetida. Se o desvio for confirmado pela repetição da medição, é necessário registar uma nova curva de referência. Os resultados dos pacientes só deverão ser divulgados quando a causa do desvio for identificada e corrigida.

Cálculo dos resultados da análise

A interpretação é feita automaticamente mediante uma função logit-log.

Limitações de execução do teste

As turvações e as partículas nas amostras podem perturbar a determinação. Por isso, as amostras que contêm partículas deverão ser centrifugadas antes da determinação. As amostras lipémicas que não se conseguem clarificar com a centrifugação (10 min. a aprox. 15.000 x g), assim como as amostras desactivadas pelo calor deverão ser excluídas do teste. Nas gamopatias monoclonais (p. ex., macroglobulinemia de Waldenström), esporadicamente são medidas, erradamente, fortes concentrações de ASL. As amostras em causa deverão ser analisadas com um outro método.

Devido aos efeitos matriciais, as amostras de controlo ou amostras de investigação interlaboratorial podem apresentar resultados diversos, em função dos métodos de determinação utilizados. Por isso, poderá ser necessário proceder à avaliação destes resultados com base em valores específicos do método pré-fixados.

Intervalo de referência

Como orientação para o limite superior do intervalo de referência, consideram-se 200 IU/ml. A concentração de ASL depende da idade do paciente (5), das particularidades geográficas e da frequência local de infecções por estreptococos. Num estudo realizado no espaço da Europa Central com 503 dadores de sangue, com o N Látex ASL obtiveram-se resultados até 370 IU/ml (95 percentis). Num outro estudo no Japão, numa população de 477 dadores de sangue foram medidos valores até 240 IU/ml (95 percentis).

Além disso, cada laboratório deverá determinar os seus intervalos de referência próprios, já que estes estão sujeitos a influências múltiplas, que podem ser diferentes para cada população analisada.

Uma vez que, para a determinação individual, falta a informação sobre a evolução da concentração de ASL, uma evidência relevante só será possível com a repetição da determinação após 1 ou 2 semanas.

Características de performance da determinação

Sensibilidade

A sensibilidade é definida pelo limite inferior da curva de referência e depende, assim, da concentração da substância a analisar com o N Standard Reumatológico SL.

Especificidade

A determinação é específica para a anti-streptolisina O.

Precisão

Foram analisados com o N Latex ASL dois soros de controlo com concentrações diferentes de ASL durante 20 dias, respectivamente, numa determinação dupla no sistema BN*. A análise de variância dos resultados (6) forneceu os seguintes coeficientes de variação (CV):

Precisão				
Amostra	Valor médio (IU/ml)	Intra ensaio CV (%)	Inter ensaio CV (%)	Total CV (%)
Soro de controlo 1	131	5,7	4,8	6,7
Soro de controlo 2	385	6,7	5,7	8,0

Comparação de métodos

64 amostras de soro com concentrações de ASL na faixa dos 27 a 600 IU/ml foram analisadas no sistema BN* com N Latex ASL (y) e foram analisadas, paralelamente, com um teste inibidor de hemólise (x), igualmente calibrado com o preparado internacional de referência da OMS. A comparação de resultados através da análise de regressão forneceu a seguinte linha: y = 0,80 x + 16,5 IU/ml.

Observação

Os valores indicados para as características de performance da determinação representam resultados típicos e não deverão ser encarados como especificação para o N Latex ASL.

Bibliografia

Vide a página 1.

BN ProSpec é uma marca registada da Dade Behring Marburg GmbH nos EUA, Alemanha e noutros países.

* BN é uma marca da Dade Behring Marburg GmbH nos EUA.

 Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com



Symbols Key / Symbolschlüssel / Explication des Symboles / Interpretazione simboli / Clave de los Símbolos / Chave dos Símbolos	
	Manufactured by / Hergestellt von / Fabriqué par / Prodotto da / Fabricado por
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / <i>In Vitro</i> Diagnosticum / Dispositif Médical Diagnostic <i>In Vitro</i> / Dispositivo Medico per Diagnostica <i>In Vitro</i> / Producto sanitario para Diagnóstico <i>In Vitro</i>
	Lot Number / Chargenbezeichnung / Numéro de Lot / Numero di Lotto / Número de Lote
	Expiration Date / Verfalldatum / Date de Péremtion / data di scadenza / Fecha de vencimiento / termo da validade
	Storage Temperature / Lagertemperatur / Température de Conservation / Temperatura di conservazione / Temperatura de almacenamiento / Temperatura de armazenagem
	CE Mark / CE-Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / CE Marca / Marca CE
	Catalogue Number / Katalog Nummer / Référence / Codice Catalogo / Número de Catálogo
	Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter la Notice d'Utilisation / Istruzioni per l'uso / Consultar Instrucciones para el Uso / Consulte as Instruções de Utilização