SIFILIDE TPHA

Determinazione qualitativa e semiquantitativa mediante emo-agglutinazione passiva di anticorpi anti-Treponema pallidum

PRINCIPIO DEL TEST
Gli anticorpi anti-Treponema Pallidum, contenuti nel siero o nel plasma del campione, causano l'agglutinazione di emazie ricoperte di estratti antigenici di Treponema Pallidum.

CAMPIONI
Siero o plasma citrato non emolizzati.
Stabilità 7 giorni a 2-8°C. per periodi di conservazione più lunghi conservare a -20°C.
I campioni congelati devono essere scongelati e mescolati accuratamente prima dell'uso.

REAGENTI

Emazie test
emazie di pollo tannate e ricoperte con antigene estrattivo totale di Treponema Pallidum coltivato in testicoli di coniglio; conservanti e stabilizzanti.

Emazie controllo
Emazie di pollo non sensibilizzate; conservanti e stabilizzanti.

Diluente
Soluzione salina; conservanti e stabilizzanti.

Controllo positivo
Soluzione stabilizzata, di origine umana, di Anticorpi anti-Treponema Pallidum a titolo tale da dare una agglutinazione evidente.

Controllo Negativo
Soluzione proteica non reattiva con la sospensione

PREPARAZIONE DEI REAGENTI
I reattivi sono pronti all'uso.
Le sospensioni di Emazie vanno rese omogenee agitandole molte volte per dolce inversione. Stabilità: fino alla scadenza indicata in etichetta conservati a 4°C. Non congelare.

MATERIALI NECESSARI NON FORNITI
Normale strumentazione di laboratorio.
Micropiastra a fondo a "U", micropipette, centrifuga, provette da centrifuga.

PRECAUZIONI
Tutti i Reattivi contengono sodio azide 0.095%.
Il reagente può contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura. A scopo cautelativo è comunque opportuno evitare il contatto con la pelle e l'ingestione. Utilizzare le normali precauzioni previste per il comportamento in laboratorio.

PROCEDIMENTO QUALITATIVO
Predisporre delle diluizione del siero in esame pipettando, in una micropiastra a fondo a "U", secondo lo schema riportato, diluente e siero. Utilizzando la medesima pipetta (aspirando e scaricando più volte) miscelare accuratamente il contenuto del pozzetto prima di trasferirlo nel pozzetto successivo. Scaricare 25 µl dall'ultimo pozzetto di ogni serie. Utilizzare controllo positivo e controllo negativo come i campioni.
Il TPHA è per un numero cospicuo di campioni e le confezioni prevedono una ridotta quantità di Emazie Controllo. Lo screening deve essere eseguito la prima volta utilizzando solo le Emazie test, poi deve essere ripetuto con le Emazie di controllo per i campioni che risultano positivi al passaggio precedente.

Reagenti	Pozzetto 1	Pozzetto 2	Pozzetto 3
Diluente Campione	40 µl 10 µl	25 µl 25 µl dal poz.1	25 µl 25 µl dal poz.2 (scartare25 µl)
Emazie test			75 µl
Agitare dolcemente la micro piastra per ottenere una corretta miscelazione dei reagenti nei pozzetti. Incubare al riparo dalle vibrazioni per 60 minuti.			

In caso di risultato positivo ripetere l'analisi utilizzando anche le emazie controllo come riportato di seguito

Reagenti	Pozzetto 1	Pozzetto 2	Pozzetto 3
Diluente Campione	40 µl 10 µl	25 µl 25 µl dal poz.1	25 µl 25 µl dal poz.2 (scartare 25 µl)
Emazie test	--	--	75 µl
Emazie controllo	--	75 µl	--

Agitare dolcemente la micropiastra per ottenere una corretta miscelazione dei reagenti nei pozzetti. Incubare al riparo dalle vibrazioni per 60 minuti

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI
Il risultato negativo è evidenziato dalla comparsa di un precipitato netto di emazie non agglutinate (fondello), mentre il risultato positivo è contraddistinto dalla presenza di un emoagglutinato uniformemente distribuito su tutto il fondo del pozzetto. Risultati intermedi, per esempio un anello di emoagglutinazione con fondello al centro, indicano risultati dubbi. Il pozzetto 2 (pozzetto di controllo) deve dare risultato negativo per indicare l'idoneità del campione ad essere sottoposto al test, infatti eventuali agglutinati dipendono da agglutinine aspecifiche che invalidano il test e che devono essere rimosse per incubazione di 25 µl di campione con 500 µl di emazie controllo per 30 minuti e successiva centrifugazione. Utilizzare il surnatante nella esecuzione del test.

PROCEDIMENTO SEMIQUANTITATIVO
Seguire lo schema riportato per il procedimento qualitativo proseguendo le diluizioni fino al 10° pozzetto.

Reagenti	Pozz. 1	Pozz. 2	Pozz. 3	…	Pozz. 10
Diluente Campione	40 µl 10 µl	25 µl 25 µl dal poz.1	25 µl 25 µl dal poz.2	… …	25 µl 25 µl dal poz.9

scartare 25 µl dall'ultimo pozzetto

Emazie test Emazie controllo	- -	- 75 µl	75 µl -	…	75 µl -
Titolo	--	--	1 : 80	…	1 : 10240
La diluizione del campione finale dopo la dispensazione delle emazie va da 1:80 fino a 1:10240.					

Agitare dolcemente la micropiastra per ottenere una corretta miscelazione dei reagenti nei pozzetti. Incubare al riparo dalle vibrazioni per 60 minuti

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI
Secondo le modalità illustrate precedentemente valutare l'ultimo pozzetto che dimostra una emoagglutinazione distinguibile.
Affinché i risultati siano validi il controllo negativo deve mostrare una reazione negativa, mentre il controllo positivo deve esibire un titolo compreso tra 640 e 2560.

NOTA
- Il test da risposte positive anche in caso di Sifilide trattata.
- Tutti i reattivi sono testati per HIV e HBsAg risultando negativi. Tuttavia vanno considerati come potenzialmente pericolosi.
- Come per qualunque procedimento diagnostico, se i risultati sono incompatibili con la presentazione clinica, il medico dovrebbe valutare i dati ottenuti usando questo test alla luce di altre informazioni cliniche.
- Solo per uso diagnostico in vitro.

CALIBRAZIONE
Il kit viene fornito di controlli che dovrebbero essere sempre usati per poter distinguere una eventuale agglutinazione di fondo del reattivo.

PRESTAZIONI DEL TEST

Precisione
n = 10 saggi su campione positivo
CV = 8.1 % Accuratezza = -2.5%

Specificità
Due studi indipendenti su 2900 sieri di donatori hanno dato il 100 % di consensi con altri metodi esistenti in commercio.
Uno studio indipendente su 200 sieri prenatali ha dimostrato una specificità pari al 100 %.

Sensibilità
Uno studio su 110 campioni positivi ha dato il 100 % di risultati positivi. Questi includevano 2 campioni risultati negativi testandoli con un altro test TPHA in commercio, ma confermati positivi da metodo FTA e IgM EIA.

Interferenze
False positività sono state riscontrate in caso di Lebbra, Mononucleosi infettiva e malattie del connettivo.

CONSIDERAZIONI SULLO SMALTIMENTO
Il prodotto è destinato all'utilizzo all'interno di laboratori di analisi professionali. Per un corretto smaltimento dei rifiuti fare riferimento alla normativa vigente e alle schede informative in materia di sicurezza.

CONFEZIONI

CODICE L-412	**(100 TESTS)**
Emazie test	1 x 8 ml
Emazie controllo	1 x 5 ml
Diluente	1 x 25 ml
Controllo Positivo	1 x 0.5 ml
Controllo Negativo	1 x 0.5 ml

BIBLIOGRAFIA
Tomizawa T. e coll. – Jap. J. Sci. Biol. 19; 305 (1966). Sequiera P.J.L. e coll. – Brit. J. Vener. Dis. 49; 242 (1972).

PRODUTTORE
Intermedical srl
Via A. Genovesi 13 80010
tel. ++39 0813302705
fax. ++39 0813301453
e-mail. mail@intermedical-italy.it
website. http://www.intermedical-italyit

LEGENDA SIMBOLI

⚠	Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso
IVD	Solo per uso diagnostico *in vitro*
2°C – 30°C	Conservare a 2-8°C
Σ	N°determinazioni per kit
	Usare entro
LOT	Numero del lotto
	Fabbricante
	Non riutilizzare
REF	Codice #

Rev. 0 05/2016

Fabbricante INTERMEDICAL s.r.l. Via A.Genovesi,13 80010 Villaricca(Na)-ITALY