

Order information:

Catalog No.	Contents				
7381	R1	1 x	12 ml	R2 1 x 20 ml	
H8601	Hit 911 / 917 (ILab*/ AU*)	R1	4 x	12 ml	R2 4 x 20 ml

(*) Kit contains only reagent barcode for Hitachi system

System information:

Hitachi 911: ACN: 361-400 (user defined method)
 Hitachi 917: ACN/BCN: 901-905 (user defined method)
 For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

Intended use:

Immuno-turbidimetric assay for the in vitro quantitative determination of antistreptolysin-O in human serum and plasma on automated clinical chemistry analyzers.

Summary:

Immunological testing for specific antibodies to streptococcal metabolic products yields important information about previous streptococcus infections. Antibodies are produced against the pathogen and its metabolic products. One example is the antibody to streptolysin O, an enzyme produced by Lancefield group A β-haemolytic streptococci. Determination of antistreptolysin O is performed when toxic and sensitising associated illnesses occur, such as rheumatic fever (major symptoms: carditis, polyarthritides, chorea minor, subcutaneous nodules, erythema annulare) and poststreptococcal acute glomerulonephritis.

Various methods are available for assaying antistreptolysin O, such as latex agglutination and hemolysis inhibition. These ASLO assay is based on the principle of immunological agglutination test principle using latex particles as reaction enhance.

Test principle:

Immuno-turbidimetric assay
 • Sample and addition of R1 (buffer)
 • Addition of R2 (streptolysin O latex/buffer) and start of reaction

Streptolysin O coated on latex reacts with antibodies in the sample to form an antibody/antigen complex. Following agglutination this is measured turbidimetrically.

Reagent concentration:

R1:
 TRIS buffer* pH 8.2 170 mmol/l
R2:
 Borate buffer pH 8.2 10 mmol/l
 Latex particles coated with streptolysin O 1.7 g/l

*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethane

Preparation and stability:

R1: Ready for use.
 R2: Ready for use.
Mix reagent R2 well before first use and once weekly!
 Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C
 R1: 90 days opened and refrigerated on the analyser
 R2: 90 days opened and refrigerated on the analyser

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes
 Heparinized and EDTA-Plasma
 Stability: 2 days at +20°C to +25°C
 2 days at +4°C to +8°C
 6 months at -20°C
 Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:

For in vitro diagnostic use.
 The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.
 Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.
 Icterus: No significant interference up to an index I of 26 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration: 26 mg/dl).
 Hemolysis: No significant interference up to an index H of 1000 (approximate haemoglobin concentration: 1000 mg/dl).
 Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 1000 (approximate triglycerides concentration: 2000 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.
 Rheumatoid factors < 180 IU/l do not interfere.
 A high-dose hook-effect may occur at antistreptolysin O concentrations above 4000 IU/ml.
 The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

- Working solutions as described above
- Additional materials required
- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

Manual procedure:

Wavelength: 570 nm
 Temperature: +37°C
 Cuvette: 1 cm
 Zero adjustment: against reagent blank

	Blank	Sample/ Calibrator
Sample/ Calibrator	-	15 µl
R1	500 µl	500 µl
Mix, incubate. 5 min. Then add.		
R2	850 µl	850 µl

Mix, read absorbance A₁ after 30 sec.
 Incubate 5 min. and read absorbance A₂.

Calculation:

$$\Delta A = [(A_2 - A_1) \text{ sample or calibrator}] - [(A_2 - A_1) \text{ blank}]$$

The concentration of ASO in patient sera has to be calculated from ΔA using mathematic function as logit/log or can be read from a graph using values of 6 levels of standards in the concentration range of 0 to 560 IU/ml ASL-O. For zero value is recommended to use saline solution (0.9%)

Measuring/reportable range:

20-600 IU/ml
 At higher concentrations, dilute the sample with 0.9% NaCl (e.g. 1 + 1). Multiply the result by the appropriate factor (e.g. 2).

Expected values:

Adults: Up to 200 IU/ml
 Children: Up to 150 IU/ml

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range.
 For diagnostic purposes the ASL O results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit)

Detection limit: 20 IU/ml
 The lower detection limit represents the lowest measurable ASL-O concentration that can be distinguished from zero. It is calculated as three standard deviations of 21 replicates of the lowest standard.

Imprecision:

Reproducibility was determined using human samples and controls in an internal protocol (n = 21). The following results were obtained:

Sample	Within run		
	Mean IU/ml	SD IU/ml	CV %
Human serum	126	1.6	1.3
Protein Control 1	150	1.7	1.1
Protein Control 2	258	2.6	1.0

Sample	Between day		
	Mean IU/ml	SD IU/ml	CV %
Human serum	147	5.0	3.4
Protein Control 1	180	4.6	2.5
Protein Control 2	310	6.6	2.1

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Turbitex® ASL O (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result (IU/ml).
 $y = 1.07x + 2.01$; $r = 0.992$

Quality Control:

Human Control Serum:

Protein Control Level 1	3 x 1 ml	#7661
Protein Control Level 2	3 x 1 ml	#7662
Contronorm® ARC	2 x 1 ml	#7562
Contropath® ARC	2 x 1 ml	#7561

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

Standardization: This ASL-O method was calibrated against an international standard defined by the WHO for ASL-O.

S1-S5: Bio Cal® ASL 5 x 1 ml #14150

Calibration frequency:

Calibration is recommended

- after lot change
- as required following quality control procedures

Literature:

1. Alouf JE. Streptococcal toxins (streptolysin O, streptolysin S, erythrogenic toxin). *Pharmac Ther* 1980;11:661
2. Bach GL, Cadotte R, Wiatr RA et al. Latex antistreptolysin O test as a tube dilution procedure. *Am J Clin Pathol* 1972;57:209
3. Berrios X, Quesney F, Morales A et al. Acute rheumatic fever and poststreptococcal glomerulonephritis in an open population: Comparative studies of epidemiology and bacteriology. *J Lab Clin Med* 1986;108:535.
4. Borque L, Rus A, Dubios H et al. Automated Determination of Streptolysin O Antibodies by a Turbidimetric Latex Immunoassay Method. *Journal of Clinical Immunoassay* 1992;15:182-186
5. Glinck MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-474
6. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Broschüre in: *Samples: From the Patient to the Laboratory*. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
7. Yoshimoto M, Hosoi S, Fuyisawa S et al. High levels of antibodies of streptococcal cell membrane antigens specifically bound to monoclonal antibodies in acute poststreptococcal glomerulonephritis. *J Clin Microbiol* 1987;25:680
8. Peter G, Smith AL. Group A streptococcal infections of the skin and pharynx. *N Engl J Med* 1977;297:311
9. Ricci A, Berti B, Moauro C et al. New haemolytic method for determination of antistreptolysin O in whole blood. *J Clin Microbiol* 1978;8:263
10. Tadzynski LA, Ryan ME. Diagnosis of rheumatic fever. A guide to criteria and manifestations. *Postgrad Med* 1986;79:295
11. Thomas L (Hrsg.). *Labor und Diagnose*, 4th Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft, 1992:1528

Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
7381	R1 1 x 12 ml R2 1 x 20 ml
H8601 Hit 911 / 917 (ILab*/AU*)	R1 4 x 12 ml R2 4 x 20 ml

(*) Kit enthält nur Reagenzien-Barcodes für Hitachi Systeme.

Systeminformation:

Hitachi 911: ACN: 361-400 (anwenderdefinierte Methode)
 Hitachi 917: ACN/BCN: 901-905 (anwenderdefinierte Methode)
 Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

Anwendungszweck:

Immunologischer Trübungstest zur quantitativen in vitro Bestimmung von Anti-Streptolysin O in Humanserum und -plasma mit klinisch-chemischen Analyseautomaten

Zusammenfassung:

Die immunologische Bestimmung von spezifischen Antikörpern gegen Stoffwechselprodukte von Streptokokken liefert wichtige Informationen über vorausgegangene Streptokokkeninfektionen. Die Antikörper bilden sich gegen die Krankheitserreger sowie gegen seine Stoffwechselprodukte. Ein Beispiel ist der Antikörper gegen Streptolysin O, ein Enzym, das von β-hämolisierenden Streptokokken der Lancefield-Gruppe A produziert wird. Die Bestimmung von Anti-Streptolysin O wird bei den toxischen und sensibilisierenden Folgeerkrankungen wie akutes rheumatisches Fieber (Hauptsymptome Carditis, Polyarthrit, Chorea minor, subkutane Knoten, Erythema anulare) und wie die poststreptokokkale akute Glomerulonephritis durchgeführt.
 Zur Bestimmung von Anti-Streptolysin stehen verschiedene Methoden wie die Latex-Agglutination und die Hämolysehemmungsreaktion zur Verfügung. Der vorliegende ASLO Test basiert auf dem Prinzip des immunologischen Agglutinationstests mit Reaktionsverstärkung durch Latex Partikel.

Testprinzip:

Immunologischer Trübungstest
 • Probe und Zugabe von R1 (Puffer)
 • Zugabe von R2 (Streptolysin O-Latex/Puffer) und Start der Reaktion
 An Latex gebundenes Streptolysin O reagiert mit dem Antikörper aus der Probe unter Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes, der nach Agglutination turbidimetrisch gemessen wird.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:
 TRIS Puffer* pH 8,2 170 mmol/l
R2:
 Borat Puffer* pH 8,2 10 mmol/l
 Latexpartikel, beladen mit Streptolysin O 1.7 g/l
 *TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethan-hydrochlorid

Lagerung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig.
 R2: Inhalt ist gebrauchsfertig. **Vor erstmaliger Verwendung sowie einmal wöchentlich gut durchmischen.**
 Bei +2°C bis +8°C sind die Reagenzien bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.
 Onboard Stabilität bei +2°C bis +8°C: R1: 90 Tage
 R2: 90 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen
 Heparin- und EDTA-Plasma
 Haltbarkeit: 2 Tage bei +20°C bis +25°C
 2 Tage bei +4°C bis +8°C
 6 Monate bei -20°C
 Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.
 Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit. Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung ±10% vom Ausgangswert.
 Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 26 (ca. 26mg/dl konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).
 Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 1000 (ca. 1000IU/dl Hämoglobin).
 Lipämie: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 1000 (ca. 2000mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.
 Rheumafaktoren < 180 IU/l stören nicht.
 Bei Antistreptolysin O-Konzentrationen über 4000 IU/ml kann der High-Dose-Hook-Effekt auftreten. Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den

Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben
- zusätzlich benötigte Materialien
- Kalibrations- und Kontrollmaterialien wie nachfolgend beschrieben
- NaCl-Lösung (0.9%)

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge: 570 nm
 Temperatur: +37°C
 Schichtdicke: 1 cm
 Messung: gegen Reagenzienleerwert (RLW)

	RLW	Probe/ Kalibrator
Probe/ Kalibrator	---	15 µl
R1	500 µl	500 µl

Mischen, 5 Min. inkubieren. Dann dazugeben:

R2 850 µl 850 µl

Mischen, nach 30 Sec. Extinktion E₁ ablesen.
 5 min. inkubieren und Extinktion E₂ ablesen.

Berechnung:

$$\Delta E = [(E_2 - E_1) \text{ Probe oder Kalibrator}] - [(E_2 - E_1) \text{ Leerwert}]$$

Die Konzentration von ASO in Patientenseren sollte aus dem ΔE der Probe mit Hilfe eines mathematischen Modells wie logit/log berechnet oder aus einer Kalibrationskurve abgelesen werden, beruhend auf den Messergebnissen von 6 Standards für einen Kalibrationsbereich von 0 bis 560 IU/ml ASL-O. Für den Nullpunkt wird die Verwendung einer NaCl-Lösung (0,9%) empfohlen.

Messbereich:

20 - 600 IU/ml
 Bei höheren Konzentrationen werden die Proben manuell mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) verdünnt (z.B. 1 + 4). Das Ergebnis ist mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor zu multiplizieren (z.B. Faktor 5).

Referenzbereich:

Erwachsene: bis 200 IU/ml
 Kinder: bis 150 IU/ml

Jedes Labor sollte die Überprüfbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die Streptolysin O-Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

Nachweisgrenze: 20 IU/ml
 Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Anti-Streptolysin O-Konzentration, die von Null unterschieden werden kann. Sie wird aus drei Standardabweichungen von 21 Proben des niedrigsten Standards berechnet.

Imprecision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Humanproben und Kontrollen gemäß einem internen Protokoll (n = 21) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW IU/ml	SD IU/ml	VK %
Humanserum	126	1,6	1,3
Protein Kontrolle 1	150	1,7	1,1
Protein Kontrolle 2	258	2,6	1,0

Probe	Tag / Tag		
	MW IU/ml	SD IU/ml	VK %
Humanserum	147	5,0	3,4
Protein Kontrolle 1	180	4,6	2,5
Protein Kontrolle 2	310	6,6	2,1

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon ASL O (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten:
 $y = 1.07 x + 2.01$; $r = 0.992$

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum:

Protein Control Level 1	3 x 1 ml	#7661
Protein Control Level 2	3 x 1 ml	#7662
Contronorm® ARC	2 x 1 ml	#7562
Contropath® ARC	2 x 1 ml	#7561

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

Standardisierung: Die Methode wurde am internationalen Standard für ASL O, definiert durch die WHO, abgeglichen.

S1-S5: Bio Cal® ASL 5 x 1 ml #14150

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Kalibration wird empfohlen:

- Bei Chargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

1. Alouf JE. Streptococcal toxins (streptolysin O, streptolysin S, erythrotoxic toxin). *Pharmac Ther* 1980;11:661
2. Bach GL, Cadotte R, Wiatr RA et al. Latex antistreptolysin O test as a tube dilution procedure. *Am J Clin Pathol* 1972;57:209
3. Berrios X, Quesney F, Morales A et al. Acute rheumatic fever and poststreptococcal glomerulonephritis in an open population: Comparative studies of epidemiology and bacteriology. *J Lab Clin Med* 1986;108:535.
4. Borque L, Rus A, Dubios H et al. Automated Determination of Streptolysin O Antibodies by a Turbidimetric Latex Immunoassay Method. *Journal of Clinical Immunoassay* 1992;15:182-186
5. Glinck MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-474
6. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Broschüre in: *Samples: From the Patient to the Laboratory*. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
7. Yoshimoto M, Hosoi S, Fuyisawa S et al. High levels of antibodies of streptococcal cell membrane antigens specifically bound to monoclonal antibodies in acute poststreptococcal glomerulonephritis. *J Clin Microbiol* 1987;25:680
8. Peter G, Smith AL. Group A streptococcal infections of the skin and pharynx. *N Engl J Med* 1977;297:311
9. Ricci A, Berti B, Moauro C et al. New hemolytic method for determination of antistreptolysin O in whole blood. *J Clin Microbiol* 1978;8:263
10. Tadzynski LA, Ryan ME. Diagnosis of rheumatic fever. A guide to criteria and manifestations. *Postgrad Med* 1986;79:295
11. Thomas L (Hrsg.). *Labor und Diagnose*, 4. Auflage. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft, 1992:1528