



ISTRUZIONI PER L'USO

TPHA TEST

DETERMINAZIONE QUALITATIVA E SEMI-QUANTITATIVA MEDIANTE EMO-AGGLUTINAZIONE PASSIVA DI ANTICORPI ANTI-*TREPONEMA PALLIDUM*

1 – SIGNIFICATO CLINICO E DESTINAZIONE D'USO

La sifilide, conosciuta anche come lue è una malattia infettiva a prevalente trasmissione sessuale. È causata da un batterio, il *Treponema pallidum*, dell'ordine delle spirochete, che si presenta al microscopio come un piccolo filamento a forma di spirale. Il periodo di incubazione è di circa 20 giorni e la malattia progredisce attraverso 3 diversi stadi con diversa sintomatologia. Gli anticorpi anti-*T. pallidum* appaiono nel primo stadio e possono persistere nell'85-90% dei pazienti trattati dopo essere stati trattati e guariti. Il kit TPHA TEST è progettato per la determinazione di anticorpi anti *Treponema Pallidum* nel siero e plasma umano.

Per solo uso diagnostico *in Vitro*

2 – PRINCIPIO DEL METODO

Il TPHA TEST, *Treponema Pallidum* Haemagglutination (TPHA), è un test di emoagglutinazione indiretta per la determinazione e la titolazione degli anticorpi contro l'agente eziologico della sifilide. Eritrociti aviari stabilizzati e sensibilizzati con una soluzione antigenica di *T. pallidum*, si agglutinano in presenza di anticorpi anti-*T. pallidum* presenti nel campione.

3 – MATERIALI FORNITI – CONFEZIONAMENTO

Prodotto	Tipologia	REF	Confezione
TPHA TEST CND: W0105010302 EDMA: 15.01.03.90; RDM: 1425048/R	Test di agglutinazione al lattice	UC80500 (100 test)	1 flacone di plastica contenente Emazie Test: eritrociti aviari stabilizzati, sensibilizzati con antigeni <i>T. pallidum</i> (Nichols), conservanti. pH 7.2 (8 mL = 100 test) 1 flacone di plastica contenente Emazie di Controllo: sospensione stabilizzata di eritrociti aviari, conservante, pH 7,2 (8 mL = 100 test) 1 flacone di plastica contenente il Diluente: tampone fosfato salino (PBS), pH 8,2. Estratto di <i>T. pallidum</i> (Reiter), conservante. (20 mL) 1 vial di vetro con Controllo Positivo: siero umano immune prediluito 1:20. Conservante. (0,5 mL) 1 vial di vetro con Controllo Negativo: controllo liquido stabilizzato, contiene Sodio azide <0.1% (0,5 mL) Imballo secondario: scatola di cartone.
TPHA TEST CND: W0105010302 EDMA: 15.01.03.90; RDM: 1425059/R	Test di agglutinazione al lattice	UC80515 (300 test)	1 flacone di plastica contenente Emazie Test: eritrociti aviari stabilizzati, sensibilizzati con antigeni <i>T. pallidum</i> (Nichols), conservanti. pH 7.2 (24 mL = 300 test) 1 flacone di plastica contenente Emazie di Controllo: sospensione stabilizzata di eritrociti aviari, conservante, pH 7,2 (24 mL = 300 test) 3 flaconi di plastica contenenti il Diluente: tampone fosfato salino (PBS), pH 8,2. Estratto di <i>T. pallidum</i> (Reiter), conservante. (60 mL) 1 vial di vetro con Controllo Positivo: siero umano immune prediluito 1:20. Conservante. (1,5 mL) 1 vial di vetro con Controllo Negativo: controllo liquido stabilizzato, contiene Sodio azide <0.1% (1,5 mL) Imballo secondario: scatola di cartone.
TPHA CONTROLLI CND: W0105080801 EDMA: 15.50.01.01; RDM: 1555769/R	Controlli per test di agglutinazione al lattice	UD80502 (2x0,5 mL)	1 vial di vetro con Controllo Positivo: siero umano immune prediluito 1:20. Conservante. (0,5 mL) 1 vial di vetro con Controllo Negativo: controllo liquido stabilizzato, contiene Sodio azide <0.1% (0,5 mL) Imballo secondario: scatola di cartone.

Controllo positivo

Attenzione

H317

P261; P272; P501

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



4 – MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Micropiastre fondo a U (REF. UE91600), Orologio o cronometro. *Pipette da 25-75 µL.*

5 – PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- TPHA TEST è un kit per l'uso diagnostico *in vitro*, per il solo uso professionale; deve essere utilizzato da personale di laboratorio qualificato e adeguatamente addestrato.
- I componenti di origine umana, sono stati testati e trovati negativi per HBsAg, HCV e anticorpi HIV(1/2). Tuttavia maneggiare con cura considerando i materiali come potenzialmente infettivi.
- Non pipettare con la bocca.
- La sensibilità del test potrebbe essere ridotta a basse temperature. Portare i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) prima dell'uso.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza e non usare il test se la confezione è danneggiata. La qualità dei reagenti non può essere garantita oltre la data di scadenza o se il kit è conservato in condizioni non appropriate.
- Seguire le normali precauzioni adottate per i reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti in conformità alle normative vigenti a livello locale, regionale o nazionale.
- Tutte le operazioni riferite all'esecuzione del test devono essere condotte in accordo alle Buone Pratiche di Laboratorio.
- Tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente pericolosi e manipolati nello stesso modo di agenti infettivi.
- Questo prodotto è classificato pericoloso in accordo alla Legislazione Europea vigente (consultare la scheda dati di sicurezza).
- Il Certificato di Analisi e la Scheda Dati di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito web: www.masciabrunelli.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.
- Comunicare a Mascia Brunelli Spa e alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo diagnostico *in vitro*.
complaint@masciabrunelli.it



**6 – CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE E DATA DI SCADENZA**

Tutti i componenti del kit rimangono stabili fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta, *se conservati ben chiusi a 2-8°C e se si evitano contaminazioni durante il loro utilizzo. Non congelare: i reagenti congelati potrebbero modificare la funzionalità del test.*

Conservare sempre i flaconi in posizione verticale. La posizione orizzontale può favorire la formazione di aggregati di cellule. Se la posizione viene cambiata, mescolare delicatamente per sciogliere gli aggregati eventualmente presenti.

Deterioramento dei reagenti: presenza di aggregati, particelle e torbidità.

7 – RACCOLTA DEL CAMPIONE

Usare sieri freschi o plasma. I campioni possono essere conservati a +2°C - +8°C per 7 giorni prima di essere utilizzati. Per periodi di tempo superiori il siero deve essere congelato e *utilizzato al massimo dopo 3 mesi.* Campioni ematici, lipemici o contaminati devono essere scartati. *I campioni che presentano fibrina dovrebbero essere centrifugati prima di essere testati.*

8 – PROCEDIMENTO DEL TEST

Lasciare che i componenti del kit raggiungano la temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) prima del test.

Test Qualitativo

- Diluire il campione 1:20 con il Diluente (10 µL campione + 190 µL Diluente)
- Pipettare in pozzetti adiacenti della micropiastra (Nota 1):

Campione 1:20 o Controlli (µL)	25	25
Emazie di Controllo (µL)	75	---
Emazie Test (µL)	---	75

- Mescolare accuratamente la micropiastra fino alla completa omogeneizzazione della miscela di reazione.
- Coprire la micropiastra e incubare a temperatura ambiente per 45-60 min. (Nota 2).
- Esaminare macroscopicamente i pozzetti per valutare l'agglutinazione delle cellule.

Test Semiquantitativo

Seguire per ogni campione lo schema utilizzando tutti i 7 pozzetti. Testare ogni diluizione come descritto nel metodo qualitativo.

Pozzetto	1	2	3	4	5	6	7
Diluente (µl)			25	25	25	25	25
Campione 1:20 o Controlli (µl)	25	25	25	25 dal 4	25 dal 5	25 dal 6	25 dal 7, eliminare 25µl
Emazie di Controllo (µl)	75	---	---	---	---	---	---
Emazie Test (µl)	---	75	75	75	75	75	75
Titolo	Control	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 640	1 : 1280	1 : 2560

9 – LETTURA E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Leggere i risultati confrontando l'agglutinazione del Test Cells con quella del Control Cells (Nota 3). Le letture devono essere valutate secondo i seguenti criteri:

Grado di agglutinazione	Letture	Risultato
Tappetino di cellule che copre l'intero fondo del pozzetto a volte con bordi piegati	4+	Positivo
Tappetino di cellule che copre parte del fondo del pozzetto	3+	Positivo
Tappetino di cellule circondato da un cerchio rosso	2+	Positivo
Tappetino di cellule che copre un'area minore ed è circondato da un cerchio rosso più piccolo	1+	Positivo
Bottone di cellule con un piccolo foro al centro	±	Borderline
Bottone definito e compatto di cellule, a volte con un piccolo foro al centro.	-	Negativo

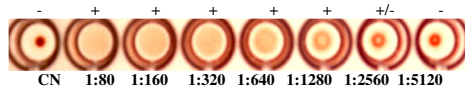
Il controllo negativo non dovrebbe mostrare alcun tipo di agglutinazione sia con le Emazie Test che con quelle di Controllo.

Il Controllo Positivo dovrebbe mostrare solo agglutinazione con le Emazie Test.

Qualsiasi tipo di agglutinazione mostrato dalle Emazie di Controllo indica la presenza di anticorpi non specifici e non può essere interpretato.

I campioni con un'agglutinazione borderline dovrebbero essere ritestati e riportati come negativi se viene riconfermato il risultato.

I campioni positivi devono essere titolati secondo il metodo semiquantitativo. Il titolo del siero è definito come la diluizione più alta che mostra un risultato reattivo.



La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sulla base dei risultati di un singolo test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio.

10 – CARATTERISTICHE

Sensibilità analitica: 0,1 IU/mL, rispetto al 1° standard internazionale per le IgG e le IgM del plasma umano sifilitico NIBSC 05/132.

Sensibilità diagnostica: 100%

Specificità diagnostica: 100%

Interferenze: Le seguenti sostanze non interferiscono: bilirubina (20 mg/dL), emoglobina (10 g/L), lipidi (10 g/L) e fattori reumatoidi (300 IU/mL). Altre sostanze potrebbero interferire⁴.

11 – NOTE

- Mescolare vigorosamente o con un vortex i flaconi di entrambe le Emazie (Test e Controllo) immediatamente prima dell'uso.
- Tenere la micropiastra lontano da vibrazioni, calore e luce solare diretta.
- Non usare l'agglutinazione delle Emazie di Controllo come riferimento per i risultati negativi, poiché le Emazie di Controllo danno un bottone più compatto rispetto a quello delle Emazie Test.
- I sieri con un alto livello di anticorpi possono dare agglutinazione con bordi molto ripiegati.

12 – LIMITI DEL METODO



- Il test TPHA non può discriminare gli anticorpi anti-T.pallidum dagli anticorpi contro altri treponemi patogeni. Si raccomanda che tutti i risultati positivi debbano essere confermati da procedure alternative come FTA-Abs.
- Risultati falsi positivi sono stati descritti con campioni di pazienti con mononucleosi, lebbra, borreliosi, malattie autoimmuni e tossicodipendenza.
- Il test TPHA non è utile per determinare l'efficacia della terapia, poiché il livello di anticorpi rimane a lungo dopo che la malattia è stata clinicamente guarita e il test rimane positivo.
- Come per tutti i test diagnostici, una diagnosi clinica definitiva non può basarsi sul risultato di un singolo test, ma deve essere confermata da ulteriori analisi.
- I componenti di questo I.v.D. sono stati sempre testati insieme senza compatibilità con componenti di altri produttori. Pur non escludendo la possibilità che questi componenti possano essere utilizzati con componenti della stessa formulazione ma prodotti da altre aziende, non ci sono prove sperimentali di tale compatibilità.

13 – BIBLIOGRAFIA

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. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed AACC Press, 1995.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti di temperatura		Codice del lotto (DXXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto		Identificatore dispositivo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)		Numero di catalogo		Non riutilizzare		Fragile, maneggiare con cura		Tenere lontano dal calore

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'uso (IFU) - Revisione 12	Aggiornamento del contenuto e del layout	2022/04

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

