

Μόνο για επαγγελματική χρήση



Axis-Shield Diagnostics Limited

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

Τηλ.: +44 (0) 1382 422000, Φαξ: +44 (0) 1382 422088.

Διεύθ. ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: shield@uk.axis-shield.com

Ιστότοπος: www.axis-shield.com

ΕΛΛΗΝΙΚΑ: ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Τα τεστ MICROSYPH™ ΤΡΗΑ200 και 500 είναι δοκιμές ταχείας δράσης για τον εντοπισμό συγκεκριμένων αντισωμάτων για το μικρόβιο τρεπώνημα το ωχρό (*Treponema pallidum*) στον ανθρώπινο ορό ή πλάσμα (είτε δι-κάλιο EDTA, κιτρικό νάτριο, ή ηπαρίνη λιθίου) μέσω έμμεσης αιμοσυγκόλλησης.

Το κιτ μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για ημι-ποσοτική τιτλοποίηση θετικών δειγμάτων.

Το κιτ περιέχει κύτταρα ελέγχου που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση του εάν η αιμοσυγκόλληση ωφείλεται σε μη συγκεκριμένα αντιδραστήρια. Αυτή η πτυχή του κιτ δεν πρέπει να θεωρηθεί τεστ επιβεβαίωσης για τη σύφιλη.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η σύφιλη είναι ένα αφροδίσιο νόσημα που προκαλείται από τον σπειροχαίτη μικροοργανισμό τρεπώνημα το ωχρό (*Treponema pallidum*). Καθώς αυτός ο οργανισμός δεν μπορεί να καλλιεργηθεί *in vitro*, η διάγνωση της σύφιλης εξαρτάται από τη σχέση των κλινικών δεδομένων με το συγκεκριμένο αντίσωμα που επιδεικνύεται από ορολογικές δοκιμές.

Οι ορολογικές διερευνητικές δοκιμές για τη σύφιλη με τη χρήση καρδιολιπίνης και λεκιθίνης ως αντιγόνα είναι απλές στην πραγματοποίησή τους, αλλά παρουσιάζονται συχνά εσφαλμένες θετικές βιολογικές αντιδράσεις (BFP) λόγω του ότι αυτές οι δοκιμές χρησιμοποιούν μη τρεπονηματικά αντιγόνα¹. Οι δοκιμές TPI και FTA-ABS πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση παθογόνου τρεπονήματος του ωχρού (*T. pallidum*) ως αντιγόνο, αλλά αυτές οι δοκιμές παρουσίασαν ορισμένες δυσκολίες για τυπική οροδιάγνωση. Η δοκιμή TPI απαιτεί ζωντανό παθογόνο τρεπώνημα το ωχρό (*T. pallidum*) και η δοκιμή FTA-ABS απαιτεί μικροσκόπιο φθορισμού. Αμφότερες οι δοκιμές απαιτούν υψηλό επίπεδο εξειδίκευσης.

Η δοκιμή ΤΡΗΑ έχει αποδειχθεί ως εύκολη και συγκεκριμένη δοκιμή για τη διάγνωση τρεπονημικής μόλυνσης, με προσδιοριστικότητα παρόμοια με αυτήν της δοκιμής TPI⁶ και ευαισθησία συγκρίσιμη με αυτήν της δοκιμής FTA-ABS⁷. Απαιτεί ελάχιστο εργαστηριακό εξοπλισμό και πραγματοποιείται εύκολα. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με αυτοματοποιημένα συστήματα χειρισμού υγρών για βελτιωμένη απόδοση σε πολυάσχολο εργαστήριο.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

MICROSYPH™ Τα τεστ ΤΡΗΑ200 και 500 εντοπίζουν τα ανθρώπινα αντισώματα (ορού/πλάσματος) του *T. pallidum* μέσω μεθόδου έμμεσης αιμοσυγκόλλησης (IHA). Τα διατηρημένα ερυθρά αιμοσφαίρια πτηνών επικαλύπτονται με αντιγονικά τμήματα παθογόνου *T. pallidum* (στέλεχος Nichol's)^{2,3,4,5}. Αυτά τα κύτταρα δοκιμής συγκολλούνται παρουσία συγκεκριμένων αντισωμάτων στο *T. pallidum* και παρουσιάζουν χαρακτηριστικά πρότυπα σε πλακίδια μικροκοιλοτήτων (microwell).

Οποιοσδήποτε μη συγκεκριμένες αντιδράσεις λάβουν χώρα, εντοπίζονται με τη χρήση κυττάρων ελέγχου που είναι ερυθρά αιμοσφαίρια πτηνών μη επικαλυμμένων με *T. pallidum*.

Τα αντισώματα μη παθογόνων τρεπτονημάτων απορροφούνται από εκχύλισμα τρεπτονημάτων Reiter που συμπεριλαμβάνονται στο εναιώρημα των κυττάρων. Λαμβάνονται αποτελέσματα της δοκιμής στα 60 λεπτά και τα πρότυπα συγκόλλησης διαβάζονται εύκολα και είναι σταθερά.

Για τη διευκόλυνση του αναγκαίου βήματος αραιώσης, προστέθηκε μπλε χρωστική στην αραιωτική ουσία. Αυτή αλλάζει χρώμα όταν προστίθεται το δείγμα.

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΟΥ ΚΙΤ

TEST CELLS	1 x 17 mL (FTRH200) 1 x 40 mL (FTRH500)	Διατηρημένα ερυθρά αιμοσφαίρια πτηνών επικαλυμμένα με αντιγόνο <i>T. pallidum</i> σε ρυθμιστικό διάλυμα. <input type="checkbox"/> Τα κύτταρα της δοκιμής πρέπει να ανακινούνται καλά πριν τη χρήση. <input type="checkbox"/> Τα κύτταρα δοκιμής καθιζάνουν όταν αποθηκεύονται. <input type="checkbox"/> Είναι σημαντικό τα κύτταρα που έχουν καθιζήσει να έχουν καλυφθεί με το ρυθμιστικό διάλυμα κατά την αποθήκευση σε θερμοκρασία 2-8°C.	
CONTROL CELLS	1 x 17 mL (FTRH200) 1 x 40 mL (FTRH500)	Διατηρημένα ερυθρά αιμοσφαίρια πτηνών σε ρυθμιστικό διάλυμα Τα κύτταρα ελέγχου πρέπει να ανακινούνται καλά πριν τη χρήση. <input type="checkbox"/> Τα κύτταρα ελέγχου καθιζάνουν όταν αποθηκεύονται. <input type="checkbox"/> Είναι σημαντικό τα κύτταρα που έχουν καθιζήσει να έχουν καλυφθεί με το ρυθμιστικό διάλυμα κατά την αποθήκευση σε θερμοκρασία 2-8°C.	
DIL	2 x 20 mL (FTRH200) 1 x 150 mL (FTRH500)	Ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει μπλε χρωστική και αζίδιο νατρίου 0,1% ως συντηρητικό. <input type="checkbox"/> Έτοιμο για χρήση	
CONTROL +	1 x 0,5 mL (FTRH200 & FTRH500)	Απινιδωμένο ανθρώπινο συφιλιδικής πλάσμα που περιέχει αντισώματα του <i>T. pallidum</i> . Το ανθρώπινο πλάσμα που χρησιμοποιείται είναι μη αντιδραστικός για το αντιγόνο επιφανείας της ηπατίτιδας Β, το αντιγόνο του HIV και τα αντισώματα του HIV κατά την πραγματοποίηση εγκεκριμένων από την FDA δοκιμών. <input type="checkbox"/> Αραιώστε πριν τη χρήση.	
CONTROL -	1 x 0,5mL (FTRH200 & FTRH500)	Ο ανθρώπινος ορός που χρησιμοποιείται είναι μη αντιδραστικός για το αντιγόνο επιφανείας της ηπατίτιδας Β, το αντιγόνο του HIV και τα αντισώματα του HIV κατά την πραγματοποίηση εγκεκριμένων από την FDA δοκιμών. Περιέχει 0,1% αζίδιο νατρίου ως συντηρητικό. <input type="checkbox"/> Αραιώστε πριν τη χρήση.	

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια σε κάθε κιτ έχουν συνδυαστεί για να παράγουν την κατάλληλη αντίδραση και τα αντιδραστήρια δεν πρέπει να εναλλάσσονται με αντιδραστήρια από άλλες παρτίδες.

Το κιτ πρέπει να είναι αποθηκευμένο **σε όρθια θέση** και σε θερμοκρασία 2-8°C σε κάθε στιγμή. Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης τους. Τα αντιδραστήρια πρέπει να απορρίπτονται εάν μολυνθούν ή δεν παρουσιάζουν κατάλληλη δραστηριότητα με τους αντιδραστικούς ή μη αντιδραστικούς ελέγχους (μάρτυρες).

Ένα κιτ είχε ανοιχτεί και επαναχρησιμοποιηθεί σε πέντε περιπτώσεις σε διάστημα 52 εβδομάδων χωρίς ανεπιθύμητες επιδράσεις στην απόδοση.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν δείγματα ορού ή πλάσματος. Να τα αποθηκεύετε σε θερμοκρασία 2-8°C εάν έχει προστεθεί συντηρητικό όπως αζίδιο 0,1% πριν την αποθήκευση. Για μακροπρόθεσμη αποθήκευση, τα δείγματα πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία -20°C. Πρέπει να αφαιρείται οποιαδήποτε ορατή σωματιδιακή ύλη μέσω φυγοκέντρησης πριν τη δοκιμή.

ΑΡΑΙΩΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Τα δείγματα, ο αντιδραστικός έλεγχος (μάρτυρας) και ο μη αντιδραστικός έλεγχος (μάρτυρας) πρέπει να αραιώνονται σε αναλογία 1 προς 20 σε αραιωτική ουσία. Η αραιωτική ουσία περιέχει μπλε χρωστική που αλλάζει εμφανώς χρώμα από μπλε σε ανοιχτό πράσινο/κίτρινο όταν προστίθεται το δείγμα.

Για φασματομετρική επιβεβαίωση της προσθήκης του δείγματος, αραιώστε τα δείγματα σύμφωνα με τα βήματα 1-3 του πρωτοκόλλου δοκιμής. Πριν συνεχίσετε στο βήμα 4, διαβάστε το πλακίδιο μικροκοιλοτήτων σε συσκευή ανάγνωσης πλακιδίων στα 450 nm με τη χρήση μήκους κύματος αναφοράς 690 nm εάν διατίθεται. Εάν η οπτική πυκνότητα (O.D.) είναι μικρότερη από 0,2, είναι πιθανόν ο όγκος του δείγματος να είναι ανεπαρκής και πρέπει να παρασκευστεί φρέσκο διάλυμα.

Σημειώστε ότι οι αντιδραστικοί και μη αντιδραστικοί έλεγχοι μπορεί να παράγουν αναγνώσεις μικρότερες από 0,2 λόγω της σύνθεσής τους, οπότε πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή για να διασφαλιστεί ότι έχει προστεθεί ο έλεγχος (μάρτυρας).

Τα διαλύματα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο την ημέρα της παρασκευής τους.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

1. Να τηρείτε πιστά τις οδηγίες που περιλαμβάνονται σε αυτό το βιβλιάριο, ειδικά όσον αφορά στο χειρισμό και τις συνθήκες αποθήκευσης.
2. Να αποφεύγετε αυστηρά τη μόλυνση οποιουδήποτε αντιδραστηρίου ή διαλύματος δειγμάτων με σάλιο καθώς αυτό θα μπορούσε να προκαλέσει ακαθόριστα πρότυπα, όπως θετικό αποτέλεσμα με δείγματα που θα έπρεπε να είναι αρνητικά.
3. Οι έλεγχοι περιέχουν ανθρώπινο ορό ή δοκιμάζονται που έχει δοκιμαστεί μέσω εγκεκριμένων από την FDA δοκιμών για το αντιγόνο επιφανείας της ηπατίτιδας Β, του HCV, του αντιγόνου HIV και των αντισωμάτων HIV και διαπιστώθηκε μη αντιδραστικός/αρνητικός. Καθώς καμία γνωστή δοκιμή δεν προσφέρει πλήρη εξασφάλιση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, οι έλεγχοι πρέπει να θεωρούνται ενδεχομένως μολυσματικοί και πρέπει να τυγχάνουν χειρισμού με τις ίδιες προφυλάξεις που ισχύουν για οποιοδήποτε άλλο βιολογικά επικίνδυνο υλικό. US Department of Health and Human Services (Τμήμα Υγείας και Κοινωνικών Υπηρεσιών των Η.Π.Α.) "*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*", 5^η έκδοση, Washington, DC: To US Government Printing Office (Εθνικό Τυπογραφείο των Η.Π.Α.), Ιανουάριος 2007,¹⁴ περιγράφει τον τρόπο χειρισμού αυτών των υλικών σύμφωνα με την ορθή εργαστηριακή πρακτική.
4. Να μην κάνετε χρήση πιπέτας από το στόμα.
5. Μην καπνίζετε, τρώτε, πίνετε ή φοράτε καλλυντικά στους χώρους χειρισμού των κιτ και δειγμάτων.
6. Οποιαδήποτε τραύματα, κοψίματα, εκδορές και άλλες αλλοιώσεις του δέρματος πρέπει να προστατεύονται κατάλληλα.
7. Η αραιωτική ουσία και ο μη αντιδραστικός έλεγχος περιέχουν 0,1% αζίδιο.

Αραιωτική ουσία	EUH032	Σε επαφή με οξέα ελευθερώνονται πολύ τοξικά αέρια.
Αρνητικός (μη αντιδραστικός) έλεγχος		

Αν και η συγκέντρωση του αζιδίου είναι χαμηλή, για την αποτροπή της συσσώρευσης εκρηκτικού μολύβδου ή αλάτων χαλκού, αυτά τα υλικά δεν πρέπει να απορρίπτονται σε νεροχύτες με μεταλλικά σιφώνια ή αγωγούς αποχέτευσης. Όλες οι αποχετεύσεις πρέπει να ξεπλένονται με νερό μετά τη χρήση.

8. Τα φυλλάδια δεδομένων ασφαλείας για όλα τα συστατικά που περιέχονται σε αυτό το κιτ διατίθενται κατόπιν αίτησης από την Axis-Shield Diagnostics.

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ

Υλικά/Εξοπλισμός που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

1. Κατάλληλα διατηρημένες πιπέτες ακριβείας για την παροχή 10, 25, 75 και 190 μ L.
2. Άκαμπτα πλακίδια μικροκοιλοτήτων με κοιλότητες σχήματος U.
3. Σύστημα ανάγνωσης πλακιδίων μικροκοιλοτήτων και/ή αυτόματοι επεξεργαστές (προαιρετικό). Όλα τα όργανα και το λογισμικό ερμηνείας αποτελεσμάτων πρέπει να έχουν πιστοποιηθεί πριν τη χρήση και να λειτουργούν, διατηρούνται και βαθμονομούνται σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών.

Παρεχόμενα υλικά

Διατίθεται επαρκής αριθμός κυττάρων με τα kit για τη διεξαγωγή είτε 200 (FTPΗΑ200) ή 500 (FTPΗΑ500) διερευνητικών δοκιμών με αμφότερα κύτταρα δοκιμών και κυττάρων ελέγχου, ή 28 (FTPΗΑ200) ή 68 (FTPΗΑ500) ημι-ημι-ποσοτικών δοκιμών. Ο αριθμός των δοκιμών που λαμβάνεται με τη χρήση αυτοματοποιημένων συστημάτων εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του συστήματος.

Χρήση ελέγχων

Οι αντιδραστικοί και μη αντιδραστικοί έλεγχοι πρέπει να χρησιμοποιούνται με κάθε σειρά δειγμάτων, είτε η δοκιμή είναι ποιοτική, είτε είναι ημι-ποιοτική. Αμφότεροι οι έλεγχοι πρέπει να αραιώνονται πριν τη χρήση. Ο μη αντιδραστικός έλεγχος πρέπει να υποβάλλεται σε δοκιμή ποιοτικά σε αμφοτέρους ποιοτικές και ημι-ποιοτικές δοκιμές. Ο αντιδραστικός έλεγχος πρέπει να δοκιμάζεται ποιοτικά εάν τα δείγματα δοκιμάζονται ποιοτικά και ημι-ποιοτικά εάν τα δείγματα δοκιμάζονται ημι-ποιοτικά.

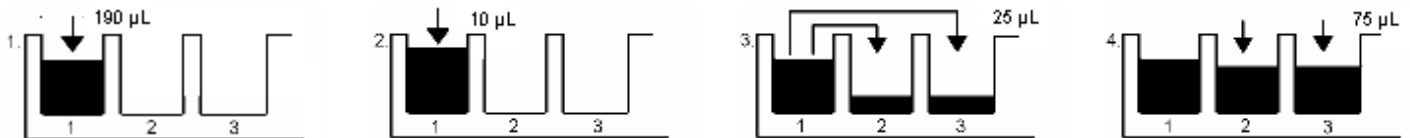
ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΔΟΚΙΜΗΣ

(α) Ποιοτική/Διερευνητική δοκιμή

1. Κάθε δοκιμή απαιτεί 3 κοιλότητες σε ένα πλακίδιο μικροκοιλοτήτων. Σκουπίστε το πλακίδιο μικροκοιλοτήτων με καθαρό ελαφρά υγρό πανάκι ή μαντηλάκι για την εκφόρτιση τυχόν στατικού ηλεκτρισμού. Προσθέστε 190 μL αραιωτικής ουσίας στην κοιλότητα 1.
2. Προσθέστε 10 μL δείγματος στην κοιλότητα 1. Με τη χρήση πιπέτας, αναμείξτε τα περιεχόμενα της κοιλότητας 1.
3. Μεταφέρετε 25 μL στις κοιλότητες 2 και 3.

Σημείωση: Απαιτούνται δύο περαιτέρω σελίδες για τους αντιδραστικούς και μη αντιδραστικούς ελέγχους. Οι έλεγχοι πρέπει να αντιμετωπίζονται ακριβώς όπως τα δείγματα.

4. Βεβαιωθείτε ότι τα κύτταρα δοκιμής και τα κύτταρα ελέγχου έχουν εναιωρηθεί καλά. Προσθέστε 75 μL κυττάρων ελέγχου στην κοιλότητα 2 και 75 μL κυττάρων δοκιμής στην κοιλότητα 3.



5. Αναμείξτε τα περιεχόμενα του πλακιδίου χτυπώντας ελαφρά και τις τέσσερις πλευρές του πλακιδίου.
6. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον 60 λεπτά.

Προσοχή: Να διατηρείτε το πλακίδιο μακριά από θερμότητα, απευθείας έκθεση σε ηλιακό φως και οποιαδήποτε πηγή κραδασμών.

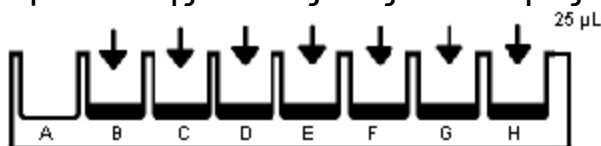
7. Αποτελέσματα ανάγνωσης. Εάν χρησιμοποιείτε συσκευή ανάγνωσης, κάντε την ανάγνωση του πλακιδίου καταρχήν οπτικά καθώς η συσκευή ανάγνωσης μπορεί να προκαλέσει ανάδευση του πλακιδίου όταν εκβάλλεται από το όργανο.

(β) Ημι-ποσοτική δοκιμή

- κατά την ποιοτική δοκιμή έχει πραγματοποιηθεί δοκιμή με τη χρήση των κυττάρων δοκιμής και των κυττάρων ελέγχου.

Σημείωση: Συνιστάται να περιλαμβάνεται ο αντιδραστικός έλεγχος σε κάθε σειρά δειγμάτων κατά την πραγματοποίηση της ημι-ποσοτικής δοκιμής. Ο έλεγχος πρέπει να αραιώνεται πριν τη χρήση και να δοκιμάζεται με την ίδια μέθοδο που χρησιμοποιείται για τα δείγματα.

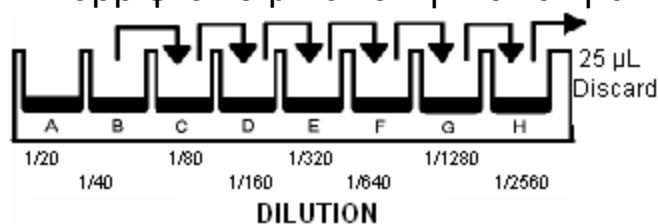
1. Κάθε δοκιμή απαιτεί 8 κοιλότητες σε ένα πλακίδιο μικροκοιλοτήτων. Η πλέον οικονομική χρήση ενός πλακιδίου επιτυγχάνεται εάν χρησιμοποιείται μία στήλη ανά δείγμα, αντί για γραμμή. Σκουπίστε το πλακίδιο μικροκοιλοτήτων με καθαρό ελαφρά υγρό πανάκι ή μαντηλάκι για την εκφόρτιση τυχόν στατικού ηλεκτρισμού. Προσθέστε 25 μL αραιωτικής ουσίας στις κοιλότητες B-H.



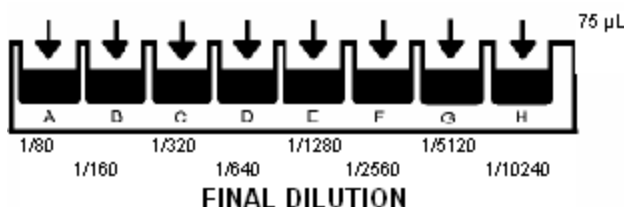
2. Μεταφέρετε 25 μL του διαλύματος δείγματος 1/20 από τη διερευνητική δοκιμή στις κοιλότητες A και B.



3. Με τη χρήση πιπέτας αναμείξτε τα περιεχόμενα της κοιλότητας B. Μεταφέρετε 25 μL από την κοιλότητα B στην κοιλότητα C, αναμείξτε, μεταφέρετε 25 μL από την κοιλότητα C στην κοιλότητα D και αναμείξτε. Συνεχίστε σεριακές αραιώσεις έως την κοιλότητα H. Απορρίψτε 25 μL από την κοιλότητα H.



4. Βεβαιωθείτε ότι τα κύτταρα δοκιμής έχουν εναιωρηθεί καλά. Προσθέστε 75 μL κυττάρων δοκιμής στις κοιλότητες A-H.



5. Αναμείξτε τα περιεχόμενα του πλακιδίου χτυπώντας ελαφρά και τις τέσσερις πλευρές του πλακιδίου.
6. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (15-25°C) για τουλάχιστον 60 λεπτά.

Προσοχή: Να διατηρείτε το πλακίδιο μακριά από θερμότητα, απευθείας έκθεση σε ηλιακό φως και οποιαδήποτε πηγή κραδασμών.

7. Αποτελέσματα ανάγνωσης. Εάν χρησιμοποιείτε συσκευή ανάγνωσης, κάντε την ανάγνωση του πλακιδίου καταρχήν οπτικά καθώς η συσκευή ανάγνωσης μπορεί να προκαλέσει ανάδευση του πλακιδίου όταν εκβάλεται από το όργανο.

(γ) Ημι-ποσοτική δοκιμή – όταν δεν έχει πραγματοποιηθεί ποιοτική δοκιμή.

Σημείωση: Συνιστάται να περιλαμβάνεται ο αντιδραστικός έλεγχος σε κάθε σειρά δειγμάτων κατά την πραγματοποίηση της ημι-ποσοτικής δοκιμής. Ο έλεγχος πρέπει να αραιώνεται πριν τη χρήση και να δοκιμάζεται με την ίδια μέθοδο που χρησιμοποιείται για τα δείγματα.

Εάν δεν έχει πραγματοποιηθεί ποιοτική δοκιμή, τότε απαιτείται μία γραμμή ανά δείγμα.

1. Σκουπίστε το πλακίδιο μικροκοιλοτήτων με καθαρό ελαφρά υγρό πανάκι ή μαντηλάκι για την εκφόρτιση τυχόν στατικού ηλεκτρισμού. Προσθέστε 190 μL αραιωτικής ουσίας στην κοιλότητα 1.
2. Προσθέστε 10 μL δείγματος στην κοιλότητα 1. Με τη χρήση πιπέτας, αναμείξτε τα περιεχόμενα της κοιλότητας 1.
3. Προσθέστε 25 μL αραιωτικής ουσίας στις κοιλότητες 4 – 10.
4. Μεταφέρετε 25 μL του αραιωμένου δείγματος από την κοιλότητα 1 στις κοιλότητες 2, 3 και 4.
5. Με τη χρήση πιπέτας αναμείξτε τα περιεχόμενα της κοιλότητας 4, κατόπιν μεταφέρετε 25 μL από αυτήν την κοιλότητα στην κοιλότητα 5, αναμείξτε, μεταφέρετε 25 μL από την κοιλότητα 5 στην κοιλότητα 6 και αναμείξτε. Συνεχίστε σειριακές αραιώσεις έως την κοιλότητα 10. Απορρίψτε 25 μL από την κοιλότητα 10.
6. Βεβαιωθείτε ότι τα κύτταρα δοκιμής και τα κύτταρα ελέγχου έχουν εναιωρηθεί καλά. Προσθέστε 75 μL κυττάρων ελέγχου στην κοιλότητα 2 και 75 μL κυττάρων δοκιμής στις κοιλότητες 3 - 10.
7. Αναμείξτε τα περιεχόμενα του πλακιδίου χτυπώντας ελαφρά και τις τέσσερις πλευρές του πλακιδίου.
8. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (15-25°C) για τουλάχιστον 60 λεπτά.

Προσοχή: Να διατηρείτε το πλακίδιο μακριά από θερμότητα, απευθείας έκθεση σε ηλιακό φως και οποιαδήποτε πηγή κραδασμών.

9. Αποτελέσματα ανάγνωσης. Εάν χρησιμοποιείτε συσκευή ανάγνωσης, κάντε την ανάγνωση του πλακιδίου καταρχήν οπτικά καθώς η συσκευή ανάγνωσης μπορεί να προκαλέσει ανάδευση του πλακιδίου όταν εκβάλλεται από το όργανο.

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Οπτικά

Θετικό αποτέλεσμα

Ένα ισχυρά θετικό αποτέλεσμα θα εμφανιστεί ως ένα ομαλό επίθεμα κυττάρων στο κάτω μέρος της κοιλότητας, κάποιες φορές με διπλωμένες γωνίες. Με λιγότερο ισχυρά αντιδραστικά δείγματα, αυτό το επίθεμα θα είναι μικρότερο και μπορεί να περιβάλλεται από ένα δακτύλιο κυττάρων.

Αρνητικό αποτέλεσμα

Ένα αρνητικό αποτέλεσμα καθορίζεται από συμπαγή μπουτόν κυττάρων με ή χωρίς μια πολύ μικρή οπή στο κέντρο.

Απροσδιόριστο αποτέλεσμα

Ένα απροσδιόριστο αποτέλεσμα εμφανίζεται ως ένα μπουτόν κυττάρων με μια μικρή οπή στο κέντρο με εμφάνιση καλώς καθορισμένου πυκνού δακτυλίου με αρκετά εμφανή υπόβαθρο (φόντο) γύρω από το δακτύλιο.

Συνδυασμένο αποτέλεσμα

Κάποια πολύ ισχυρά θετικά δείγματα μπορεί να παράγουν συνδυασμένα πρότυπα κατά τη δοκιμή σε αραιώση 1/80. Αυτά τα πρότυπα είναι παρόμοια με απροσδιόριστο αποτέλεσμα, αλλά ο πυκνός δακτύλιος μπορεί να έχει τραχιά εμφάνιση.

Τελικό σημείο πηλοποίησης

Το τελικό σημείο λαμβάνεται ως η τελευταία κοιλότητα με 50% συγκόλληση.

Φασματοφωτομετρικά

Τα αποτελέσματα που λαμβάνονται φασματοφωτομετρικά πρέπει επίσης να ελέγχονται με χειροκίνητο τρόπο.

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Ο μη αντιδραστικός έλεγχος δεν θα πρέπει να προκαλέσει συγκόλληση, ενώ ο αντιδραστικός έλεγχος θα πρέπει να προκαλέσει συγκόλληση στη διερευνητική δοκιμή και 50% συγκόλληση σε 1/1280 (± 1 διπλάσια αραιώση) στην ημι-ποσοτική δοκιμή. Εάν δεν παρουσιαστεί αποδεκτό πρότυπο (σε ποιοτική δοκιμή) και αποδεκτός τίτλος για τον αντιδραστικό έλεγχο (σε ημι-ποσοτική δοκιμή) καθιστά άκυρη τη δοκιμή και τα αποτελέσματα του δείγματος του ασθενούς δεν πρέπει να αναφερθούν. Εάν επαναλαμβάνετε τη δοκιμή, παρασκευάστε φρέσκο διάλυμα για κάθε δείγμα και κάθε έλεγχο.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Ένα δείγμα με θετικό αποτέλεσμα στην κοιλότητα δοκιμής και αρνητικό αποτέλεσμα στην κοιλότητα ελέγχου θα πρέπει να θεωρηθεί αντιδραστικό στη δοκιμή. Εκτός κι αν οι τοπικές διαδικασίες καθορίζουν διαφορετικά, αυτά τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται και πάλι σε δοκιμή εις διπλούν με τη χρήση του αρχικού δείγματος. Δείγματα που είναι αντιδραστικά σε τουλάχιστον μία από τις επαναληπτικές δοκιμές θεωρούνται κατ' επανάληψη αντιδραστικά στις δοκιμές MICROSYPH™ ΤΡΗΑ200 και 500. Τέτοιου είδους δείγματα πρέπει να επιθεωρούνται περαιτέρω και τα αποτελέσματα από τη δοκιμή να λαμβάνονται υπόψη μαζί με οποιεσδήποτε άλλες κλινικές πληροφορίες και/ή πληροφορίες δοκιμών.

Ένα αρνητικό αποτέλεσμα στη δοκιμή καθορίζει την απουσία αντισωμάτων του *T. pallidum*. Σε κάποιες περιπτώσεις πολύ πρώιμου σταδίου σύφιλης, μπορεί να ληφθεί αρνητικό αποτέλεσμα (δείτε την παράγραφο **Περιορισμοί διαδικασίας**).

Ένα αποτέλεσμα «απροσδιόριστου αποτελέσματος» μπορεί να καθορίζει χαμηλό επίπεδο αντισωμάτων σε πρώιμο στάδιο σύφιλης, σύφιλη που θεραπεύτηκε στο παρελθόν, ή τροπικό θήλωμα. Σε τέτοιες περιπτώσεις, το δείγμα πρέπει να υποβάλλεται και πάλι σε δοκιμή. Εάν αυτό δεν είναι δυνατόν, πρέπει να συλλεχθεί φρέσκο δείγμα όσο το δυνατόν συντομότερα και να επαναληφθεί η δοκιμή, λαμβάνοντας υπόψη την κλινική κατάσταση του ασθενούς.

Εάν διαπιστωθεί συγκόλληση στην κοιλότητα ελέγχου, αυτό καθορίζει είτε σφάλμα δοκιμής, ή μη συγκεκριμένη αντίδραση. Εκτός κι αν οι τοπικές διαδικασίες καθορίζουν διαφορετικά, αυτά τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται και πάλι σε δοκιμή εις διπλούν με αμφότερα τα κύτταρα δοκιμής και ελέγχου και με τη χρήση του αρχικού δείγματος. Δείγματα που είναι αντιδραστικά με τα κύτταρα ελέγχου σε τουλάχιστον μία από τις επαναληπτικές δοκιμές θεωρούνται κατ' επανάληψη αντιδραστικά στις δοκιμές MICROSYPH™ ΤΡΗΑ200 και 500. Αυτά τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε δοκιμή με εναλλακτική δοκιμή, π.χ. FTA-ABS και/ή δοκιμή αντιδρασίνης.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΧΡΗΣΗΣ

1. Για την επιβεβαίωση ενός θετικού αποτελέσματος, πρέπει να χρησιμοποιηθεί η δοκιμή FTA-ABS καθώς επιτρέπει διαφοροποίηση μεταξύ των αντισωμάτων IgG και πρώιμων αντισωμάτων IgM. Η δοκιμή FTA-ABS είναι επίσης χρήσιμη σε σύφιλη πολύ πρώιμου σταδίου όπου η δοκιμή αιμοσυγκόλλησης μπορεί να είναι αρνητική.
Για θεραπευτικό έλεγχο συνιστάται η χρήση ποσοτικής δοκιμής όπως η δοκιμή RPR. Αυτό το αντιδραστήριο διατίθεται από την Axis-Shield Diagnostics Ltd.
2. Αν και οι δοκιμές MICROSYPH™ ΤΡΗΑ200 και 500 είναι συγκεκριμένες σε υψηλό βαθμό, έχουν διαπιστωθεί θετικά αποτελέσματα σε ασθενείς που πάσχουν από λέπρα, μολυσματική μονοπυρήνωση και διαταραχές συνδετικού ιστού.
3. Οι ορολογικές δοκιμές, συμπεριλαμβανομένων των MICROSYPH™ ΤΡΗΑ200 και 500 δεν είναι σε θέση να κάνουν διαχωρισμό μεταξύ της σύφιλης και άλλων τύπων παθογόνων τρεπτονημικών μολύνσεων⁸, π.χ. τροπικού θηλώματος⁷. Πρέπει να χρησιμοποιηθούν κλινικές αποδείξεις για τον καθορισμό της υφιστάμενης πάθησης.
4. Τα αντισώματα σύφιλης που εντοπίζονται με τις δοκιμές MICROSYPH™ ΤΡΗΑ200 και 500 παραμένουν μετά από επιτυχή θεραπεία. Συνεπώς, ένα θετικό αποτέλεσμα μπορεί να καθορίζει προηγούμενη ή υφιστάμενη μόλυνση^{6,7,9,10}.
5. Μετά από τη μόλυνση με *T. pallidum*, τα αντισώματα (το αντι-λιποειδές και το τρεπτονημικό) μπορεί να μην παρουσιαστούν έως 1 έως 4 εβδομάδες μετά το σχηματισμό της χαρακτηριστικής αλλοίωσης (συφιλιδικό έλκος) της σύφιλης. Συνεπώς, σε πρωτοπαθή σύφιλη πρώιμου σταδίου, δοκιμές όπως τα MICROSYPH™ ΤΡΗΑ200 και 500 μπορεί να αποδώσουν αρνητικό αποτέλεσμα για ορισμένα δείγματα^{11,12,13}. Σε μολύνσεις σύφιλης προχωρημένου σταδίου,

λανθάνουσας μορφής/θεραπευμένης σύφιλης, τα επίπεδα αντισωμάτων μπορεί να μειωθούν κάτω του ορίου εντοπισμού των δοκιμών MICROSYPH™ ΤΡΗΑ200 και 500 και συνεπώς μπορεί να αποδώσουν αρνητικό αποτέλεσμα. Σε αυτές τις περιπτώσεις, πρέπει να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικές διαδικασίες δοκιμής, π.χ. μικροσκοπική αναγνώριση του *T. pallidum*.

6. Τα αποτελέσματα που λαμβάνονται με τη χρήση συστημάτων ανάγνωσης πλακιδίων πρέπει να ελέγχονται και με χειροκίνητες μεθόδους. Ανάλογα με τις παραμέτρους ανάγνωσης, μπορεί να παρουσιαστεί λανθασμένη ανάγνωση απροσδιόριστων ή συνδυασμένων προτύπων ως οριακά ή αρνητικά.
7. Αυτή η δοκιμή προορίζεται για χρήση με ατομικά (όχι από πλήθος) δείγματα ορού ή πλάσματος.
8. Η χρήση αιμολυμένων δειγμάτων, ορών ατελούς θρομβοποίησης, δειγμάτων πλάσματος που περιέχουν φιβρίνη, ή δειγμάτων με μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να οδηγήσουν σε λανθασμένα αποτελέσματα.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Ιδιαιτερότητα

Υποβλήθηκαν σε δοκιμή 1000 δείγματα από δότες (500 ορού και 500 πλάσματος) στο εργαστήριο με μία παρτίδα αντιδραστηρίων και υποβλήθηκαν σε δοκιμή άλλα 1000 δείγματα από δότες (500 ορού και 500 πλάσματος) με δεύτερη παρτίδα αντιδραστηρίων και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω.

Αριθμός δειγμάτων	Παρτίδα αντιδραστηρίου	Αριθμός θετικών ή απροσδιόριστων δειγμάτων		Ιδιαιτερότητα
		Αρχική	Επανάληψη	
500 ορού	1	0	0	100%
500 πλάσματος	1	2	0	100%
500 ορού	2	0	0	100%
500 πλάσματος	2	0	0	100%

Ιδιαιτερότητα με ενδεχομένως αλληλο-αντιδραστικά δείγματα

71 ενδεχομένως αλληλο-αντιδραστικά δείγματα υποβλήθηκαν σε δοκιμή στο εργαστήριο με μια παρτίδα αντιδραστηρίων και άλλα 72 δείγματα υποβλήθηκαν σε δοκιμή στο εργαστήριο με δεύτερη παρτίδα αντιδραστηρίων και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω.

Αριθμός δειγμάτων	Παρτίδα αντιδραστηρίου	Νο. Αριθμός θετικών ή απροσδιόριστων δειγμάτων	Ιδιαιτερότητα
71 (δείτε σημείωση 1)	1	0	100%
72 (δείτε σημείωση 2)	2	0	100%

Σημείωση 1: 18 θετικά για το ρευματοειδή παράγοντα, 9 θετικά για την ασθένεια Lyme, 5 θετικά για αντι-καρδιολιπίνη, 16 προγεννητικά, 12 θετικά για HCV, 6 θετικά για HIV και 5 θετικά για HBV δείγματα

Σημείωση 2: 18 θετικά για το ρευματοειδή παράγοντα, 9 θετικά για την ασθένεια Lyme, 5 θετικά για αντι-καρδιολιπίνη, 16 προγεννητικά, 12 θετικά για HCV, 6 θετικά για HIV και 6 θετικά για HBV δείγματα

Ευαισθησία

137 δείγματα διαπιστώθηκαν θετικά με τη χρήση δοκιμών ELISA όταν υποβλήθηκαν σε δοκιμή στο εργαστήριο με δύο παρτίδες αντιδραστηρίων και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω.

Αριθμός δειγμάτων	Παρτίδα αντιδραστηρίου	Αριθμός αρνητικών δειγμάτων	Ευαισθησία
137	1	3	97,8%
137	2	2	98,5%

ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ

Οι δοκιμές MICROSYPH™ TRHA200 και 500 έχουν παρουσιάσει αντίδραση συγκόλλησης 50% με το παρασκεύασμα αναφοράς WHO 3-1980 σε τίτλο μεταξύ 1/2560 και 1/10240 με τη χρήση τριών παρτίδων αντιδραστηρίων και πέντε χειριστών.

ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ /

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./VDT/RES/77.65.
3. **Rathlev, T.** (1967). Haemagglutination test utilising pathogenic *Treponema pallidum* for the sero-diagnosis 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 Health and Human Services. "*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*", 5th edition, Washington, DC: US Government Printing Office, January 2007.

SYMBOLS ΣΥΜΒΟΛΑ



Διαγνωστική in vitro



Αριθμός καταλόγου



Παρτίδα



200 δοκιμές



500 δοκιμές



Προσοχή, διαβάστε τα συνοδευτικά έντυπα



Ημερομηνία λήξης



Αποθηκεύστε σε θερμοκρασία 2-8°C



Κύτταρα δοκιμής



Κύτταρα ελέγχου



Αραιωτική ουσία



Θετικός (αντιδραστικός) έλεγχος



Αρνητικός (μη αντιδραστικός) έλεγχος



Διεθνής Κωδικός Μονάδων Εμπορίας



Παρασκευάζεται / Κατασκευάζεται από:

Axis-Shield Diagnostics Limited

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

Τηλ.: +44 (0) 1382 422000, Φαξ: +44 (0) 1382 422088.

Διεύθ. ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: shield@uk.axis-shield.com

Ιστότοπος: 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