



Coffret anti-Streptolysine O Optilite®

Pour un usage en diagnostic *in vitro*

Référence produit: LK189.OPT

Produits fabriqués par:
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
www.bindingsite.co.uk

Distribué en France par la société:
The Binding Site France, 14 rue des Glairaux, CS 30026, 38522 Saint Egrève Cedex
Téléphone: 04.38.02.19.19
Fax: 04.38.02.19.20
E-mail: info@bindingsite.fr

Optilite est une marque enregistrée de The Binding Site Group Limited (Birmingham, RU) dans certains pays. D'autres noms de marques ou de produits peuvent être des marques enregistrées de leurs propriétaires respectifs.



1 INDICATIONS

Le coffret Anti-streptolysine O Optilite permet de quantifier *in vitro* les anti-streptolysine O dans le sérum sur l'automate Optilite de Binding Site. Ce test doit être utilisé en conjonction avec d'autres résultats de laboratoire et les informations cliniques.

2 RESUME ET EXPLICATIONS

Les streptocoques du groupe A β -hémolytiques produisent un certain nombre d'exotoxines qui peuvent agir comme des antigènes. L'une de ces exotoxines, la streptolysine-O, conduit à la production d'anticorps spécifiques chez les sujets infectés augmentant la concentration sérique en ASO. Ceci peut être utilisé pour établir le degré d'infection passée ou présente, par les streptocoques β -hémolytiques (réf. 1-7).

Le dosage des taux d'anti-streptolysine O dans le sérum apporte une aide dans le diagnostic des maladies causées par des infections à streptocoques incluant le rhumatisme articulaire aigu, la scarlatine, les glomérulonéphrites, l'amygdalite, les infections respiratoires des voies supérieures et les pyodermies (Réf. 1-7).

3 PRINCIPE

La détermination de la concentration d'un antigène soluble en turbidimétrie implique une réaction avec l'antisérum spécifique pour former des complexes insolubles. Lorsque la lumière traverse la suspension formée, une portion de lumière est transmise et focalisée sur une photodiode par un système de lentilles optiques. La quantité de lumière transmise est indirectement proportionnelle à la concentration en protéine spécifique de l'échantillon. Les concentrations sont automatiquement calculées à partir d'une courbe de calibration enregistrée dans l'automate.

4 REACTIFS

- 4.1 Réactif Latex:** Fourni sous forme liquide stable. Conservateurs : azide de sodium à 0,099%, acide E-amino-n-caproïque (EACA) à 0,1% et benzamidine à 0,01%, ProClin™ à 0,05%.
- 4.3 Calibrateur et Contrôles:** Sérums humain poolés et fournis sous forme liquide. Conservateurs : 0,099% d'azide de sodium, 0,1% d'EACA et 0,01% de benzamidine. La concentration donnée dans le certificat de contrôle de qualité est attribuable au 1^{er} Standard International pour les anti-streptolysine (97/662).
- 4.4 Tampon de réaction:** contenant de l'azide de sodium à 0,099% comme conservateur.

5 PRECAUTIONS

Tous les sérums humains fournis dans ce coffret ont été testés et trouvés négatifs pour l'antigène de surface de l'hépatite B (Ag HBs), pour les anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine (HIV1 et HIV2) et pour les anticorps anti-virus de l'hépatite C. Les tests utilisés ont soit été approuvés par la FDA (USA), soit acceptés pour un usage en diagnostic *in-vitro* par l'Union européenne (Directive 98/79/EC, Annexe II); cependant ces tests ne peuvent garantir l'absence d'agent infectieux. Des méthodes de manipulation et d'éliminations appropriées doivent être établies pour tout matériel potentiellement infectieux, incluant, entre autres, le port de vêtements et d'équipement de protection en permanence par les utilisateurs. Seul un personnel complètement formé à de telles méthodes doit être autorisé à réaliser ces procédures.

AVERTISSEMENT: Ce produit contient de l'azide de sodium et doit être manipulé avec précaution; des gants et d'autres vêtements de protection appropriés doivent être portés en permanence lors de la manipulation de ce produit. Ne pas ingérer ou mettre en contact avec la peau (spécialement sur les plaies ouvertes) ou les muqueuses. En cas de contact,

laver abondamment avec de l'eau et demander en urgence un avis médical. Des azides de métaux explosifs peuvent se former par contact prolongé entre l'azide de sodium et les tuyauteries en plomb et en cuivre; pour éliminer les réactifs, rincer avec un grand volume d'eau afin d'éviter la formation des azides de métaux.

Ce produit ne doit être utilisé que par du personnel formé à l'utilisation stipulée dans le paragraphe Indications. Le suivi strict de ces instructions est essentiel. Les résultats seront considérés comme invalides si d'autres paramètres que ceux mentionnés dans les instructions sont utilisés.

Les réactifs de coffrets de numéros de lots différents NE SONT PAS interchangeables.

6 STOCKAGE ET STABILITE

Le coffret non ouvert doit être stocké à 2-8°C et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret. NE PAS CONGELER. Le réactif, le calibrateur et les contrôles peuvent être stockés jusqu'à 3 mois après ouverture à condition que les flacons soient rebouchés afin d'éviter toute évaporation et conservés à 2-8°C au réfrigérateur. Le Réactif peut être stocké ouvert sur l'automate Optilite jusqu'à 30 jours à condition que l'automate soit sous tension.

7 PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons doivent être collectés par ponction veineuse. Laisser coaguler le sang naturellement et séparer le sérum dès que possible afin d'éviter l'hémolyse. Les sérums peuvent être stockés à 20-25°C pendant 2 jours ou à 4-8°C jusqu'à 8 jours ou encore peuvent être aliquotés et congelés à -20°C ou à une température inférieure pour un stockage prolongé (Réf 8). Les cycles répétés de congélation/décongélation doivent être évités. Les échantillons contaminés par des microbes, hémolysés, lipémiques ou contenant des particules de matière ne doivent pas être utilisés. Il est de la responsabilité du laboratoire d'utiliser toutes les références disponibles et/ou ses propres études pour déterminer les critères spécifiques de stabilité pour son laboratoire (Réf 9).

8 METHODOLOGIE

8.1 Matériel fourni

- 8.1.1 1 x 100 Tests Optilite ASO Reagent (Réactif ASO Optilite)
8.1.2 1 x 2,0mL Optilite ASO Calibrator (calibrateur ASO Optilite)
8.1.3 1 x 1,5mL Optilite ASO High Control (contrôle haut ASO Optilite)
8.1.4 1 x 1,5mL Optilite ASO Low Control (contrôle bas ASO Optilite)

8.2 Matériel requis mais non fourni

- 8.2.1 Equipement pour la collecte et la préparation des échantillons, ex : tubes échantillons, centrifugeuse etc.
8.2.2 Un automate Optilite entièrement opérationnel et équipé
8.2.3 Instructions opératoires de l'automate: Manuel opératoire Optilite, Référence fiche technique INS700.OPT
8.2.4 Diluant 1 Optilite, Référence produit IK709

8.3 Préparation des réactifs

Avant le chargement, mélanger doucement par inversion en s'assurant de ne pas générer de mousse ou de bulle qui resterait à la surface et qui pourrait interférer avec l'aspiration des réactifs.

8.4 Procédure de test

L'utilisateur doit être familiarisé avec les opérations sur l'automate Optilite avant de réaliser les procédures de tests. L'automate doit être préparé en suivant les instructions du manuel opératoire Optilite.

- 8.4.1 Les paramètres de ce test sont fournis sur les codes à barres du certificat de contrôle de qualité (QCcert189.OPT). Scanner le code à barre 1 et le code à barre 2 pour charger les paramètres.

8.5 Gamme de mesure

La gamme de mesure approximative du test est présentée dans le tableau ci-dessous.

Dilution de l'automate Optilite	Gamme approximative (IU/mL)
1+0	5 - 80
1+9	50 - 800
1+19	100 - 1600

9 CONTROLE DE QUALITE

Au moins deux niveaux de matériel de contrôle approprié doivent être testés au minimum une fois par jour. De plus, les contrôles doivent être testés après calibration, à chaque changement lot de réactif et après une maintenance spécifique ou des problèmes mentionnés dans le manuel opératoire Optilite.

Les tests de contrôle de qualité doivent être réalisés en accord avec les dispositions réglementaires et les procédures standardisées de chaque laboratoire.

Les concentrations des contrôles fournis sont indiquées sur le certificat de contrôle de qualité (QCcert189.OPT). Les résultats obtenus pour les échantillons ne doivent être validés que si les résultats des contrôles sont compris dans l'intervalle de la concentration cible $\pm 15\%$.

Si un contrôle obtenu à partir d'une courbe de calibration en mémoire est en dehors des valeurs attendues, le test doit être recalibré à nouveau. Si après re-calibration, les valeurs des contrôles obtenues à partir de la nouvelle courbe de calibration sont encore en dehors des valeurs attendues, l'automate et les paramètres du test doivent être vérifiés avant de répéter les tests. Si un problème persiste, veuillez contacter le support technique local.

10 LIMITES

- 10.1 Les tests turbidimétriques ne peuvent pas être utilisés avec des échantillons hautement lipidiques, hémolysés ou contenant des taux élevés de complexes immuns circulants (CICs), du fait du degré imprévisible de déviation de lumière non spécifique que de tels échantillons peuvent générer. Des résultats inattendus doivent être confirmés en utilisant une autre méthode.
- 10.2 Un diagnostic ne peut pas être fait et un traitement ne peut pas être donné uniquement sur la base des mesures de anti-Streptolysine O. L'historique clinique du patient ainsi que d'autres analyses doivent être pris en considération.

- 10.3 Ce test n'a pas été validé pour les échantillons pédiatriques.
 10.4 Les variations de température du réactif peuvent altérer les résultats. S'assurer que les réactifs sont transférés directement du réfrigérateur au compartiment réfrigéré de l'automate – Ne pas laisser à température ambiante.

11 VALEURS ATTENDUES

Les valeurs attendues peuvent varier en fonction de l'âge, du sexe, du type d'échantillon, du régime alimentaire et de la situation géographique. Chaque laboratoire doit vérifier la transférabilité des valeurs attendues à sa population et, si nécessaire, déterminer ses propres valeurs de référence.

Gamme sérique adulte

La gamme de référence des anti-streptolysine O sériques dans la littérature est : <200 IU/mL (Ref. 10).

12 PERFORMANCES

12.1 Précision

L'étude de précision a été réalisée selon les recommandations du guide CLSI EP5-A2 *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods*. L'étude a été réalisée sur 21 jours ouvrés, avec 2 séries par jour. Un utilisateur a évalué 5 échantillons différents, en utilisant 1 de lot de réactif sur 3 automates.

Résumé de l'étude de précision									
	Moyenne (IU/L)	Intra-essai		Inter-essais		Inter-jours		Total	
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Niveau 1	79,30	4,15	5,2	0,00	0,0	1,92	2,4	4,57	5,8
Niveau 2	146,11	5,07	3,5	1,58	1,1	3,90	2,7	6,59	4,5
Niveau 3	238,79	4,67	2,0	2,73	1,1	7,54	3,2	9,29	3,9
Niveau 4	440,19	8,65	2,0	4,77	1,1	13,10	3,0	16,40	3,7
Niveau 5	737,99	15,66	2,1	13,88	1,9	26,41	3,6	33,70	4,6

12.2 Comparaison

Une étude de comparaison a été réalisée en analysant 121 échantillons (75 normaux et 46 pathologique) en utilisant le coffret anti-Streptolysine O Optilite et un autre test commercialement disponible. L'analyse de régression Passing Bablok a généré les résultats suivants :

$$y = 0,96x + 0,92 \text{ IU/mL} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{predicate analyser})$$

coefficient de corrélation $r = 0,996$ (calculé par régression linéaire)

12.3 Limite de quantification

La limite de quantification (LdQ) pour ce test est définie comme la valeur basse de la gamme de mesure, 5,0 IU/mL. L'étude de validation de la LdQ a été réalisée selon les recommandations du guide CLSI EP17-A *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation*.

12.4 Linéarité

L'étude de linéarité a été réalisée selon les recommandations du guide CLSI EP6-A *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures*. La linéarité a été montrée sur la gamme de l'analyte allant de 30,806 – 902,442 IU/mL en utilisant la dilution échantillon 1+9.

Equation de régression: $y = 0,981x - 16,218$ (y = concentration mesurée, x = concentration théorique) ; $r^2 = 0,997$.

12.5 Interférence

Une étude a été réalisée selon le CLSI EP7-A2: tests d'interférences en chimie clinique, Directives Officielles (document CLSI EP7-A2). Un échantillon sérique normal, un échantillon sérique proches du seuil pathologique ainsi qu'un échantillon sérique anormal ont été testés. Aucune interférence significative n'a été observée en présence de bilirubine (200mg/L) ou d'hémoglobine (5 g/L). L'intralipide et les triglycérides ont présentés des signes d'interférence, de plus les échantillons lipidiques sont reconnus pour interférer avec ce test. Par conséquent, les échantillons lipidiques ne doivent pas être analysés avec ce coffret (cf. paragraphe 10.1 pour plus de détails).

12.6 Excès d'antigène

Aucun excès d'antigène n'a été observé jusqu'à un niveau équivalent à 2 fois la valeur du point haut de la courbe de calibration à la dilution standard échantillon 1+9, soit 1600 IU/mL.

13 BIBLIOGRAPHIE

- Klein, G.C. et al (1971). "Upper Limits of Normal" Antistreptolysin O and Antideoxyribonuclease B Titres. Appl. Micro., June, 999-1001.
- Gray, G.E. et al (1993). Interpreting a Single Antistreptolysin O Test: A Comparison of the "Upper Limit of Normal" and Likelihood Ratio Methods. J. Clin. Epidemiol, 46, (10), 1181-1185.
- Kaplan, E.L. et al (1971). Diagnosis of Streptococcal Pharyngitis: Differentiation of Active Infection from the Carrier State in the Symptomatic Child. J. Infect. Dis., 123, (5), 490-501.
- Dillon, K.C. and Avery Reeves, S. (1974). Streptococcal Immune Responses in Nephritis after Skin Infection. Am. J. Med., 56, 333-346.
- Pacifico, L. et al (1995). Comparison of Nephelometric and Haemolytic Techniques for Determination of Antistreptolysin O Antibodies. Am. J. Clin. Pathol., 103 (4), 396-399.
- Wannamaker L.W., (1972). Perplexity and Precision in the Diagnosis of Streptococcal Pharyngitis. Am. J. Dis. Child. 124 352-358.
- Kaplan, E.L. et al (1970). The Influence of the Site of Infection on the Immune Response to Group A Streptococci. Clin. Invest. 49, 1405-1414.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 2002.
- CLSI GP44-A4, Vol. 30 No.10, 5.5.1.1.1, May 2010, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline".
- Thomas L. Bakterielle Infektionen. In: Thomas L, ed. Labor und Diagnose. 4th ed. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft; 1992: 1492-1530.