SYPHILIS TPHA

Kvalitativní a semikvantitativní stanovení protilátek proti Treponema pallidum pasivní hemaglutinací

PRINCIP TESTU

Protilátky proti Treponema pallidum, které jsou obsaženy v séru nebo plazmě, poskytují aglutinaci erytrocytů potažených antigeny Treponema pallidum.

VZORKY

Citrátové vzorky séra nebo plazmy by neměly obsahovat žádné krvinky. Stabilita 7 dnů při teplotě 2-8 °C. Při dlouhodobém skladování vzorků, by měly být tyto vzorky zamraženy při teplotě -20 °C. Zmražené vzorky by měly být těsně před testováním rozmraženy a dobře promíchány.

REAGENCIE

Testovací buňky

Kuřecí erytrocyty potažené celkovým extraktivním antigenem Treponema Pallidum kultivovaným v králičích varlatech, konzervant a stabilizátor.

Kontrolní buňky

Konzervované kuřecí erytrocyty, konzervant a stabilizátor.

Diluent

Fyziologický roztok, konzervant a stabilizátor.

Pozitivní kontrola

Stabilizovaný roztok protilátek proti Treponema Pallium humánního základu s titrem, který poskytuje čistou aglutinaci.

Negativní kontrola

Roztok neobsahující žádné bílkoviny a nereagující se suspenzí.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ A SKLADOVÁNÍ

Reagencie jsou připraveny k použití.

Suspenze erytrocytů musí být resuspendována s velkou opatrností. Suspenzi zhomogenizujte jemným promícháním.

Stabilita: Reagencie jsou stabilní do data expirace uvedeného na štítku při 4 °C. Nezmrazujte.

POŽADOVANÝ ALE NEDODÁVANÝ MATERIÁL

Běžné vybavení laboratoře.

Mikrodestička s „U“ jamkami, mikropipeta, centrifuga, zkumavka do centrifugy.

UPOZORNĚNÍ

Všechny reagencie obsahují 0,095% azidu sodného.

Reagencie může obsahovat nereaktivní a konzervační složky. Je nezbytné se vyhnout kontaktu s pokožkou a nepolykat. Test provádějte podle pravidel „Správné Laboratorní Praxe“ (SLP).

KVALITATIVNÍ ANALÝZA

Proveďte ředění séra v mikrodestičce s „U“ jamkami, pipetování diluentu a séra proveďte podle schématu uvedeného níže.

Za použití stejné pipety (opakovaným nasáváním a následným vyprazdňováním) s opatrností promíchejte obsah jamky před jeho přenosem do jamky následující. Odstraňte 25 µl z poslední jamky v každé řadě. Proveďte test pomocí pozitivní a negativní kontroly namísto vzorku.

Souprava TPHA je určena pro screening velkého počtu vzorků a obsahuje pouze malé množství kontrolních buněk. Předpokládá se, že vzorky jsou nejprve analyzovány pomocí testovacích buněk a kontrolní buňky jsou použity při opakování testování na vzorcích, které dávaly pozitivní výsledek při prvním testování.

Reagencie	Jamka 1	Jamka 2	Jamka 3
Diluent Vzorky	40 µl 10 µl	25 µl 25 µl z jamky 1	25 µl 25 µl z jamky 2 (odpad 25 µl)
Testovací buňky	-	-	75 µl
Mikrodestičkou jemně míchejte. Získáte tak dokonalou směs činidel v jamkách. Během inkubace chraňte před vibracemi po dobu 60 minut.			

V případě pozitivního výsledku opakujte analýzu za použití kontrolních buněk, jak je popsáno níže.

Reagencie	Jamka 1	Jamka 2	Jamka 3
Diluent Vzorky	40 µl 10 µl	25 µl 25 µl z jamky 1	25 µl 25 µl z jamky 2 (odpad 25 µl)
Testovací buňky	-	-	75 µl
Mikrodestičkou jemně míchejte. Získáte tak dokonalou směs činidel v jamkách. Během inkubace chraňte před vibracemi po dobu 60 minut.			

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Pozitivní (silně): Buňky pokrývají celé dno jamky.

Pozitivní (slabě): Buňky pokrývají přibližně 1/3 dna jamky.

Negativní: Buňky situované do kompaktního shluku ve tvaru tečky na dně jamky.

Neurčité: Buňky situované do tvaru kompaktního prstence.

Nespecifické: Pozitivní reakce.

Výsledky na hranici mezi pozitivitou a negativitou (nejisté výsledky) se vyznačují nálezem hemaglutinačního prstence v jehož středu je viditelné dno jamky. Jamka 2 (kontrolní jamka) musí dát negativní výsledek k označení vhodného vzorku k testování. V případě přítomnosti aglutinace, která je závislá na přítomnosti nespecifických aglutininů znehodnocujících výsledky testu, je nutné tyto aglutininy odstranit inkubací 25 µl vzorku s 500 µl kontrolních erytrocytů po dobu 30 minut a následnou centrifugací. Pro provedení testu použijte supernatant.

SEMIKVANTITATIVNÍ POSTUP

Postupujte podle schématu kvalitativního postupu, pokračujte v ředění až po 10-tou jamku.

Reagencie	Jamka 1	Jamka 2	Jamka 3	…	Jamka 10
Diluent Vzorek	40 µl 10 µl	25 µl 25 µl z jamky 1	25 µl 25 µl z jamky 2	… …	25 µl 25 µl z jamky 9 (odpad 25 µl)
Testovací erythrocyty	--	--	75 µl	…	75 µl
Kontrolní erythrocyty	--	75 µl	--	…	--
Titr	…	…	1:80	…	1:10240
Rozmezí konečných ředění vzorků po přidání buněk je 1:80 - 1:10240					

Mikrodestičkou jemně míchejte. Získáte tak dokonalou směs činidel v jamkách. Během inkubace chraňte před vibracemi po dobu 60 minut.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Podle demonstrovaných postupů hodnota poslední jamky, která ukazuje čistou aglutinaci.

Při platných výsledcích negativní kontrola musí dávat negativní výsledek a pozitivní kontrola musí dát titr 640 - 2560.

POZNÁMKA

- Test poskytuje pozitivní výsledky také u léčených syfilis.
- Lidská séra, použitá jako kontroly, byla shledána negativními na HIV a HBsAg. Nicméně, mělo by se s nimi pracovat s opatrností.
- Pokud nejsou výsledky kompatibilní s klinickým stavem, musí být vyhodnoceny v rámci celkové klinické studie.
- Pouze pro *in vitro* diagnostické použití.

KALIBRACE

Pozitivní a negativní kontrolní séra by měla být vždy použita k rozpoznání eventuálního pozadí aglutinační reakce.

VLASTNOSTI TESTU

Přesnost

n = 10 testů pozitivního vzorku

CV = 8,1%

Přesnost = -2,5%

Specificita

Dvě nezávislé studie u 2900 dárců séra, ukázaly 100% shodu s existujícími testovacími metodami.

Nezávislá studie provedená u 200 prenatálních sér, ukázala 100% specificitu.

Citlivost

Studie provedená na 110 charakterizovaných pozitivních vzorcích dala 100% pozitivní výsledky. Zahrnovala i 2 vzorky testované jako negativní dalšími komerčními testy TPHA, ale konfirmované FTA testem jako pozitivní a také IgM EIA pozitivní.

Interference

Falešná pozitivita byla ověřena v případě lepry, infekční mononukleózy a onemocnění pojivové tkáně.

LIKVIDACE ODPADŮ

Produkt je určen pro profesionální laboratoře. S odpady musí být zacházeno podle příslušných bezpečnostních pravidel a místních předpisů.

BALENÍ

KÓD AK00601	**(100 TESTŮ)**
Testovací buňky	1 x 8 ml
Kontrolní buňky	1 x 5 ml
Diluent	1 x 10 ml
Pozitivní kontrola	1 x 0.5 ml
Negativní kontrola	1 x 0.5 ml

KÓD AK00600	**(200 TESTŮ)**
Testovací buňky	1 x 16 ml
Kontrolní buňky	1 x 10 ml
Diluent	1 x 20 ml
Pozitivní kontrola	1 x 0.5 ml
Negativní kontrola	1 x 0.5 ml

LITERATURA

Tomizawa T. e coll. – Jap. J. Sci. Biol. 19; 305 (1966).

Sequiera P.J.L. e coll. – Brit. J. Vener. Dis. 49; 242 (1972).

VÝROBCE

LTA s.r.l.
Via Milano 15/F
20060 Bussero (Miláno) - Itálie
tel. ++39 02 95409034
fax. ++39 02 95334185
info@ltaonline.it
www.ltaonline.it

DODÁVÁ

GALI spol. s r. o.
Ke Stadionu 179 , 513 01 Semily
tel. 481 689 050, fax. 481 689 051
info@gali.cz, www.gali.cz

SYMBOLY

IVD	Pouze pro *in vitro* diagnostiku
LOT	Šarže
REF	Katalogové číslo
	Skladovací teplota
	Datum expirace
	Čtěte příbalovou informaci
	Čtěte návody
	Biologické riziko

Mod. 01.06 (ver. 3.8 – 15/10/2010)

CE