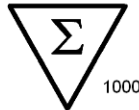




MICROSYPH™ TPHA1000

IVD

REF **FTPHA1000**



Pouze pro profesionální použití



Axis-Shield Diagnostics Limited
The Technology Park, Dundee DD2 1XA, United Kingdom.
Tel: +44 (0) 1382 422000, Fax: +44 (0) 1382 422088.
E-mail: shield@uk.axis-shield.com
Web: www.axis-shield.com

MICROSYPH™ TPHA1000 je rychlý rozbor pro detekci specifických protilátek na *Treponema pallidum* v lidském séru nebo plazmě (buď didraselná sůl EDTA, citrát sodný nebo lithium heparin) nepřímou hemaglutinací. Sada je určena k použití jako výchozí screeningový test.

ÚVOD

Syfilis je pohlavní choroba způsobovaná spirochetou *Treponema pallidum*. Protože tento organismus nelze kultivovat *in vitro*, diagnóza syfilis závisí na korelaci klinických údajů se specifickou protilátkou prokázanou sérologickými testy. Sérologické screeningové testy na syfilis, využívající jako protilátky kardiolipin a lecitin, se jednoduše provádějí, ale biologicky falešné pozitivní reakce (BFP) se vyskytují často, protože tyto testy používají netreponemální antigeny.¹ Testy TPI a FTA-ABS využívají patogenní *T. pallidum* jako antigen, ale tyto testy přináší při rutinní sérodiagnóze určité obtíže. Test TPI vyžaduje živé patogenní *T. pallidum* a test FTA-ABS vyžaduje fluorescenční mikroskop. Oba testy vyžadují vysokou úroveň odborných znalostí.

Ukázalo se, že rozbor TPHA jsou pohodlným a specifickým testem pro diagnózu treponemální infekce, který má specifitu podobnou specifitě testu TPI⁶ a citlivost srovnatelnou s citlivostí testu FTA-ABS⁷. Vyžaduje minimální laboratorní vybavení a velmi snadno se provádí. Lze jej použít ve spojení s automatizovanými systémy pro manipulaci s tekutinami pro zlepšenou provozní kapacitu ve vytížené laboratoři.

PRINCIP KVANTITATIVNÍHO ROZBORU

Test MICROSYPH™ TPHA1000 detekuje humánní protilátky (sérum/plazma) na *T. pallidum* pomocí metody nepřímé hemaglutinace (IHA). Konzervované ptačí erythrocyty jsou pokryty antigenními komponentami patogenního *T. pallidum* (Nicholsův kmen)²⁻⁵. Tyto zkušební buňky aglutinují v přítomnosti specifických protilátek na *T. pallidum* a vykazují charakteristické rysy v deskách s mikrojamkami.

Protilátky proti nepatogenní treponemy absorbují extrakt Reiterových treponem zahrnutých do buněčné suspenze. Výsledky testu se získají během 60 minut a vzorce buněčné aglutinace se snadno odečítají a jsou stabilní.

Pro usnadnění nezbytného kroku ředění bylo do diluentu přidáno modré barvivo. To mění barvu při přidání vzorku.

SOUČÁSTI SADY

TEST CELLS	2 x 40mL	Uložené ptačí erythrocyty pokryté antigenem <i>T. pallidum</i> , který byl rozrušen ultrazvukem, v pufru. <input type="checkbox"/> Zkušební buňky se musí před použitím znovu důkladně suspendovat. <input type="checkbox"/> Zkušební buňky se při uložení usadí. <input type="checkbox"/> Je důležité, aby byly usazené buňky během uchovávání pokryty pufrům při teplotě 2 až 8°C.	
DIL	1 x 250mL	Pufr obsahující modré barvivo. Obsahuje 0,1 % azidu sodného jako konzervačního činidla. <input type="checkbox"/> Připraveno k použití.	
CONTROL +	1 x 0,5mL	Defibrinované lidské syfilitická plazma obsahující protilátky proti <i>T. pallidum</i> . Použité lidské plazma je nereaktivní pro povrchový antigen hepatitidy B, antigen HCV, HIV a protilátky HIV při testování kvantitativních rozborů schválených FDA. <input type="checkbox"/> Před použitím nařed'te.	
CONTROL -	1 x 0,5mL	Použité lidské sérum je nereaktivní pro povrchový antigen hepatitidy B, antigen HCV, HIV a protilátky HIV při testování kvantitativních rozborů schválených FDA. Obsahuje 0,1 % azidu sodného jako konzervačního činidla. <input type="checkbox"/> Před použitím nařed'te.	

UCHOVÁVÁNÍ REAGENCIÍ

Reagencie v každé sadě byly sladěny tak, aby zajišťovaly příslušnou reakci a nesmí se zaměňovat navzájem s reagensy z ostatních šarží.

Sadu je nutné uchovávat ve svislé poloze při 2 až 8°C po celou dobu. Nepoužívejte reagenty po uplynutí doby použitelnosti. Reagenty se nesmí likvidovat, jestliže došlo k jejich kontaminaci nebo pokud nevykazují správnou aktivitu s reaktivními nebo nereaktivními kontrolními vzorky.

Sada byla otevřena a opakovaně použita při pěti příležitostech v průběhu 52 týdnů bez nežádoucího účinku na vlastnosti.

VZOREK A UCHOVÁVÁNÍ

Lze použít vzorky séra nebo plazmy. Uchovávejte při 2 až 8°C, jestliže se před uchováním přidá konzervační činidlo, jako je například 0,1% azid. Pro dlouhodobé uchovávání je zapotřebí vzorky uchovávat při -20°C. Je zapotřebí odstranit odstřediváním jakoukoliv částicovou hmotu před kvantitativním rozbořem.

ŘEDĚNÍ VZORKU

Vzorky, reaktivní kontrola a nereaktivní kontrola se musí naředit v diluentu v poměru 1 ku 20. Diluent obsahuje modré barvivo, které viditelně mění barvu z modré na světlezelenou/žlutou při přidání vzorku.

Přídavek vzorku spektrofotometricky potvrdíte rozředěním vzorků podle kroků 1 až 2 protokolu kvantitativního rozboru. Předtím, než přistoupíte ke kroku 3, proveďte odečet desky s mikrojamkami na čtečce desek při 450 nm s využitím 690 nm jakožto referenční vlnové délky, pokud je dostupná. Jestliže je optická hustota (OD) menší než 0,2, je tu podezření na nedostatečný objem vzorku a je nutné připravit čerstvé naředění.

Povšimněte si, prosím, že reaktivní a nereaktivní kontroly mohou dávat odečty OD menší než 0,2 díky svému složení, proto se musí vynaložit mimořádná péče na to, aby se zajistilo přidání kontroly.

Ředění by se měla používat pouze v den přípravy.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Pouze pro diagnostické použití in vitro.

1. Přísně dodržujte pokyny uvedené v této brožuře, zejména podmínky pro nakládání a uchovávání.
2. Přísně se vyvarujte kontaminace jakékoliv z reagensů nebo ředění vzorku slinami, protože to způsobí matoucí chování podobné pozitivnímu výsledku u vzorků, které by měly být negativní.
3. Kontroly obsahují sérum nebo plazmu testované kvantitativními rozbořmi schválenými FDA pro povrchový antigen hepatitidy B, antigen HCV, HIV a protilátky HIV a bylo zjištěno, že jsou nereaktivní/negativní. Protože žádný známý test nenabízí úplnou jistotu, že nejsou přítomna infekční činidla, je nutno považovat kontroly za potenciálně infekční a nakládat s nimi za stejných bezpečnostních opatření jako s jakýmkoliv potenciálně biologicky nebezpečným materiálem. Jak se s těmi materiály má nakládat v souladu se správnou laboratorní praxí je popsáno v zdravotnické příručce Ministerstvo zdraví a sociálních služeb USA (US Department of Human Health Services) „*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*“ (Biologická bezpečnost v mikrobiologických a biomedicínských laboratořích), 5. vydání, Washington, DC: Vydavatelský úřad vlády USA (US Government Printing Office), leden 2007¹⁴.
4. Nepipetujte ústy.
5. Nekuřte, nejezte, nepijte ani nepoužívejte kosmetiku v místech, kde se pracuje se sadami a vzorky.

- Jakákoliv porušení kůže, řezy, oděrky a další kožní léze je zapotřebí vhodně chránit.
- Diluent a nereaktivní kontrola obsahují 0,1% azidu sodného.

ředicí roztok	EUH032	volňuje vysoce toxický plyn při styku s kyselinami.
negativní (nereaktivní) kontrola		

Přestože je koncentrace přítomného azidu nízká, tyto materiály nelze likvidovat ve výlevce s kovovým sifonem nebo odtokovým potrubím, protože je nutné zabránit hromadění výbušných olovnatých a měďnatých solí. Všechny výlevky je po použití nutné propláchnout vodou.

- Pro všechny složky obsažené v této sadě jsou u Axis-Shield Diagnostics k dispozici bezpečnostní listy materiálu na požádání.

PŘÍPRAVA

Požadované materiály/vybavení, které není součástí dodávky

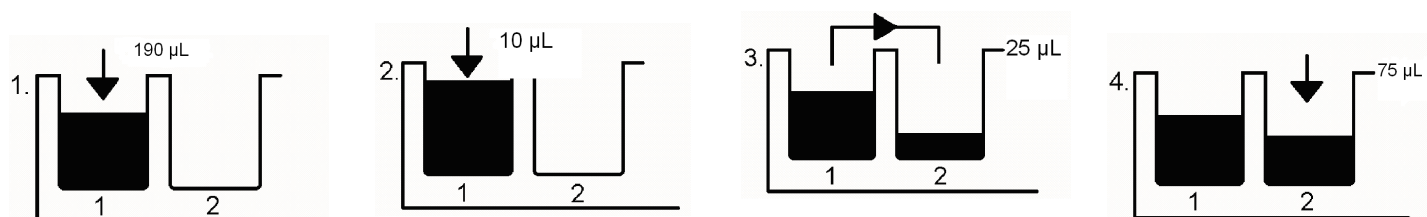
- Přesné a řádně udržované pipety pro dávkování 10, 25, 75 a 190 mikrolitrů.
- Tuhé desky s mikrojamkami s jamkami ve tvaru "U"
- Čtecí systém desek s mikrojamkami a/nebo automatizované procesory (doplňkové). Veškeré přístroje a interpretační software se musí před použitím validovat a obsluhovat, udržovat a kalibrovat v souladu s pokyny výrobců.

Dodané materiály

FTPFA1000 obsahuje dostatek reagensů k manuálnímu provedení 1000 testů. Počet testů získaných pomocí automatizovaných systémů bude záviset na charakteristikách systému.

PROTOKOL KVANTITATIVNÍHO ROZBORU

- Každý test vyžaduje 2 jamky na desce s mikrojamkami. Vytřete desku s mikrojamkami čistou, navlhčenou látkou nebo tkaninou, aby se odstranil jakýkoliv statický náboj. Přidejte 190 μ L diluentu do jamky 1.
- Přidejte 10 μ L vzorku do jamky 1. Pipetou promíchejte obsah jamky 1. Poznámka: Pro reaktivní a nereaktivní kontroly se vyžadují další sestavy jamek. S kontrolami je nutné zacházet přesně stejně jako se vzorky.
- Převedte 25 μ L do jamky 2.
- Přidejte 75 μ L plně resuspendovaných zkušebních buněk do jamek obsahujících 25 μ L naředěného vzorku nebo kontroly.



- Promíchejte obsah desky poklepáním na všechny čtyři strany desky.
- Incubujte při pokojové teplotě minimálně 60 minut.
Upozornění: Chraňte desku před teplem, přímým slunečním zářením a jakýmkoliv zdrojem vibrací.
- Odečtěte výsledky. Jestliže používáte čtečku, nejprve odečtěte desku vizuálně, protože čtečka může při vysunutí z přístroje deskou míchat.

ODEČTENÍ VÝSLEDKŮ

Vizuálně

Pozitivní výsledek

Silný pozitivní výsledek se projeví jako jemný povlak buněk na dně jamky, někdy s řasenými okraji. U vzorků, které nereagují tak silně, může být tento povlak menší a může být obklopen prstencem buněk.

Negativní výsledek

Negativní výsledek je signalizován kompaktním pupenem buněk s velmi malým otvorem ve středu nebo bez něj.

Neurčitý výsledek

Neurčitý výsledek se projevuje jako pupen buněk, které mají ve středu malý otvor, který vzhledem připomíná dobře patrný hustý prstenec se značně průhledným pozadím okolo něj.

Zdeformovaný výsledek

Některé velmi silně pozitivní vzorky mohou při testování s ředěním 1/80 vést ke zdeformovaným obrazcům. Tyto obrazce jsou podobné neurčitému výsledku a hustý prstenec může vypadat otřepaně.

Spektrofotometricky

Výsledky získané spektrofotometricky se musí také zkontrolovat manuálně.

KONTROLA KVALITY

Nereaktivní kontrola by neměla způsobovat aglutinaci, zatímco reaktivní kontrola by v testu aglutinaci způsobovat měla. Pokud tomu tak není, pak se kvantitativní rozbor považuje za neplatný a výsledky vzorků pacienta by se neměly hlásit. Jestliže se test opakuje, připravte čerstvé ředění každého vzorku a každé kontroly.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Jakýkoliv vzorek s pozitivním výsledkem testu je nutno v testu považovat za reaktivní. Pokud místní postupy neuvádí jinak, pak je zapotřebí takové vzorky testovat opakovaně ve dvojicích s využitím originálního vzorku. Vzorky, které jsou reaktivní přinejmenším v jednom z testů ve dvojnásobném provedení, se považují za opakovaně reaktivní v kvantitativním rozboru MICROSYPH™ TPHA1000. Takové vzorky je zapotřebí dále zkoumat a výsledky z kvantitativního rozboru posuzovat s jakoukoliv jinou klinickou informací a/nebo údajem z kvantitativního rozboru.

Negativní výsledek signalizuje nepřítomnosti protilátek na *T. pallidum*. V některých velmi časných případech syfilis může být získán negativní výsledek (viz **Omezení Použití**).

Neurčitý výsledek může signalizovat nízkou hladinu protilátek v ranném stádium syfilis, starší léčenou syfilis nebo kožní chorobu. V takových případech je zapotřebí vzorek znovu otestovat. Pokud to nebude možné, je zapotřebí co nejdříve odebrat čerstvý vzorek a opakovat test, přičemž se musí vzít v úvahu klinický stav pacienta.

OMEZENÍ POUŽITÍ

1. Sada MICROSYPH™ TPHA1000 neobsahuje kontrolní buňky. Pozitivní výsledek proto může být způsoben nespecifickou reakcí vzorku s buňkami. Aby se tato možnost vyloučila, je zapotřebí opakovaně testovat jakýkoliv vzorek reaktivní při testu sadou MICROSYPH™ TPHA200 (FTPHA200).

Pro potvrzení pozitivního výsledku je zapotřebí použít test FTA-ABS, protože umožňuje rozlišovat mezi protilátkami IgG a časnými IgM. Test FTA-ABS je rovněž velmi užitečný u velmi časných syfilis, kde může být hemaglutinační test negativní.

Pro terapeutickou kontrolu se doporučuje používat kvantitativní test, například test RPR. Tato reagentie je u Axis-Shield Diagnostics Ltd. k dostání.

2. Přestože je test MICROSYPH™ TPHA1000 vysoce specifický, bylo zjištěno, že se vyskytují

falešně pozitivní výsledky u pacientů trpících leprou, infekční mononukleózou a poruchami pojivové tkáně.

3. Sérologické testy včetně MICROSYPH™ TPHA1000 nedokáží rozlišit mezi syfilis a jinými formami patogenních treponemálních infekcí⁸, např. kožními chorobami⁷. K určení přítomného onemocnění je zapotřebí použít klinický důkaz.
4. Protilátky proti syfilis zjištěné v testu MICROSYPH™ TPHA1000 přetrvávají i po úspěšné léčbě. Proto může pozitivní test indikovat minulou či současnou infekci^{6,7,9,10}.
5. Po infekci *T. pallidum* se protilátky (jak antilipoidní, tak antitreponemální) nemusí objevit po 1 až 4 týdny od okamžiku, kdy se vytvořila charakteristická léze syfilis (tvrdý vřed). Proto při časném primární syfilis mohou testy, jako je MICROSYPH™ TPHA1000, dávat negativní výsledek pro určité vzorky^{11,12,13}. U pozdějších latentních/léčených infekcí syfilis mohou hladiny protilátek poklesnout pod mez detekce kvantitativního rozboru MICROSYPH™ TPHA1000, a proto mohou dávat negativní výsledky. V těchto případech je nutné používat alternativní postupy testování, například mikroskopickou identifikaci *T. pallidum*.
6. Výsledky získané systémem pro odečítání z desek se musí také zkontrolovat manuálně. V závislosti na parametrech odečítání lze chybně odečíst některé neurčité nebo zdeformované obrazce jako mezní nebo negativní.
7. Tento test se má používat pouze s individuálními (nesdružovanými) vzorky séra nebo plazmy.
8. Použití hemolyzovaných vzorků, neúplně vysráženého séra, vzorků plazmy obsahujících fibrin nebo vzorků s mikrobiální kontaminací může vést k chybným výsledkům.

CHARAKTERISTIKY CHOVÁNÍ

Specifická

1000 vzorků od dárců (500 vzorků séra a 500 vzorků plazmy) bylo podrobena kvantitativnímu rozboru, který jsme sami prováděli, jednou šarží reagensů a dalších 1000 vzorků od dárců (500 vzorků séra a 500 vzorků plazmy) bylo podrobena kvantitativnímu rozboru s druhou šarží reagensů; výsledky jsou uvedeny níže.

Počet vzorků	Šarže reagensie	Počet pozitivních nebo neurčitých vzorků		Specifická
		Initial	Repeat	
500 sérum	1	0	0	100%
500 plazma	1	2	0	100%
500 sérum	2	0	0	100%
500 plazma	2	0	0	100%

Specifická u potenciálně zkříženě reaktivních vzorků

71 potenciálně zkříženě reaktivních vzorků bylo podrobena kvantitativnímu rozboru, který jsme sami prováděli, jednou šarží reagensů a dalších 72 vzorků bylo podrobena kvantitativnímu rozboru, který jsme sami prováděli, s druhou šarží reagensů; výsledky jsou uvedeny níže.

No. Počet vzorků	Šarže reagensie	Počet pozitivních nebo neurčitých vzorků	Specifická
71 (viz poznámka 1)	1	0	100%
72 (viz poznámka 2)	2	0	100%

Poznámka 1: 18 pozitivních revmatických faktorů, 9 pozitivních Lymfských chorob, 5 pozitivních antikardiolipinů, 16 antenatálních, 12 HCV pozitivních, 6 HIV pozitivní a 5 HBV pozitivních vzorků

Poznámka 2: 18 pozitivních revmatických faktorů, 9 pozitivních Lymfských chorob, 5 pozitivních antikardiolipinů, 16 antenatálních, 12 HCV pozitivních, 6 HIV pozitivní a 6 HBV pozitivních vzorků

Citlivost

Za použití kvantitativních rozborů ELISA bylo zjištěno 137 pozitivních, přičemž jsme kvantitativní rozborů prováděli sami dvěma šaržemi reagensí; výsledky jsou uvedeny níže.

Počet vzorků	Šarže reagensie	Počet negativních vzorků	Citlivost
137	1	3	97,8%
137	2	2	98,5%

STANDARDIZACE

Ukázalo se, že test MICROSYPH™ TPHA1000 dává 50% aglutinační reakci s referenčním přípravkem WHO 3-1980 při titru od 1/2560 až 1/10240 pomocí tří šarží reagensí a pěti operátorů.

REFERENCE

1. **Garner, M.F. et al** (1973). The *Treponema pallidum* haemagglutination (TPHA) test in biological false positive and leprosy sera. *J. Clin. Path.*, **26**, 258.
2. **Rathlev, T.** (1965). Haemagglutination tests utilising antigens from pathogenic and apathogenic *Treponema pallidum*. W.H.O./NVT/RES/77.65.
3. **Rathlev, T.** (1967). Haemagglutination test utilising pathogenic *Treponema pallidum* for the serodiagnosis of syphilis. *Brit. J. Vener. Dis.*, **43**, 181.
4. **Tomizawa, T. et al.** (1966). Hemagglutination tests for diagnosis of syphilis. A preliminary report. *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, **19**, 305.
5. **Tomizawa, T. et al.** (1969). Usefulness of the hemagglutination test using *Treponema pallidum* antigen (TPHA) for the serodiagnosis of syphilis. *Jap. J. Med. Sci. Biol.* **22**, 341.
6. **Sequeira, P.J.L. et al** (1973). Treponemal haemagglutination test. *Brit. J. Vener. Dis.*, **49**, 242.
7. **Johnston, N.A.** (1972). *Treponema pallidum* haemagglutination test for syphilis. Evaluation of a modified micro-method. *Brit. J. Vener. Dis.*, **48**, 474.
8. **Cox, P.M. et al.** (1969). Automated, quantitative microhemagglutination assay for *Treponema pallidum* antibodies. *Appl Microbiol.*, **18**, 485.
9. **Uete, T. et al** (1971). Clinical evaluation of the *T. pallidum* haemagglutination test. *Brit. J. Vener. Dis.*, **47**, 73.
10. **Young, H. et al** (1974). *Treponema pallidum* haemagglutination test as a screening procedure for the diagnosis of syphilis. *Brit. J. Vener. Dis.* **50**, 341. *Appl. Microbiol.*, **24**, 26.
11. **Coffrey, E.M. et al** (1972). Evaluation of the qualitative and automated quantitative microhemagglutination assay for antibodies to *Treponema pallidum*. *Appl. Microbiol.* **24**, 26.
12. **Dyckman, J.D. et al** (1980). Reactivity of microhemagglutination, fluorescent treponemal antibody absorption, and venereal disease research laboratory tests in primary syphilis. *J. Clin. Micro.*, **12**, 629.
13. **Larsen, S.A. et al** (1995). Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin. Micro. Rev.*, **8**, 1. *Clin. Micro. Rev.*, **8**, 1.
14. US Department of Human Health Services "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 5th Edition, Washington, DC: US Government Printing office, January 2007.

SYMBOLY



In vitro diagnostický zdravotnický prostředek



katalogové číslo



šarže



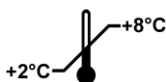
Postačuje pro 1000 testů



Upozornění: Prostudujte doprovodné dokumenty



spotřebujte do



skladujte při teplotě 2-8°C



pozitivní (reaktivní) kontrola



negativní (nereaktivní) kontrola



zkušební buňky



ředicí roztok



Globální číslo obchodní položky



výrobce



Axis-Shield Diagnostics Limited

The Technology Park, Dundee DD2 1XA, United Kingdom.

Tel: +44 (0) 1382 422000, *Fax:* +44 (0) 1382 422088.

E-mail: shield@uk.axis-shield.com

Website: www.axis-shield.com



EC Authorized Representative:

Medical Device Safety Service GmbH (MDSS)

Schiffgraben 41,
30175 Hannover,
Germany

Tel.: + (49) 511 6262 8630

Fax: + (49) 511 6262 8633

Ver:2019/09