

USAGE IN VITRO



REF	48011	6 x 3 doses (50 Tests)
REF	48028	10 x 3 doses (100 Tests)

PRINCIPE

Les streptocoques β hémolytiques des groupes A, C, G secrètent une enzyme: la streptolysine "O" présentant une activité hémolytique sous sa forme réduite. Cette streptolysine "O" provoque la formation dans l'organisme d'anticorps ASO révélés par une réaction de neutralisation de l'activité hémolytique de cette enzyme vis-à-vis de globules rouges de lapin.

COMPOSITION DES REACTIFS

- Lyophilisat de streptolysine
- Tampon streptolysine sous forme 10 fois concentré : Il est à diluer pour l'emploi : 1 partie de tampon pour 9 parties d'eau distillée, en cas de cristallisation, chauffer à 37°C pour remettre les cristaux en solution.

On utilise classiquement une suspension d'hématie de lapin à 1 % dans le tampon streptolysine 1x. Toutefois le titre élevé de la streptolysine utilisée permet d'obtenir des résultats identiques avec des hématies humaines du groupe O très soigneusement lavées : 3 lavages en eau physiologique. Le dernier culot est repris dans le tampon streptolysine 1x.

Reconstitution de la Streptolysine titrée : enfoncer une aiguille creuse à travers le bouchon de caoutchouc de manière à remplir d'air le flacon sans risquer de perdre une partie de lyophilisat. Décapsuler et déboucher le flacon pour y introduire exactement 8 ml de solution isotonique tamponnée. Reboucher et favoriser la mise en solution par une agitation modérée. La streptolysine est alors sous sa forme active.

PRECAUTIONS

Les réactifs Biomaghreb sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro (ne pas pipeter avec la bouche).

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biomaghreb.com;
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation ; et
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

MACROMETHODES ECHANTILLONS

- Les sérums à examiner ne doivent pas présenter d'hémolyse. Ils doivent être inactivés par chauffage à 56°C pendant 30 minutes (Dans le cas où l'on utilise des sérums inactivés depuis plus de 24 heures, il est recommandé de les placer à nouveau au bain-marie à 56°C pendant 10 minutes.

CONSERVATION

- **Lyophilisée** : notre streptolysine se conserve environ 3 ans à + 4° C.
- **Reconstituée**: elle doit être utilisée dans les 5 heures.

MODE OPERATOIRE (Voir Tableau 1)

Dilutions-mères :

Dans 2 tubes à hémolyse A et B, introduire 2 ml de solution isotonique tamponnée. Ajouter 0,5 ml de sérum à étudier dans le tube A (dilution réalisée 1/5). Mélanger et reporter 1 ml du tube A dans le tube B (dilution réalisée 1/15).

Préparation des dilutions de titrage des sérums à examiner.

Pour chaque sérum, préparer 2 séries de tubes numérotés 1-2-4-6-8-10 pour la dilution-mère A de sérum (au 1/5) et 3-5-7-9 pour la dilution-mère B de sérum (au 1/15) et deux tubes 11 et 12 pour les témoins hématies et streptolysine.

Procéder suivant le tableau 1 en progression géométrique. Répartir les volumes indiqués en ml.

Tableau 1 :

Les taux normaux obtenus sont inférieurs à 200 U.A.S. Un chiffre de 200 unités ou au-dessus doit être considéré comme pathologique.

Tubes n°	1	2	4	6	8	10	3	5	7	9	11	12
Dilutions	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/15	1/30	1/60	1/120		
Solution isotonique tampon		0,25	0,25	0,25	0,25	0,25		0,25	0,25	0,25	0,5	0,25
Dilution A (sérum 1/5)	0,25	0,25	0,25		0,25	0,25						
Dilution B (sérum 1/15)							0,25	0,25	0,25	0,25		
Strepto reconstituée	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25		0,25
Agiter et laisser 10 mn à la température du laboratoire												
Suspension d'hématies 1%	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Laisser 10 mn à la température du laboratoire puis 20 mn au B.M à 37°C, centrifuger 3 mn à 1500 tr/mn												
Taux d'Aslo en fonction du dernier tube non hémolysé	50	100	200	400	800	1600	150	300	600	1200	Pas de lyse	Hémolyse totale

MICROMETHODE

Préparer les dilutions des sérums à tester (Voir Tableau 2) :

- Dilution 1/5 : 0,1 ml de sérum + 0,4 ml de tampon
- Dilution 1/15 : 0,1 ml de sérum + 1,4 ml de tampon

Répartir sur microplaque (en ml)

Tableau 2 : MICROMETHODE

Les taux normaux obtenus sont inférieurs à 100 UAS. Un chiffre de 200 unités ou au dessus doit être considéré comme pathologique.

N° DES CUPULES	1 ^{ère} RANGÉE						2 ^{ème} RANGÉE					Témoins	
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	Hématie	Strepto
Dilution de serum	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/15	1/30	1/60	1/120	1/240		
Solution isotonique tamponnée		0,05	0,05	0,05	0,05	0,05		0,05	0,05	0,05	0,05	0,10	0,05
Dilution du serum 1/5	0,05	0,05											
Dilution du serum 1/15							0,05	0,05					
Mélange précédent		-->	0,05->	0,05->	0,05->	0,05->		-->	0,05->	0,05->	0,05->		
Streptolysine reconstituée	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05		0,05
Bien agiter et laisser 20 minutes à la température du laboratoire													
Suspension d'hématie à 1% Introduire de droite à gauche	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Laisser 10 minutes à la température du laboratoire puis 20 minutes à 37°C Centrifuger la plaque 2 minutes à 500 g ou laisser sédimenter à 18-25°													
Taux d'antistreptolysine du sérum étudié en fonction du dernier tube non hémolysé	50	100	200	400	800	1600	150	300	600	1200	2400		



Fabricant



Date de péremption



Usage "In vitro"



Température de conservation



Référence Produit



Consulter la notice



Conservation à l'abri de la lumière



Suffisant pour <n> essais



Numéro de lot