

KÓD 36005 200 testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C
Reagenty pro měření TPHA Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> diagnostiku



TPHA



Hemaglutinace

PRINCIP METODY

Protilátky přítomné v lidském séru reagují s *Treponema pallidum* za vzniku aglutinace ptačích erytrocytů senzitivních k antigenu *T. pallidum*^{1,2}.

OBSAH

- A. Senzibilizované buňky. 15 mL. Stabilizovaná suspenze ptačích erytrocytů senzibilizovaná s purifikovaným antigenem *T. pallidum*, azid sodný 0,95 g/L.
- B. Kontrolní buňky. 15 mL. Stabilizovaná suspenze ptačích erytrocytů, azid sodný 0,95 g/L
- C+. Pozitivní kontrola. 1 mL. Imunizované zvířecí sérum, azid sodný 0,95 g/L.
- C-. Negativní kontrola. 1 mL. Sérum, azid sodný 0,95 g/L.
- D. Reagent. 40 mL. Fosfátový pufr, pH 7,2, *T. pallidum* (Reiter) extrakt, azid sodný 0,95 g/L.

SKLADOVÁNÍ

Skladování při 2-8°C.

Reagenty, buňky a kontroly jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku pokud jsou těsně uzavřené a je zabráněno jejich kontaminaci během použití.

Znamky zhoršení kvality:

- Buňky: Viditelná aglutinace v lahvičce.
- Reagenty a kontroly: Přítomnost částic

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

A. Senzibilizované buňky a **B.** kontrolní buňky. Před použitím lahvičky promíchejte do zhomogenizování jejich obsahu (Poznámka 1).
Reagenty a kontroly jsou připraveny k použití - ready to use.

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- Mikrotitrační destičky s prohloubeným dnem (U dnem).

VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním postupem. Vzorek je stabilní 2 dny při 2-8°C.
Naředte vzorek 1/20 reagentem D. Jednou naředěné vzorky jsou stabilní 1 den při 2-8°C. Pro titraci pozitivních vzorků, lze použít dvojkové ředění v reagentu D, přičemž ředění 1/20 je výchozí.

POSTUP

1. Vytemperujte reagenty a vzorky na pokojovou teplotu.
2. Pipetujte duplicitně do dvou různých mikrotitračních jamek po 25 µL od každého naředěného vzorku, pozitivní kontroly (C+) a negativní kontroly (C-).
3. Do první ze dvou duplicitní jamky každého vzorku nebo kontroly přidejte 75 µL senzibilizovaných buněk (A), a do druhých duplicitních jamek přidejte 75 µL kontrolních buněk (B).
4. Promíchejte obsah destičky lehkým poklepem na její stranu.
5. Přikryjte jamky a inkubujte je při pokojové teplotě (15-30°C) po dobu 1 hodiny.

ODEČÍTÁNÍ

Sledujte makroskopicky vzniklé usazeniny v jamkách. Výsledky musí být odečteny srovnáním sedimentů v jamkách s testovacími krvinkami, se sedimenty v jamkách s kontrolními krvinkami. Výsledek se vyhodnocuje a interpretuje podle následujících kritérií:

Degree of agglutination	Reading g	Result
Jemné shluky buněk pokrývající celé dno jamky.	4+	Pozitivní
Jemné shluky buněk částečně pokrývající celé dno jamky.	3+	Pozitivní
Jemné shluky buněk ohraničené slabým červeným kruhem buněk.	2+	Pozitivní
Jemné shluky buněk ohraničené slabým červeným kruhem buněk.	1+	Pozitivní

Shluk buněk s malým otvorem uprostřed.	±	Nejasná
Kompaktní shluk buněk někdy s malým otvorem uprostřed.	--	Negativní

KONTROLA KVALITY

Pozitivní (C+) a negativní (C-) kontrola dodávaná v soupravě by měla být testována společně se vzorky, aby se ověřila spolehlivost testu.

Pozitivní kontrola (C+): jasně viditelná aglutinace senzibilizovaných buněk (A) a zároveň žádná aglutinace s kontrolními buňkami (B).

Negativní kontrola (C-): bez aglutinace u obou buněk.

Agglutinace pozorovaná u kontrolních buněk (B) znamená nespecifickou aglutinaci. Tento vzorek nemůže být testován touto soupravou.

Každá laboratoř by si měla stanovit svoji vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

CHARAKTERISTIKA TESTU

- Analytická citlivost: Ekvivalent citlivosti byl zjištěn za použití W.H.O. referenčního séra pro diagnostiku *Treponemových* infekcí, ref.3-1980 (Institut Alfred Fournier)
- Falešné výsledky: Výsledky získané touto soupravou nevykazovaly systematické rozdíly při porovnání s referenčními reagenty. Podrobnosti o porovnávací zkoušce jsou k dispozici na vyžádání.
- Ačkoliv je sérový vzorek doporučován pro stanovení, plasma-EDTA může být také použita. Jakákoliv pozitivní, i falešné pozitivní plazmová reakce by měla být oznámena a potvrzena s novým pacientovým sérem.
- TPHA výsledky testů zůstávají pozitivní ještě dlouho po začátku léčby a proto není vhodný pro stanovení účinnosti léčby antibiotiky.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Zjištěná přítomnost protilátek k anti-*Treponema pallidum* v testovaném vzorku metodou TPHA je uváděna jako konfirmační test na syfilis³. Falešně pozitivní výsledek může být nalezen u pacientů s drogovou závislostí, malomocenstvím, infekční mononukleózou a autoimunitními nemocemi. Ačkoliv frekvence falešně pozitivních výsledků je příliš nízká, přesto doporučuje všechny pozitivní výsledky potvrdit jinými *treponemovými* testy⁴. Klinická diagnóza by však neměla být uzavřena jen na základě tohoto výsledku, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní výsledky.

POZNÁMKA

1. Lahvičky skladujte ve vertikální poloze. Skladování lahviček v horizontální poloze může vést k tvorbě buněčných usazenin a tím i ke snížení citlivosti testu.
2. Kontrolní krvinky nepoužívejte jako referenční pro negativní výsledek, protože dávají kompaktnější usazeninu než senzibilizované testovací krvinky.

LITERATURA

1. Tomizawa T, Kasamatsu S, Yamaya S. Usefulness of the Haemagglutination Test Using *Treponema pallidum* Antigen (TPHA) for the Serodiagnosis of Syphilis. *Jap J Med Sci Biol* 1969; 22: 341-350.
2. Sequeira PJL and Eldridge AE. *Treponemal* haemagglutination test. *Brit J vener Dis* 1973; 49: 242 - 248.
3. Larsen SA, Hambie EA, Pettit DE, Perryman MW, Kraus SJ. Specificity, sensitivity and Reproducibility Among the Fluorescent *Treponemal* Antibody-Absorption Test, the Microhemagglutination Assay for *Treponema pallidum*

KÓD 36005 200 testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C
Reagenty pro měření TPHA Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> diagnostiku



TPHA



- Antibodies and the Hemagglutination Treponemal Test for Syphilis. J Clin Microbiol 1981; 14(4): 441-445.
4. Peter CR, Thompson MA and Wilson DL. False-Positive Reactions in the Rapid Plasma Reagin-Card, Fluorescent Treponemal Antibody-Absorbed, and Hemagglutination Treponemal Syphilis Serology Tests. J Clin Microbiol 1979; 9(3):369-372.

UPOZORNĚNÍ

Překlad pořízen k datu: 1.10.2007

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem. Více informací naleznete na internetové adrese: www.biosystems-sa.com nebo na adrese výhradního distributora pro ČR: www.jktrading.cz Šaržové certifikáty zasíláme na vyžádání.