

*Para uso Profesional de Diagnóstico.*

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Todd describió en 1938, una prueba para medir la respuesta de anticuerpos a las infecciones de estreptococos Grupo A. El grupo A, estreptococo hemolítico produce una exotoxina, Estreptolisina-O, que tiene la capacidad de bemozar las células rojas sanguíneas de diferentes especies. La técnica de Todd fue más tarde modificada por Rantz y Randall. Muchas ramas de estreptococos producen tanto toxinas como sustancias antígenas a las cuales el paciente infectado responde produciendo anticuerpos. Las toxinas son denominadas estreptolisinas porque son un subproducto de estreptococci y células rojas sanguíneas. Más tarde Todd diferenció las estreptolisinas en dos familias serológicamente identificables:

*Estreptolisina O* y *Estreptolisina S*. La *Estreptolisina O* tiene actividad antigénica que resulta en la producción de anticuerpos conocidos como las *Antiestreptolisina-O*. La medición del nivel de *Antiestreptolisina-O* tiene que responder a un importante procedimiento de diagnóstico en infecciones estreptococales incluyendo la fiebre reumática y la glomerulonefritis.

La infección con estreptococos Grupo A sensibiliza al paciente a *Estreptolisina-O*, provocando un correspondiente anticuerpo, *Antiestreptolisina-O*.

El método más utilizado para determinar la concentración de anticuerpos de *Estreptolisina -O* es el llevar a cabo una prueba de inhibición hemolítica. La hemólisis de células rojas por *Estreptolisina-O* puede ser inhibida por este anticuerpo. La medición de los niveles de suero de *antiestreptolisina-O* se denomina **DILUCIÓN DE ANTIESTREPTOLISINA-O**. Para la determinación de esta dilución, una cantidad constante de *Estreptolisina* es agregada a cantidades decrecientes de suero. Si la *antiestreptolisina* presente es suficiente para neutralizar el antígeno, no ocurre hemólisis cuando posteriormente se agregan las células rojas.

Sin embargo, se ha demostrado que la reacción antígeno-anticuerpo es independiente de que la *estreptolisina O* esté en la fase de reducción o de oxidación. Esta propiedad ha permitido el desarrollo de una prueba de aglutinación en placa para la determinación cualitativa y semicuantitativa de *Antiestreptolisina-O* en el suero de pacientes con infecciones de estreptococo Grupo A. *Bio-Aestrepto* es un reactivo de látex de poliestireno cubierto con *estreptolisina-O*. Ante la presencia de anticuerpos homólogos, las partículas de látex cubiertas se aglutinarán para generar patrones característicos que pueden ser observados después de tres minutos. La reacción en la placa es comparada con una prueba con control positivo y negativo incluido.

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El principio de la prueba es la reacción inmunológica entre *Aestreptolisina* como antígeno y el anticuerpo correspondiente cubierto en una superficie de partículas de látex biológicamente inertes.

## MATERIALES SUMINISTRADOS

- 2.5 ml solución de reactivo de látex.
- 0.5 ml Control Positivo.
- 0.5 ml Control Negativo, suero no reactivo.
- Instructivo.

## MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Solución salina (cloruro de sodio al 0.85%).
- Fuente de luz intensa o fluorescente.
- Tubos para dilución.

## ALMACENAMIENTO

No congelar. Mantener a temperaturas de entre 2°C – 8°C.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- La fuente de donde se obtuvo el suero control positivo y negativo se encontró NO reactivo a Hepatitis B y VIH al ser evaluado. Sin embargo, no existe un método para asegurar que productos derivados de sangre humana no son transmisores de agentes infecciosos. **UTILICE LOS PRODUCTOS COMO POTENCIALMENTE BIOPELIGROSOS.**
- Para uso de diagnóstico In Vitro.
- No mezcle componentes de diferentes equipos o fabricantes.
- Evite el intercambio de tapas de productos.
- Los reactivos de este equipo contienen Acido de Sodio como preservativo, el cual está catalogado como peligroso. Enjuague copiosamente con agua las placas después de su uso.
- Evite contaminaciones usando puntas de pipetas nuevas.
- No utilice productos después de la fecha de expiración.

## PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

### MÉTODO CUALITATIVO

- Permita que los reactivos estén a temperatura ambiente.
- Inserte la pipeta desechable a la muestra de suero a evaluar y presionando obtenga un poco de muestra.
- Tome la pipeta perpendicularmente sobre el círculo negro y deposite una gota de suero (0.05 ml de suero).
- Agite el suero *Bio-Estrepto*. Abra el gotero y deposite una gota de látex sobre la muestra del paciente.
- Utilizando el otro extremo de la pipeta, mezcle la muestra y el suero esparciéndolos dentro de todo el círculo.
- Agite la placa por tres minutos. Observe si hay aglutinación mientras detiene la placa bajo la lámpara con luz intensa o fluorescente.

## RESULTADOS

### POSITIVO:

Aglutinación después de tres minutos es indicativo que hay un contenido de *antiestreptolisina-O* en el suero igual o mayor a 200 IU/ml.

### NEGATIVO:

Una suspensión homogénea de la mezcla de la muestra con el antígeno sin aglutinaciones es indicativo de reacción negativa.

### MÉTODO SEMICUANTITATIVO

- Permita que reactivos y controles estén a temperatura ambiente.
- Diluya el suero del paciente en solución isotónica salina (0.85% cloruro de sodio):

Tubo	Suero	Salina	Dilución	IU/ml
1	0.5	0	1:1	200
2	0.5	0.5	1:2	400
3	0.5 del 2	0.5	1:4	800
4	0.5 del 3	0.5	1:8	1,600
5	0.5 del 4	0.5	1:16	3,200
6	0.5 del 5	0.5	1:32	6,400

- 
3. Utilizando una pipeta desechable tal y como se indica en el método cualitativo, agregue una gota de suero diluido a cada círculo.
  4. Mezcle el reactivo y coloque una gota a cada dilución de suero.
  5. Mezcle haciendo una solución homogénea en el interior de cada círculo.
  6. Mezcle la placa por tres minutos. Observe la aglutinación con la ayuda de una luz intensa o fluorescente.

#### **INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

El círculo que muestre la más alta aglutinación es considerado como el punto de dilución.

#### **COMPORTAMIENTO Y DESARROLLO DE LA PRUEBA**

Los resultados encontrados con Bio-AEstrepto o con otros procedimientos serológicos no deben ser utilizados como único criterio de diagnóstico ante la presencia o ausencia de la enfermedad. La antiestreptolisina-O puede variar drásticamente entre individuos normales. Después de la infección estreptococal los niveles empiezan a incrementar en el lapso de dos semanas y llegan a su máximo en un plazo de 4 a 6 semanas. Se mantiene a esos niveles por un prolongado período y posteriormente decrece. Aún en casos sin fiebre reumática, pacientes que hayan tenido una infección estreptococal reciente pueden presentar niveles altos hasta en un 90% de los casos. La persistencia de dichos niveles (500 unidades o más) especialmente después de terapia con antibióticos, es considerada como evidencia de fiebre reumática.

#### **VALORES ESPERADOS**

Los valores normales de antiestreptolisina-O pueden variar con la edad, estación del año y área geográfica. El valor normal en niños y jóvenes es entre 166 y 250 IU/ml. Un promedio se ha establecido por debajo de los 200 IU/ml.

Diluciones por debajo de 200IU/ml pueden ser indicativas de infección estreptococal pero únicamente una segunda dilución entre la primera evaluación y una segunda en el proceso de convalecencia servirán para un mejor diagnóstico.

**Sensibilidad 200 IU/ml**

#### **REFERENCIAS**

1. Todd, W.W., J. Exp. Med., 55:267, 1932.
2. Rantz, L.A. and Randall, E., Porc. Soc. Exp. Bio and Med. 59:22, 1945.
3. Davidsohn, I., and Henery, J.B., Todd-Stanford Clinical Diagnosis by Laboratory methods, 14<sup>th</sup>. Ed. W.B.Saunders Co. Phila, 1969.
4. Freeman, S.O., Clinical Immunology, Harper and Row, New York, 1971.