



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

TPHA TEST

TESTE DE HEMAGLUTINAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO QUALITATIVA E SEMIQUANTITATIVA DE ANTICORPOS CONTRA *TREPONEMA PALLIDUM*

1 - SIGNIFICADO CLÍNICO E utilização PRETENDIDA

A sífilis, também conhecida como Lue, é uma doença infecciosa, principalmente transmitida sexualmente. É causada por uma bactéria, *Treponema pallidum*, género Spirochetes, que aparece ao microscópio como um pequeno filamento em forma de espiral. O período de incubação é de cerca de 20 dias e a doença progride através de 3 fases diferentes com diferentes sintomatologias. Os anticorpos anti-T. *pallidum* aparecem na primeira fase e podem persistir nos 85-90% dos doentes tratados após terem sido tratados e curados. O kit TPHA TEST foi concebido para a deteção de anticorpos contra *Treponema Pallidum* em soro e plasma humanos.

Apenas para diagnóstico *in vitro*

2 - PRINCÍPIO DO MÉTODO

O TPHA TEST, Treponema Pallidum Haemagglutination (TPHA), é um teste indireto de hemaglutinação para a deteção e titulação de anticorpos contra o agente causador da sífilis. Eritrócitos de aves estabilizados, sensibilizados com uma solução antigénica de *T. pallidum*, aglutinam na presença de anticorpos anti-T. *pallidum* para dar um padrão característico.

3 - MATERIAIS FORNECIDOS - EMBALAGEM

Produto	Tipo	REF	Conteúdo
TPHA TEST CND: W0105010302 EDMA: 15.01.03.90; RDM: 1425048/R	Teste de látex para aglutinação	UC80500 (100 testes)	1 frasco de plástico contendo Células de Teste: eritrócitos de aves estabilizados, sensibilizados com antigénio de <i>T.pallidum</i> (Nichols), conservante, pH 7,2 (8 mL = 100 testes) 1 frasco de plástico contendo Células de Controlo: suspensão estabilizada de eritrócitos de aves, conservante, pH 7,2 (8 mL = 100 testes) 1 frasco de plástico contendo Diluente: solução salina tamponada com fosfato, pH 8,2, extrato de <i>T. pallidum</i> (Reiter), conservante (20 mL) 1 frasco de vidro contendo Controlo Positivo: soro humano imune pré-diluído 1:20. Conservante (0,5 mL) 1 frasco de vidro contendo Controlo negativo: controlo líquido estabilizado, contém azida de sódio <0,1% (0,5 mL) Embalagem secundária: caixa de cartão.
TPHA TEST CND: W0105010302 EDMA: 15.01.03.90; RDM: 1425059/R	Teste de látex para aglutinação	UC80515 (300 testes)	1 frasco de plástico contendo Células de Teste: eritrócitos de aves estabilizados, sensibilizados com antigénio de <i>T.pallidum</i> (Nichols), conservante, pH 7,2 (24 mL = 300 testes) 1 frasco de plástico contendo Células de Controlo: suspensão estabilizada de eritrócitos de aves, conservante, pH 7,2 (24 mL = 300 testes) 1 frasco de plástico contendo Diluente: solução salina tamponada com fosfato, pH 8,2, extrato de <i>T. pallidum</i> (Reiter), conservante (60 mL) 1 frasco de vidro contendo Controlo Positivo: soro humano imune pré-diluído 1:20. Conservante (1,5 mL) 1 frasco de vidro contendo Controlo negativo: controlo líquido estabilizado, contém azida de sódio <0,1% (1,5 mL) Embalagem secundária: caixa de cartão.
TPHA CONTROLLI CND: W0105080801 EDMA: 15.50.01.01.01; RDM: 1555769/R	Controlos para teste de látex para aglutinação	UD80502 (2x0,5 mL)	1 frasco de vidro com Controlo Positivo: soro humano imune pré-diluído 1:20. Conservante. (0,5 mL) 1 frasco de vidro contendo controlo negativo: controlo líquido estabilizado, contém azida de sódio <0,1% (0,5 mL) Embalagem secundária: caixa de cartão.

Controlo Positivo

Advertência

H317

P261; P272; P501

(2-metil-2H-isothiazol-3-one (Proclin 950)



4 - MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Placas de microtitulação em U (REF. UE91600), cronómetro ou relógio. Pipetas 25-75 µL

5 - PRECAUÇÕES E AVISOS

- TPHA TEST é um kit apenas para diagnóstico *in vitro*, para uso profissional; deve ser utilizado por pessoal de laboratório adequadamente treinado e qualificado.
- Os componentes de origem humana foram testados e considerados negativos para a presença de HBsAg, HCV, e anticorpos contra o VIH (1/2). No entanto, manusear cautelosamente como potencialmente infeccioso.
- Não pipetar com a boca.
- A sensibilidade do teste pode ser reduzida a baixas temperaturas. Deixar que os reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) antes de serem utilizados.
- Não utilizar após a data de validade ou se a embalagem estiver danificada. A qualidade do reagente não pode ser garantida depois da sua data de validade ou se os reagentes forem armazenados em condições inadequadas.
- Devem ser seguidas as precauções normais exercidas no manuseamento de reagentes de laboratório. Eliminar os resíduos seguindo todos os regulamentos locais ou nacionais. Consultar a Ficha de Dados de Segurança do Material para qualquer informação atualizada sobre riscos, perigos ou segurança.
- Todas as operações ligadas à utilização do teste devem ser realizadas em conformidade com as Boas Práticas de Laboratório.
- Todas as amostras devem ser consideradas potencialmente perigosas e manuseadas da mesma forma que um agente infeccioso.
- Este produto é classificado como perigoso de acordo com a atual legislação europeia (ver quadro acima e consultar o MSDS).
- Os Certificados de Análise e a Ficha de Dados de Segurança do produto estão disponíveis no website www.masciabrunelli.it.
- As informações fornecidas neste documento foram elaboradas com o melhor dos nossos conhecimentos e capacidades e representam uma orientação para a utilização adequada do produto, mas sem obrigação ou responsabilidade. Em todo o caso, o utilizador final deve respeitar as leis, regulamentos e





procedimentos locais para o teste de amostras colhidas de diferentes origens humanas e animais, amostras ambientais e para produtos destinados ao consumo humano ou animal. As nossas informações não isentam os nossos clientes da sua responsabilidade de verificar a adequação do nosso produto para o fim pretendido.

- Notificar a Mascia Brunelli Spa e as autoridades competentes de quaisquer incidentes graves que ocorram relacionados com o dispositivo de diagnóstico *in vitro*. complaint@masciabrunelli.it

6 - CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Todos os componentes do kit permanecerão estáveis até à data de validade impressa no rótulo, *quando armazenados hermeticamente fechados* entre 2-8°C e evitadas as contaminações durante a sua utilização. Não congelar: os reagentes congelados podem alterar a funcionalidade do teste.

Manter sempre os frascos na posição vertical. A posição horizontal pode causar aglomerados celulares. Se a posição for alterada, misturar suavemente para dissolver os agregados que possam estar presentes.

Deterioração dos reagentes: Presença de aglomerados, partículas e turbidez.

7 - RECOLHA DE AMOSTRAS

Soro ou plasma fresco. Estável durante 7 dias a 2-8°C ou 3 meses a -20°C. As amostras devem ser descongeladas e misturadas antes de serem testadas. Não utilizar amostras altamente hemolisadas ou lipémicas. As amostras com presença de fibrina devem ser centrifugadas antes de serem testadas.

8 - EXECUÇÃO DO TESTE

Deixar que os componentes do kit atinjam a temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) antes de serem testados.

Teste qualitativo

1. Diluir a amostra 1:20 com Diluente (10 µL de amostra + 190 µL de Diluente)
2. Pipetar para poços adjacentes de uma placa de microtitulação (Nota 1):

Amostra 1:20 ou Controlos (µL)	25	25
Células de controlo (µL)	75	---
Células de teste (µL)	---	75

3. Agitar bem a microplaca até à homogeneização completa da mistura de reação.
4. Cobrir a microplaca e incubar à temperatura ambiente durante 45-60 min. (Nota 2).
5. Examinar macroscopicamente os padrões de aglutinação das células.

Teste semiquantitativo

Seguir para cada amostra o esquema utilizando todos os 7 poços. Testar cada diluição, tal como descrito no método qualitativo.

Poço	1	2	3	4	5	6	7
Diluente (µL)			25	25	25	25	25
Soro 1:20 ou Controlos (µL)	25	25	25	25 do poço 3	25 do poço 4	25 do poço 5	25 do poço 6 eliminar 25µL
Células de controlo (µL)	75	---	---	---	---	---	---
Células de teste (µL)	---	75	75	75	75	75	75
Título	Controlo	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 640	1 : 1280	1 : 2560

9 - LEITURA E INTERPRETAÇÃO

Leia os resultados comparando os padrões de aglutinação das Células de Teste com as Células de Controlo (Nota 3). As leituras são pontuadas e interpretadas de acordo com os seguintes critérios:

Grau de hemaglutinação	Leitura	Resultado
Camada uniforme de células cobrindo todo o fundo do poço, por vezes com as bordas dobradas	4+	Positivo
Camada uniforme de células cobrindo parte do fundo do poço	3+	Positivo
Camada uniforme de células rodeado por um círculo vermelho	2+	Positivo
Camada uniforme de células cobrindo menos área e rodeado por um círculo vermelho mais pequeno	1+	Positivo
Botão de células com um pequeno buraco no centro	±	Duvidoso
Botão compacto de células, por vezes com um buraco muito pequeno no centro.	-	Negativo

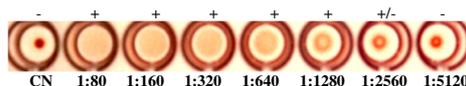
O Controlo Negativo não deve mostrar qualquer padrão de aglutinação tanto com as Células de Teste como com as Células de Controlo.

O Controlo Positivo só deve mostrar padrão de aglutinação com as Células de Teste.

Qualquer padrão de aglutinação mostrado pelas Células de Controlo indica a presença de anticorpos não específicos e não pode ser valorizado.

As amostras com um padrão duvidoso devem ser novamente testadas e reportadas como negativas se apresentar o mesmo padrão.

As amostras reativas devem ser tituladas de acordo com o método semiquantitativo. O título do soro é definido como a diluição mais elevada onde ocorre um resultado reativo.



O diagnóstico clínico não deve ser feito com base nos resultados de um único teste, mas deve integrar tanto os dados clínicos como os do laboratório.

10 - CARACTERÍSTICAS

- **Sensibilidade analítica:** 0,1 IU/mL contra 1st International Standard for human syphilitic plasma IgG and IgM NIBSC 05/132.
- **Sensibilidade diagnóstica:** 100%
- **Especificidade diagnóstica:** 100%
- **Interferências:** as seguintes substâncias não interferem: bilirrubina (20 mg/L), hemoglobina (10 g/L), lipemia (10 g/L) e fatores reumatóides (300 IU/mL). Outras substâncias podem interferir⁴.





11 - NOTAS

1. Agitar vigorosamente ou num vórtex os frascos tanto das Células de Teste como de Controlo imediatamente antes da sua utilização.
2. Manter a microplaca afastada de vibrações, calor e luz solar direta.
3. O padrão de aglutinação das Células de Controlo não deve ser usado como referência para resultados negativos, uma vez que as Células de Controlo dão um botão mais compacto do que as Células de Teste.
4. Soros com um elevado nível de anticorpos podem dar padrões de aglutinação com bordos muito dobrados.

12 - LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- O TPHA TEST não discrimina anticorpos anti-*T. pallidum* de anticorpos contra outros treponemas patogénicos. Recomenda-se que todos os resultados positivos sejam confirmados por procedimentos alternativos como a FTA-Abs.
- Foram descritos resultados falso positivos com amostras de doentes com mononucleose, lepra, borreliose, doenças auto-imunes e toxicod dependência.
- O TPHA TEST não é útil para determinar a eficácia da terapia, uma vez que o nível de anticorpos permanece muito tempo depois de a doença ter sido clinicamente curada e o teste permanecer positivo.
- Como em todos os testes de diagnóstico, um diagnóstico final não pode depender do resultado de um único teste e deve ser apoiado por outros parâmetros clínicos.
- Os componentes deste kit foram sempre testados em conjunto sem verificar a compatibilidade com componentes de outros fabricantes. Embora não excluindo a possibilidade destes componentes poderem ser utilizados com componentes da mesma formulação mas produzidos por outras empresas, não há provas experimentais de tal compatibilidade.

13 - REFERÊNCIAS

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

TABELA DE SÍMBOLOS APLICÁVEIS

	Dispositivo para Diagnóstico <i>in vitro</i>		Limites de temperatura		Código do lote (DXXX)		Fabricante		Conservar seco		Identificador único do dispositivo
	Consultar as Instruções de utilização		Data do prazo de validade		Número de Catálogo		Não reutilizar		Frágil, manipular Com cuidado		Manter afastado da luz solar

HISTÓRICO DE REVISÃO

Versão	Descrição das alterações	Data
Instruções de Utilização (IFU) - Revisão 12	Esquema e conteúdo atualizados	2022/04

Nota: pequenas alterações tipográficas, gramaticais, e de formatação não estão incluídas no histórico de revisões.

