

TPHA-DAC

SIFILIS, HEMAGLUTINARE, ANTICORPI CĂTRE TREPONEMA PALIDĂ

Instrucțiunea de utilizare

Numărul de înregistrare: DM000302450-DM000302451

SF 15796482-001:2019

Numai pentru diagnosticare «in vitro»



A se păstra la 2-8°C

COMPONENȚA SETULUI

Denumirea și componența reagenților	Codul producției	
	1044T100	1044T200
TPHA-Test Reagent – suspensie de eritrocite învelite cu antigeni treponemă palidă, pH 7,2, azid de sodiu 0,95 g/l	7,5 ml	2x7,5 ml
TPHA-Control Reagent – suspensie de eritrocite, pH 7,2, azid de sodiu 0,95 g/l	7,5 ml	2x7,5 ml
Diluent Buffer – fosfați, soluție tampon, pH 7,2, azid de sodiu 0,95 g/l	2x10 ml	4x10 ml
TPHA-Positive Control – ser uman, diluat în raportul 1:20, azid de sodiu 0,95 g/l	0,25 ml	0,25 ml
TPHA-Negative Control – ser animalier, azid de sodiu 0,95 g/l	0,25 ml	0,25 ml

SCOP

Setul este destinat pentru determinarea calitativă și semicantitativă a anticorpilor, prezenți în ser sau în plasma pacienților bolnavi de sifilis.

PRINCIPIUL METODEI

Metoda este bazată pe reacția de hemaglutinare indirectă a eritrocitelor de pasăre, sensibilizate cu antigeni treponemă palidă.

În cazul, în care anticorpii treponemei palide sînt prezenți în probă, are loc aglutinarea cu formarea complexului «antigen – anticorp», precipitat macroscopic în formă de desen pe placa de microtitrare.

IMPORTANȚA CLINICĂ ȘI LIMITELE METODEI

Sifilisul este o boala venerică cauzată de *Treponema pallidum*. Transmiterea de *T. pallidum* are loc în mod direct pe cale sexuală. Perioada de incubație este de aproximativ 20 de zile; boala trece prin 3 etape diferite, cu diferite simptome. Anticorpii la *Treponema pallidum* apar în prima etapă și pot fi depozitate la 85-90% după tratament și convalescență.

PĂSTRAREA REAGENȚILOR

Reagenții sînt stabili la 2-8°C pînă la data indicată pe etichetă. Flacoanele cu reagenți se vor păstra în poziție verticală.

CONGELAREA ESTE INADMISIBILĂ!

CALIBRARE

Sensibilitatea reactivului este calibrat în conformitate cu primul Standard internațional pentru seruri sifilitice (OMS).

PROBE

Ser. Este stabil la 2-8°C - 7 zile, la minus 20°C - 3 luni.

Serul, diluat cu **Diluent Buffer** în raportul 1:20 sau 1:5, se va utiliza în aceeași zi.

ECHIPAMENT ADIȚIONAL

Dozatoare 10 μl, 25 μl, 75 μl și 190 μl.

Planșetă pentru titrarea serului cu godeuri în formă de U.

PRECAUȚII

Setul este destinat numai pentru diagnosticare **in vitro**.

Componentele de origine umană au fost testate și sa constatat a fi negative la prezența AgHBs, HCV, și anticorpi la HIV (1/2). Cu toate acestea ele se tratează cu prudență ca potențial infecțioase.

Serul de control și probele pacienților vor fi considerate ca material potențial contagios și se vor prelucra analogic celorlalte contagioase. Se vor respecta regulile de lucru cu material potențial contagios.

LIMITELE METODEI

Testul TPHA este de o specificitate înaltă, dar ca și alte teste serologice, nu diferențiază sifilisul de alte infecții patologice treponeme, (exemplu framboezia). Diagnosticul se va stabili în baza integrării datelor clinice și de laborator.

Anticorpii către sifilis sînt prezenți în organism și după tratarea infecției, de aceea rezultatul pozitiv indică prezența infecției la momentul sau în trecut.

Se recomandă de utilizat VDRL sau RPR pentru verificarea eficacității tratamentului.

Pentru confirmarea rezultatului se recomandă de utilizat testul FTA-Abs, care permite diferențierea anticorpilor clasa IgG de anticorpi clasa IgM.

Pacienții, care suferă de lepră, mononucleoză infecțioasă și lezarea țesutului conjunctiv pot prezenta rezultate fals pozitive.

NOTE

1. Flacoanele se vor păstra în poziție verticală. Păstrarea flaconelor în poziție orizontală poate provoca formarea clasterelor de celule. 2. Poluarea reagenților și/sau serurilor diluate provoacă reacții fals pozitive. Se recomandă de utilizat dozatoare sau vîrfuri de unică folosință.

2. Flacoanele cu **TPHA-Test Reagent** și **TPHA-Control Reagent** se vor agita bine înainte de utilizare.

3. Desenul de precipitare a eritrocitelor de control nu se va utiliza în calitate de mostră la cotearea rezultatelor negative, întrucît eritrocitele de control formează butoane mai dense decît eritrocitele în proba analizată.

4. Lama-slaid se va păstra la un loc protejat de vibrație, căldură și raze solare directe.

5. Serul care conține o cantitate mare de anticorpi poate prezenta un desen cu marginile ondulate ale peliculei.

CONTROLUL CALITĂȚII

Se recomandă verificarea regulată a Reagent cu control pozitiv și negativ.

METODA DE LUCRU

Toți reagenții se vor încălzi pînă la temperatura camerei (18-22°C). Se va agita gentil flaconul cu **TPHA-Test Reagent** și **TPHA-Control Reagent**.

Atenție! TPHA-Positive Control, care este inclus în set, este diluat în raport de 1:20 și este gata de utilizare, din acest motiv el nu ar trebui să fie diluat în timpul.

Varianta calitativă:

1. Pentru fiecare probă se va prepara **probe diluate**, diluând proba în raportul (1:20): în godeul № 1 se va pipeta 190 μl **Diluent Buffer** și 10 μl probă, se va amesteca:

2. Folosind un microdoser, amestecați bine conținutul orificiului № 1 și ternați câte 25 μl de **probă diluată (1:20)** în godeul № 2 și № 3.

3. Asigurați-vă, că **TPHA-Control Reagent** și **TPHA-Test Reagent** sunt bine amestecate, și adăugați în godeul № 2 - 75 μl **TPHA-Control Reagent** și în godeul № 3 - 75 μl **TPHA-Test Reagent**.

4. Amestecați conținutul godeurilor, lovind cu atenție toate cele 4 părți ale plăcii.

5. Placa se acoperă și se invubează la 18-22°C timp de 45-60 minute.

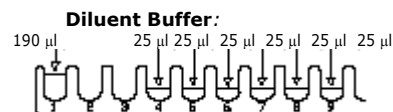
Atenție! Plasați placa departe de surse directe de căldură, lumina soarelui și vibrații (centrifuga, frigider ș.a.).

6. Estimați rezultatul. În timp ce placa este acoperită rezultatele sunt constante timp de 24 ore.

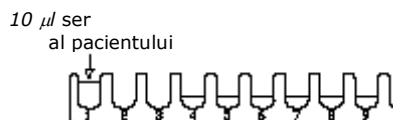
Versiunea semicantitativă:

1. Marcați pentru fiecare probă 9 orificii.

2. Pipetați în godeul № 1 - 190 μl **Diluent Buffer**, iar în godeul № 4-9 - câte 25 μl.



3. Pregătiți **proba diluată (1:20)**: în godeul № 1 completați cu 10 μl de ser al pacientului, și agitați bine:

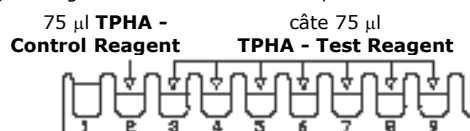


4. Plasați în godeurile № 2, 3 și 4 a câte 25 μl de **probă diluată (1:20)**, amestecați.

5. Pregătiți **diluțiile în serie**: mutați din godeul № 4 - 25 μl de **probă diluată** în godeul № 5, apoi din godeul № 5 - 25 μl în godeul № 6 și așa mai departe pînă la ultimul godeu № 9. Apoi din ultimul godeu eliminați 25 μl:



6. Asigurați-vă, că **TPHA-Control Reagent** și **TPHA-Test Reagent** sunt bine amestecate, și plasați în godeul № 2 - 75 μl **TPHA-Control Reagent**, iar în godeurile № 3-9 - câte 75 μl **TPHA-Test Reagent**:



1:80 1:80 1:160 1:320 1:640 1:1280 1:2560 1:5120

7. Se amestecă conținutul godeurilor, lovind cu atenție toate cele 4 părți ale plăcii.

8. Placa se acoperă și se invubează la 18-22°C timp de 45-60 minute. **Atenție!** Plasați placa departe de surse directe de căldură, lumina soarelui și vibrații (centrifuga, frigider ș.a.).

9. Estimați rezultatul. În timp ce placa este acoperită rezultatele sunt constante timp de 24 ore.

EVALUAREA REZULTATULUI

Se va examina vizual precipitatul de eritrocite de la baza godeului.

Se va compara desenul din godeurile cu proba de eritrocite și cel din godeul de control.

Rezultatul reacției se va nota ținând cont de următoarele criterii:

 **(3+) - Pozitiv** – peliculă de eritrocite în strat uniform acoperind parțial baza godeului.

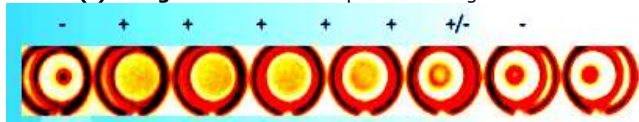
 **(2+) - Pozitiv** – peliculă de eritrocite în strat uniform, înconjurată de un cerc roșu.

 **(1+) - Pozitiv** – peliculă de eritrocite în strat uniform, acoperind o suprafață mai mică, înconjurată de un cerc roșu de dimensiuni mici.

 **(±) - Incert** – nasture de eritrocite cu centru clar conturat.

 **(-) - Negativă** – buton compact la baza godeului.

 **(-) - Negativă** – buton compact la baza godeului.



TPHA-Negative Control trebuie să prezinte un desen neaglutinat cu **TPHA-Control Reagent** și **TPHA-Test Reagent**.

TPHA-Positive Control trebuie să prezinte aglutinare cu **TPHA-Test Reagent**, și desen neaglutinat cu **TPHA-Control Reagent**.

Serul, care prezintă reacție pozitivă, se va testa repetat în corespundere cu **Varianța cantitativă**.

Titrul serului se va determina ca cea mai mare diluție cu rezultat pozitiv.

Aglutinarea, de orice nivel, prezintă în reacția cu **TPHA-Control Reagent**, indică la prezența anticorpilor nespecfici.

Serul, care prezintă un rezultat incert, se va testa repetat și se va cota ca rezultat negativ în cazul în care desenul va fi identic cu cel din prima determinare.

Orice aglutinare, observată cu TPHA-Control Reactiv, înseamnă prezența anticorpilor nespecfici și nu se evaluează. În acest caz, se recomandă de efectuat evaluarea prin alte metode, ca de exemplu FTA-Abs.

CARACTERISTICI

Sensibilitate analitică: 0,1 UI/ml, certificată de standardul internațional pentru sifilis NIBSC 05/132.

Efect de prozonă: la un titru de până la 1/163840 (notă 4) efect de prozonă nu este identificat

Sensibilitate diagnostică: 100 %

Specificitatea de diagnostic: 100 %

Interferențe:

Hemoglobină până la 10 g/l, bilirubină până la 20 mg/dl lipide până la 10 g/l nu influențează rezultatul. Se va ține cont de posibila interferență a substanțelor medicamentoase cât și a altor substanțe.

BIBLIOGRAFIE

1. Tomizawa T et al. Jap J Med Sci Biol 1969; 22:339-342.
2. Sequeira P J L et al. Brit J Vener Dis 1973; 49:242-249.
3. Rathiev T., Brit J., Vener Dis. 1967; 43:181-185.
4. Lesinski J., Krach J., & Kadziewicz J. Brit J Vener Dis 197

Simboluri marcate pe ambalajul consumatorului EN 15223-1:2012

IVD - destinat pentru diagnosticarea «in vitro»

REF - numărul de catalog al produsului

Lot - numărul seriei

 - data producerii

 - expiră la

 - numărul de teste

 - citiți instrucția înainte de utilizare

 - intervalul de temperatură al păstrării setului

 - denumirea producătorului setului

EC REP - reprezentant autorizat în UE: QARAD B.V., Flight Forum 40, 5657 DB, Eindhoven, The Netherlands