

Syfilis TPHA

Reagencie pro kvalitativní a semi-quantitativní stanovení protilátek proti *Treponemě pallidum* v lidském séru nebo plazmě

REF	Obsah
401040	100 testů - 1 x 7,5 mL testovacích buněk - 1 x 7,5 mL kontrolních buněk - 2 x 10 mL rozpouštědlo - 1 x 1 mL pozitivní kontrola - 1 x 1 mL negativní kontrola
408050	200 testů - 2 x 7,5 mL testovacích buněk - 2 x 7,5 mL kontrolních buněk - 4 x 10 mL rozpouštědlo - 1 x 1 mL pozitivní kontrola - 1 x 1 mL negativní kontrola
408060	500 testů - 1 x 37,5 mL testovacích buněk - 1 x 37,5 mL kontrolních buněk - 2 x 50 mL rozpouštědlo - 1 x 5 mL pozitivní kontrola - 1 x 5 mL negativní kontrola
MP041	5 x 96 testů - Mikrotitrační destička každá s 96 jamkami, s kulatým dnem

Pouze pro profesionální in vitro diagnostické použití

OBCENÉ INFORMACE

Metoda	hemaglutinace
Životnost	21 měsíců od data výroby
Skladování	2 – 8 °C

ÚČEL POUŽITÍ

Test syfilis TPHA je určen pro kvalitativní a semi-quantitativní stanovení protilátek proti *Treponemě pallidum* v lidském séru nebo plazmě.

DIAGNOSTICKÝ VÝZNAM

Syfilis je pohlavní choroba zapříčiněná infekcí *T. pallidum*. K přenosu *T. pallidum* dochází přímým kontaktem s produktivní lézí. Inkubační doba je přibližně 20 dnů a choroba přechází 3 různými stádii s rozdílnou symptomatologií. Protilátky proti *T. pallidum* se objevují v první fázi a mohou přetrvávat u 85-90% léčených pacientů potom co byli léčeni a vyléčeni.

PRINCIP TESTU

TPHA (*Treponema pallidum* hemaglutinace) je nepřímý hemaglutinační test pro kvalitativní a semi-quantitativní stanovení specifických protilátek proti *T. pallidum* v lidském séru. Stabilizované ptačí erythrocyty senzibilizované antigenním roztokem *T. pallidum* aglutinují v přítomnosti protilátek proti *T. pallidum* za vzniku charakteristických vzorů.

SLOŽENÍ REAGENCIE

R1: Testovací buňky (TC)	Stabilizované vtačí erythrocyty senzibilizované <i>T. pallidum</i> (Nichols) antigeny. Konzervant, pH 7.2
R2: Kontrolní buňky (CC)	Stabilizovaná suspenze ptačích erythrocytů. Konzervant, pH 7.2
R3: Rozpouštědlo (DIL)	Fosfátový solný pufr, pH 7.2, extrakt <i>T. pallidum</i> (Reiter), Konzervant
Kontrola +	Imunní lidské sérum předředěné 1:20, Konzervant
Kontrola -	Zvířecí sérum, Konzervant

PŘÍPRAVA REAGENCIE

Reagencie je kapalná a je připravena k použití.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Všechny složky kitu zůstanou stabilní do data expirace uvedeného na označení, pokud je skladován pevně uzavřený při 2-8°C a během použití se zabraňuje kontaminaci. Nezamrazujte. Zamražené reagencie mohou změnit funkčnost testu. Vialky skladujte ve svislé poloze. Vodorovná poloha může způsobit shluky buněk. Znehodnocení reagencii: Přítomnost shluků, částic a zákalu.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Bezprostředně před použitím důkladně zamíchejte nebo vortexujte vialky s testovacími i kontrolními buňkami.
- Mikrotitrační destičku držte mimo vibrací, tepla a přímého slunečního světla.
- Aglutinační vzor kontrolních buněk se nemá používat jako reference pro negativní výsledky, protože kontrolní buňky poskytují kompaktnější shluky jako testovací buňky.
- Séra s vysokými hladinami protilátek mohou vykazovat aglutinační vzory s velice strukturovanými okraji.

ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKU

Čerstvé sérum nebo plazma. Stabilní 8 dnů při 2-8 °C nebo 3 měsíce při -20°C. Vzorky s přítomností fibrinu je třeba před testováním centrifugovat. Nepoužívejte vysoce hemolyzované nebo lipemické vzorky.

POSTUP TESTU

Kvalitativní metoda

1. Reagencie a vzorky nechte dosáhnout pokojovou teplotu.
2. Sérum zředte 1:20 rozpouštědlem (10 μ L séra + 190 μ L rozpouštědla)
3. Pipetujte do vedlejších jamek mikrotitrační destičky:

Vzorek 1:20 nebo kontroly (μ L)	25	25
Kontrolní buňky (μ L)	75	-
Testovací buňky (μ L)	-	75

4. Mikrotitrační destičku důkladně zamíchejte do kompletní homogenizace míchané reakce.
5. Mikrotitrační destičku zakryjte a inkubujte při pokojové teplotě po dobu 45-60 min.
6. Makroskopicky vyhodnoťte aglutinační vzory buněk.

Semi-quantitativní metoda

1. Vytvořte dvojnásobná ředění vzorku předředěného 1:20 rozpouštědlem.
2. Otestujte každé ředění podle popisu v kvalitativní metodě.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Odečtete výsledky porovnáním aglutinačních vzorů testovacích buněk s kontrolními buňkami (Poznámka 3). Měření jsou ohodnocena a označována podle následujících kritérií:

Stupeň aglutinace	Měření	Výsledek
Hladký povlak buněk pokrývající celé dno jamky, někdy se strukturovanými okraji.	4+	Reaktivní
Hladký povlak buněk pokrývající část dna jamky	3+	Reaktivní
Hladký povlak buněk obklopený červeným kruhem	2+	Reaktivní
Hladký povlak buněk pokrývající menší plochu a obklopený menším červeným kruhem	1+	Reaktivní
Shluk buněk s malou dírkou uprostřed	\pm	Hraniční
Pevný kompaktní shluk buněk, někde s velice malou dírkou uprostřed	-	Negativní

Negativní kontrola by neměla vykazovat žádný aglutinační vzor jako s testovacími tak i kontrolními buňkami.

Pozitivní kontrola by měla vykazovat aglutinační vzor pouze s testovacími buňkami. Jakýkoli aglutinační vzor získaný s kontrolními buňkami ukazuje přítomnost nespecifických protilátek a nemůže být vyhodnocen. Vzorky s hraničním vzorem je třeba opětovně otestovat a uvést jako negativní, pokud bude získán stejný vzor. Reaktivní vzorky je třeba titrovat podle semi-quantitativní metody. Titr séra je definován jako nejvyšší ředění vykazující reaktivní výsledek.

Klinická diagnóza by neměla být učiněna na základě zjištění výsledku jednoho testu, ale měla by zahrnovat klinická i laboratorní zjištění.

KONTROLA KVALITY

Pozitivní a negativní kontroly jsou doporučeny pro monitorování činnosti postupu, jako i porovnávací vzor pro lepší interpretaci výsledků. Všechny výsledky odlišné od negativního kontrolního výsledku budou považovány za pozitivní.

CHARAKTERISTIKY ČINNOSTI

1. **Analytická citlivost:** 0,1 IU/mL proti 1. Mezinárodnímu standardu pro lidské syfilitické plazmové IgG a IgM NIBSC 05/132
2. **Prozonnový efekt:** Nebyl zjištěn prozonnový efekt
3. **Diagnostická citlivost:** 100%
4. **Diagnostická specifická:** 100%

INTERFERENCE

Neinterferují bilirubin (20 mg/dL), hemoglobin (10 g/L), lipidy (10 g/L) a revmatoidní faktory (300 IU/mL). Jiné látky mohou interferovat⁴.

LIMITACE

Test TPHA nemůže rozlišit protilátky proti *T. pallidum* od protilátek proti jiným patogenním treponemám. Doporučuje se, aby byly všechny pozitivní výsledky potvrzeny alternativní metodou jako FTA-Abs.

Falešné pozitivní výsledky byly popsány u vzorků od pacientů s mononukleózou, leprou, boreliózou, autoimunními chorobami a drogovou závislostí. Test TPHA není použitelný při určení efektivní léčby, protože hladina protilátek přetrvává po dlouhou dobu i poté co byla nemoc klinicky vyléčena a test zůstává pozitivní.

LIKVIDACE ODPADU

Postupujte prosím podle místních právních předpisů.

LITERATURA

1. Larsen S. A. et al. Clin. Microbiol. Rev., 1995.
2. M. Janier et al., European Guideline on the Measurement of Syphilis, 2014.
3. Ratnam S et al., Can J Infect Dis Med Microbiol, 2005.
4. Young DS. Effects of Drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press 1995.

