

#### INFORMAZIONI PER L'ORDINE

Formato	Codice	Composizione
Kit 100 test	REF. CSI087244	n° 1 fl. x 7,5 ml (Test Cells) n° 1 fl. x 7,5 ml (Control Cells) n° 2 fl. x 10 ml (Diluyente) n° 1 fl. x 1 ml (Controllo Positivo) n° 1 fl. x 1 ml (Controllo Negativo)

#### USO PREVISTO

Dispositivo medico-diagnostico in vitro per l'esecuzione del test di emoagglutinazione per la rilevazione qualitativa e semiquantitativa di anticorpi specifici del *Treponema pallidum*. I risultati dei test devono sempre essere interpretati in relazione al contesto clinico. Solo per uso professionale.

#### SIGNIFICATO CLINICO

La sifilide è una malattia a trasmissione sessuale determinata dall'infezione con una spirocheta, il *Treponema pallidum*, attraverso lesioni anche minime della cute o delle mucose. Si può avere anche infezione per via transplacentare o durante il passaggio nel canale del parto. E' possibile l'infezione attraverso trasfusioni di sangue fresco.

#### PRINCIPIO DEL METODO

Il TPHA è un set di reattivi per la ricerca degli anticorpi della sifilide. Il componente principale del kit è composto da eritrociti di pollo adsorbiti con antigene da *Treponema pallidum*. Questo kit è stato studiato per essere eseguito con tecniche di micro titolazione.

#### Conservazione e stabilità

**4** = Temperatura di conservazione 2-8 °C

Conservare il reagente e i controlli a 2-8 °C e al riparo dalla luce diretta. Non congelare. Se conservati come sopra descritto i reattivi sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

#### CONTENUTO DEL KIT E COMPOSIZIONE

<b>Cellule test</b> (Tappo Giallo)	Sospensione di eritrociti aviari stabilizzati sensibilizzati con antigeni di <i>Treponema pallidum</i>
<b>Cellule di Controllo (Green Cap)</b>	Sospensione di eritrociti aviari stabilizzati non sensibilizzati
<b>Diluyente</b> (Tappo Bianco)	Tampone fosfato, pH 7.2
<b>Controllo Positivo (Tappo Rosso)</b>	Siero umano immune prediluito 1:20
<b>Controllo Negativo (Tappo Blu)</b>	Siero animale, non reattivo

Tutti i reattivi sopra elencati contengono Sodio Azide 0.95 g/L come conservante.

#### MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

Micropipette volume variabile da 10 a 200 µl; Micropiastrea 96 pozzetti, fondo a U

#### PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- I reattivi e i materiali di rifiuto sono smaltiti conformemente alle disposizioni comunitarie in materia di rifiuti o alle disposizioni nazionali o regionali.
- Oltre alle indicazioni di rischio per i componenti attivi, i reagenti possono contenere componenti non attivi quali conservanti e detergenti. La concentrazione totale di tali componenti è inferiore ai limiti stabiliti dal Regolamento (CE) n. 1272/2008, come modificato e integrato.
- Si raccomanda di manipolare il reagente conformemente alle norme di buona prassi di laboratorio e di utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale.
- Tutti i campioni umani sono manipolati ed eliminati come materiale potenzialmente infettivo. Componenti di origine umana sono stati testati e negativi per la presenza di HbsAg, HCV e anticorpi contro l'HIV (1/2). Tuttavia, maneggiare con cautela come potenzialmente infettivo (livello di biosicurezza 2)
- Il kit deve essere utilizzato solo da personale tecnico qualificato e adeguatamente formato.
- Le diagnosi sono effettuate esclusivamente da personale autorizzato e qualificato.
- Si raccomanda di manipolare il reagente conformemente alle norme di buona prassi di laboratorio e di utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale.
- Rispettare le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e garanzia della qualità.
- Utilizzare attrezzature conformi alle normative vigenti.
- Devono essere utilizzati standard di laboratorio per la protezione contro le infezioni.

#### Segnalazione di incidenti gravi

Si prega di informare il fabbricante (tramite il distributore) e l'autorità competente dello Stato membro dell'Unione europea in cui è stabilito l'utilizzatore e/o il paziente dei casi di incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo. Per le altre giurisdizioni, le segnalazioni di incidenti gravi devono essere effettuate conformemente ai requisiti normativi dello Stato membro d'origine. Segnalando incidenti gravi, contribuisce a fornire maggiori informazioni sulla sicurezza del tuo dispositivo diagnostico medico in vitro.

#### PROCEDURE

##### Controllo Qualità

I controlli positivi e negativi devono essere eseguiti in ogni sessione. Il controllo negativo deve mostrare chiaramente bottone in ogni pozzetto. Il controllo positivo deve mostrare un'agglutinazione uniforme. Il grado di emoagglutinazione deve diminuire dal pozzetto 3 al 9 in modo progressivo.

##### Calibrazione

La sensibilità dei reagenti è calibrata contro il 1° Standard Internazionale per Siero Sifilitico (WHO).

#### PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Utilizzare campioni di siero o plasma. Il campione è stabile 8 gg a 2-8°C o 3 mesi a -20°C. Il campione con tracce evidenti di fibrina deve essere centrifugato prima del test. Non usare campioni emolitici o lipemici.

#### PROCEDIMENTO

1 - Portare tutti i componenti a temperatura ambiente prima dell'uso.

2 - Agitare bene la sospensione di eritrociti prima dell'uso.

Per ogni campione sono richiesti 3 pozzetti per il test qualitativo e 10 pozzetti per il test quantitativo. In ogni seduta analitica devono essere inseriti il controllo positivo ed il controllo negativo.

##### Trattamento del campione

In una micropiastrea pipettare 190µL di diluyente nel pozzetto n° 1.

Solo per il test quantitativo distribuire 25 µL di diluyente dal pozzetto n° 4 al 10.

Aggiungere 10µL del siero in esame nel pozzetto n°1 miscelare e trasferire 25µL nei pozzetti 2 e 3 (test qualitativo) o 2, 3 e 4 (test quantitativo).

Solo per il test quantitativo miscelare accuratamente e trasferire 25µL dal pozzetto n. 4 al n. 5, etc. Scartare i 25µL finali.

##### Trattamento dei controlli

Per entrambi i test (qualitativo e quantitativo) pipettare 25µL di controllo positivo e di controllo negativo ognuno in 2 pozzetti adiacenti (11-12).

##### Esecuzione del test

Aggiungere 75 µL di eritrociti di controllo nel pozzetto n° 2.

Aggiungere 75 µL di eritrociti sensibilizzati nel pozzetto 3 (test qualitativo) o nei pozzetti 3-10 (test quantitativo).

##### Incubazione

Agitare la piastra per 1-2 minuti con un agitatore di piastre orbitale, o con piccoli colpi sul lato della piastra ripetuti più volte. Attenzione alle possibili contaminazioni tra i pozzetti. Coprire la piastra per impedire l'evaporazione e lasciarla su un piano orizzontale senza vibrazioni, a temperatura ambiente, non alla luce diretta, per 45-60 minuti.

##### Risultato ed interpretazione

Dopo 45-60 min. leggere il risultato contro un fondo bianco o usare uno specchio lettore per micropiastre. I risultati sono letti a confronto con i controlli.

**Controllo positivo:** agglutinazione

**Controllo negativo:** assenza di agglutinazione.

Il titolo è espresso come la più alta diluizione che dà ancora una agglutinazione evidente.

La lettura del titolo anticorpale non è riferita alla diluizione iniziale del siero ma alla diluizione del siero nel volume totale (inclusi i globuli rossi). Il siero positivo reagisce con gli eritrociti sensibilizzati ma non reagisce con gli eritrociti di controllo.

Criteri di lettura	Letture	Interpr.
Tappeto di eritrociti disposti a coprire il fondo del pozzetto	+++/++++	Reattivo
Piccolo tappeto con margine rugoso; eritrociti a forma di anello	++/+++	Reattivo
Eritrociti a forma di anello ben delimitato come il controllo	+	Reattivo
Eritrociti a forma di bottone con piccoli fori	+/-	Borderline
Eritrociti a forma di bottone con bordi ben definiti	-	Negativo

Se il siero in esame mostra agglutinazione con gli eritrociti di controllo esso deve essere assorbito con gli eritrociti di controllo per rimuovere l'eccesso di anticorpi eterofili: mescolare 25 µL di siero e 0,5 mL di eritrociti di controllo. Mescolare bene e lasciar riposare per 30 minuti. Centrifugare le cellule per 5 minuti. Il surnatante adsorbito deve essere ristato mescolando 25 µL di surnatante con 75 µL di eritrociti sensibilizzati. Continuare e leggere come per il test qualitativo.

#### CARATTERISTICHE DEL METODO

- Sensibilità Analitica:** determinazione dell'accuratezza del titolo del materiale di riferimento nelle condizioni di analisi descritte (vedi paragrafo calibrazione).
- Effetto prozona:** non è stato riscontrato effetto prozona al disopra del titolo di 1:163.840
- Sensibilità diagnostica:** 99,5%
- Specificità diagnostica:** 100%

#### INTERFERENZE

Emoglobina (≤10 mg/dL), bilirubina (≤ 20 mg/dL) e Fattori Reumatoidi (≤ 300 IU/mL) non interferiscono. Altre sostanze possono interferire.

#### NOTE

Per campioni che mostrano risultato positivo si raccomanda di eseguire altri tests di conferma per completare il profilo del siero in esame. Il TPHA può persistere positivo in pazienti con sifilide trattata. Falsi risultati positivi sono riscontrati in pazienti affetti da lebbra, mononucleosi infettiva e malattie autoimmuni. La diagnosi deve essere basata sulla correlazione dei risultati del test con altri riscontri clinici.

#### Bibliography

- Paris Hamelin et al. *Feuillets de Biologie* 1983; 24(133): 35-42.
- Tomizawa T et al. *Jap. L. Med Sci Biol* 1966; 19: 305-308.
- Tomizawa T et al. *Jap. L. Med Sci Biol* 1969; 22: 341.
- Sandra A Larsen et al. *A manual of Test for Syphilis American Public Health Association* 1990: 1-192.
- Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed AACCC Press, 1995.*

Simboli utilizzati in IFU e Packaging	
IVD	Dispositivo medico diagnostico in vitro
REF	Numero di catalogo
LOT	Numero del lotto
☑	Data di scadenza
☑	Fabbricante
☑	Istruzioni per l'uso
4	Temperatura di conservazione

REVISION	DATE	CHANGES
D	10-2022	Modified for IVDR Compliance