



Estreptolisina-O IVD

Desecada y estandarizada para la determinación de anticuerpos Antiestreptolisina-O en suero humano.

INTRODUCCIÓN

El estreptococo beta hemolítico grupo A sigue siendo un importante agente causal de la enfermedad estreptocócica en humanos.

Varios componentes antigénicos estimulan la producción de anticuerpos en los pacientes infectados.

La estreptolisina-O es una hemolisina extracelular, capaz en su forma reducida, de hemolizar eritrocitos. La hemolisina se libera a los tejidos durante la infección, provocando la formación de anticuerpos capaces de bloquear su efecto hemolítico.

Esta prueba es de gran utilidad en el diagnóstico de la fiebre reumática aguda y la glomerulonefritis aguda.

USO AL QUE ESTÁ DESTINADO

Para la determinación de anticuerpos antiestreptolisina-O en suero humano.

FUNDAMENTO

Los anticuerpos presentes en el suero del presunto enfermo, neutralizan la estreptolisina-O reducida, inhibiendo su actividad hemolítica. El nivel de anticuerpos se determina por diluciones del suero del paciente frente a cantidades constantes de estreptolisina-O. Se emplea como indicador una suspensión de eritrocitos humanos, determinándose el título según la dilución mayor donde esté inhibida la hemólisis.

ELEMENTOS DEL SISTEMA

Provisto

- **Estreptolisina-O:** Preparada de acuerdo a Rantz y Randall, desecada en su forma oxidada y estandarizada.
- **Solución Buffer-Reductor concentrada:** Su composición, una vez reconstituida es la siguiente: cloruro de sodio 70 mol/l; fosfato monopotásico 15 mol/l; Fosfato disódico 12 mol/l; sulfito de sodio 65 mol/l; pH 6,5-6,8 (25°C). Esta solución debe reconstituirse antes de usar.

No provisto

- Agua destilada.
- Eritrocitos frescos humanos.

Estreptolisina-O

Disolver con el volumen de buffer reductor indicado en el rótulo. Una vez disuelto dejar reposar 10 minutos a temperatura ambiente, antes de utilizar. Sólo se debe utilizar buffer reductor de estreptolisina-O (provisto), pues si utiliza otro buffer de estreptolisina que no sea reductor, no se producirá la reacción hemolítica.

Solución Buffer-Reductor Concentrada

Antes de usar, diluir con agua destilada con el volumen que indica la etiqueta. A bajas temperaturas, este buffer concentrado puede cristalizar. Si esto sucede, coloque el envase durante algunos minutos en baño de agua a 37°C, mezclando por inversión hasta dilución total.

MATERIAL REQUERIDO

No provisto

- Tubos de hemólisis.
- Material volumétrico apropiado.
- Centrífuga.
- Baño María.
- Gradilla.

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Los reactivos provistos son estables hasta la fecha de vencimiento indicado en el envase, mantenidos refrigerados entre 2-10°C.

Estreptolisina-O: una vez reconstituida es estable por 1 hora a temperatura ambiente, 2 días entre 2-10°C o un mes congelada a

-20°C. Si se congela es conveniente fraccionar el volumen a utilizar para evitar el congelamiento y descongelamiento, lo que provoca su deterioro.

Buffer Reductor: una vez diluido Esta solución es estable durante 1 año conservada entre 15-30°C o 2 años conservada entre 2-10°C.

MUESTRA

Utilizar sangre o plasma extraído con anticoagulante para hematología. No utilizar anticoagulantes conteniendo fluoruros.

La hemólisis ligera no interfiere en los resultados. Si la determinación no se realiza en el día, la muestra podrá conservarse 72 hs mantenida entre 2-10°C o una semana mantenida entre -20° y 0°C.

PROCEDIMIENTO

Suspensión de Eritrocitos. Se deberán emplear eritrocitos humanos obtenidos de sangre extraída con anticoagulantes para hematología. No deberán emplearse anticoagulantes que contengan fluoruro. Se podrán emplear también los restos de sangre que haya sido empleada para pruebas de eritrosedimentación.

Los glóbulos rojos deberán lavarse con solución buffer reductor, para lo cual se suspenderán en un volumen cinco veces mayor de solución buffer reductor y se centrifugará durante cinco minutos descartando el sobrenadante. Esta operación deberá repetirse hasta que no se observen restos de hemólisis en el sobrenadante (generalmente 3 o 4 veces). Luego con el sedimento de eritrocitos se prepara una suspensión 5% v/v en solución buffer reductor, que se empleará como indicador de la reacción.

Realizar 3 diluciones de la muestra a utilizar, de acuerdo a:

	Dilución 1/10	Dilución 1/100	Dilución 1/500
Muestra	500 µl	100 µl	20 µl
Solución buffer diluida	4,50 ml	9,90 ml	9,98 ml

En una gradilla colocar 11 tubos de hemólisis numerados y agregar:

Tubo Nº	Dil. 1/10	Dil. 1/100	Dil. 1/500	Buffer diluido	Título U.I
1	0.1 ml	-	-	0.4 ml	50
2	-	0.5 ml	-	-	100
3	-	0.4 ml	-	0.1 ml	125
4	-	0.3 ml	-	0.2 ml	166
5	-	0.2 ml	-	0.3 ml	250
6	-	0.15 ml	-	0.35 ml	333
7	-	-	0.5 ml	-	500
8	-	-	0.4 ml	0.1 ml	625
9	-	-	0.3 ml	0.2 ml	833
10	-	-	0.2 ml	0.3 ml	1250
11	-	-	0.1 ml	0.4 ml	2500

Agregar a cada tubo 0.25 ml. de solución de estreptolisina-O, agitar para homogeneizar el contenido, colocar 15 minutos en Baño María a 37°C. Agregar luego 0.25 ml. de suspensión de eritrocitos a cada tubo, agitar para homogeneizar colocar 30 minutos en Baño María a 37°C. Retirar los tubos y centrifugar durante 2 a 3 minutos.

EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados de la prueba de inhibición de hemólisis se expresan en unidades internacionales por mililitro (UI/ml). El título se determina por el último tubo donde ha habido inhibición de hemólisis. Los títulos correspondientes a cada tubo se indican en la columna de la derecha de la tabla anterior.

Ejemplo: Si el primer tubo que presentare hemólisis fuese el Nº 5, el título a informar como resultado será 166 UI/ml.

VALORES DE REFERENCIA

Hasta 200 UI/ml.



CONTROL DE CALIDAD

Dado lo difícil de contar con sueros patrones, se puede controlar la capacidad hemolítica de la estreptolisina-O y la suspensión de eritrocitos.

Para controlar la capacidad hemolítica se pueden emplear los distintos componentes de la reacción sin suero, colocar en un tubo 0,5 ml. de la solución de buffer y continuar el ensayo como se ha descrito. El tubo considerado debe presentar una hemólisis franca.

Para controlar la suspensión de eritrocitos se podrá emplear el modelo de un tubo cualquiera, por ejemplo el tubo N° 1, sin agregar la solución de estreptolisina-O. El tubo considerado, no deberá presentar hemólisis alguna.

LIMITACIONES Y CUIDADOS

- **Empleo de inhibidores enzimáticos:** Los agentes inhibidores enzimáticos que se emplean en las soluciones anticoagulantes, fluoruros, pueden alterar los resultados de la prueba, por lo que recomendamos abstenerse del empleo de anticoagulantes que los contengan.
- **pH de la solución buffer:** Se deberá controlar periódicamente para asegurar que no esté a un pH inferior a 6,5 (25°C), de ocurrir, deberá ajustarse al valor indicado antes de emplear.
- **Eritrocitos en malas condiciones:** La preparación de una suspensión de eritrocitos que tengan vestigios de hemólisis puede confundir la interpretación final de los resultados.

- **Solución de estreptolisina-O mal empleada:** Se deberán respetar los tiempos para el empleo de la solución antigénica. Se dejará pasar 10 minutos desde que se prepara y menos de una hora para ser utilizada.
- **Rastros de detergentes:** Tanto los recipientes en los que se recoge la sangre, como el material volumétrico empleado para las mediciones debe ser correctamente enjuagado, pues los vestigios de detergentes pueden inhibir la actividad hemolítica de la lisina.
- **Buffer-reductor:** Se deberá utilizar sólo buffer reductor para estreptolisina-O, en caso contrario no habrá reacción hemolítica. Utilice el buffer reductor provisto con el equipo.

BIBLIOGRAFÍA

- Rantz, L.A; Discarpio, J.M.;(1952 = Am. J. Med. Sc. 224;)

PRESENTACIÓN

Envase de 6 determinaciones

COD A02110

Producto elaborado por Laboratorios W. Brizuela S.A.

Falucho 59 (X5002HMA) - Córdoba, Argentina.

info@brizuela-lab.com.ar

Producto autorizado por ANMAT Disp. N° 6501.

Director Técnico: Bioq. Marcelo Brizuela.