



CORMAY TPHA

Nazwa zestawu	Opakowanie	(PL) Nr kat.
CORMAY TPHA 100	100 testów	6-259

ZASTOSOWANIE

CORMAY TPHA 100 jest testem przeznaczonym do wykrywania (jakościowego) oraz oznaczania (półilościowego) przeciwciał przeciwko *Treponema pallidum* w surowicy i osoczu. Jest stosowany jako pomoc w diagnozowaniu kiły.

Test CORMAY TPHA 100 jest przeznaczony do stosowania manualnie. Wyrób jest przeznaczony tylko do diagnostyki *in vitro*, przez profesjonalnych użytkowników.

WPROWADZENIE

Kiła jest weneryczną chorobą powodowaną przez zakażenie *Treponema pallidum*. Pacjenci cierpiący na tą chorobę wytwarzają dwa rodzaje przeciwciał: przeciwciała niekilowe (reaginy) i przeciwciała kilowe. Przeciwciała kilowe są specyficznymi przeciwciałami skierowanymi przeciwko antygenom powierzchniowym *T. pallidum*. Oznaczanie poziomu przeciwciał kilowych jest jednym z głównych testów diagnostyki kiły.

ZASADA METODY

Stabilizowane ptasie erytrocyty uczulone roztworem antygeny *T. pallidum* ulegają aglutynacji w obecności przeciwciał kilowych (anty-*T. pallidum*).

ODCZYNNIKI

Skład zestawu

CORMAY TPHA 100

TPHA-Krwinki testowe	1 x 7,5 ml
TPHA-Krwinki kontrolne	1 x 7,5 ml
TPHA-Diluent	2 x 10 ml
TPHA-Kontrola (+)	1 x 1 ml
TPHA-Kontrola (-)	1 x 1 ml

Przygotowanie i trwałość odczynnika

Odczynniki i kontrole są gotowe do użycia.

Odczynniki przechowywane w temp. 2-8°C zachowują trwałość do daty ważności podanej na opakowaniu.

Stężenia składników w odczynieku

stabilizowane ptasie erytrocyty uczulone roztworem antygeny <i>T. pallidum</i>	1,5 mmol/l
stabilizowane ptasie erytrocyty	1,5 mmol/l
bufor fosforanowy	1,5 mmol/l
roztwór surowicy ludzkiej	150 mmol/l
roztwór surowicy zwierzęcej	150 mmol/l

Ostrzeżenia i uwagi

- Nie zamrażać odczynników!
- Fiolki przechowywać w pozycji pionowej.

- Odczynniki zawierające składniki pochodzenia ludzkiego przetestowano na obecność HBsAg oraz przeciwciał anti-HCV i anti-HIV z wynikiem ujemnym. Niemniej jednak należy traktować je jako materiał potencjalnie zakaźny.
- Odczynniki konserwowane azydkiem sodu (< 0,1%). Unikaj kontaktu odczynnika ze skórą i błonami śluzowymi.
- Przed użyciem dokładnie wymieszaj fiolki: TPHA-Krwinki testowe i TPHA-Krwinki kontrolne.
- Podczas oznaczenia mikropłytkę trzymać z daleka od wibracji, wysokiej temperatury i bezpośredniego światła słonecznego.
- Mikropłytki powinny być używane do oznaczeń tylko jednokrotnie.
- Test CORMAY TPHA 100 nie różnicuje przeciwciał anti-*T. pallidum* z przeciwciał skierowanych przeciwko innym patogenym krętkom.
- Falszywie pozytywne wyniki mogą wystąpić w przypadku mononukleozy, leprozy, boreliozy, chorób autoimmunizacyjnych, narkomanii.
- Diagnozę można sporządzić tylko po uwzględnieniu symptomów klinicznych i rezultatów innych testów.

WYPOSAŻENIE DODATKOWE

- mikropłytki z dołkami U-kształtnymi;
- ogólne wyposażenie laboratoryjne.

MATERIAŁ BIOLOGICZNY

Surowica lub osocze. Pobrana próbka jest stabilna 7 dni w temp. 2-8°C, w przeciwnym razie próbkę należy zamrozić poniżej -20°C. Próbkę przechowywaną w temperaturze poniżej -20°C należy rozmrozić i delikatnie wymieszać. Próbkę zawierającą fibrynę należy odwirować przed wykonaniem testu. Nie używać próbek mocno zhemolizowanych i lipemicznych. Niemniej zaleca się wykonanie badań na świeżo pobranym materiale biologicznym!

WYKONANIE OZNACZENIA

Przed użyciem wszystkie odczynniki należy delikatnie wymieszać.

Przed oznaczeniem należy rozcieńczyć próbkę 1:20 odczyniekiem TPHA-Diluent (50 µl próbki + 950 µl TPHA-Diluent).

Kontrole nie wymagają rozcieńczenia.

Metoda jakościowa

- Doprowadzić odczynniki do temperatury pokojowej. Czulość testu może być obniżona w niższej temperaturze.
- Napipetować do osobnych pól testowych płytki:

Rozcieńczona próbka lub kontrola	25 µl	25 µl
TPHA-Krwinki kontrolne	75 µl	-----
TPHA-Krwinki testowe	-----	75 µl

- Wymieszać zawartość każdego pola, aby uzyskać jednorodną zawiesinę.
- Zakryć płytkę testową. Odczytać wynik po 45-60 minutach. Nie poruszać płytką podczas inkubacji.
- Sprawdzić obecność aglutynacji porównując wzory aglutynacji.

Odczyt i interpretacja wyników

Sprawdzić obecność aglutynacji porównując wzory aglutynacji próbki z odczyniekiem TPHA-Krwinki testowe i TPHA-Krwinki kontrolne. Wynik przedstawić stosując poniższe kryteria:

Stopień hemaglutynacji	Odczyt	Wynik
Cały spód dołka w płytce pokryty aglutyniną	4+	Pozytywny
Aglutynina pokrywa część dołka w płytce	3+	Pozytywny
Aglutynina tworzy okrąg	2+	Pozytywny
Niewielkie aglutyniny	1+	Pozytywny
Erytrocyty na dnie dołka w płytce tworzą w centrum niewielkie skupisko	+/-	Graniczny
Luźne erytrocyty czasami tworzące w centrum niewielkie skupisko	-	Negatywny

Kontrola negatywna nie może tworzyć aglutynin z odczyniekiem TPHA-Krwinki testowe i TPHA-Krwinki kontrolne

Kontrola pozytywna powinna dawać aglutynację wyłącznie z odczyniekiem TPHA-Krwinki testowe

Powstanie jakiegokolwiek aglutynacji z odczyniekiem TPHA-Krwinki kontrolne wykrywa obecność niespecyficznych przeciwciał i nie powinno być interpretowane.

Próbki z wynikiem granicznym należy oznaczyć jeszcze raz i zinterpretować jako negatywne w przypadku ponownego uzyskania wyniku granicznego.

W próbkach pozytywnych należy oznaczyć miano przeciwciał używając metody półilościowej.

Metoda półilościowa

- Przygotować szereg dwukrotnych rozcieńczeń badanej próbki (wcześniej rozcieńczonej 1:20 odczyniekiem TPHA-Diluent) w odczynieku TPHA-Diluent.
- Wykonać badanie każdej rozcieńczonej próbki jak w metodzie jakościowej.

Odczyt i interpretacja wyników

Wynik w metodzie półilościowej oznacza się jako miano przeciwciał i jest to najwyższe rozcieńczenie, przy którym uzyskano wynik pozytywny.

KONTROLA JAKOŚCI

Zalecane jest prowadzenie pozytywnej i negatywnej kontroli przy badaniach jako weryfikacja przeprowadzonej procedury analitycznej (prawidłowa aktywność odczynnika).

CHARAKTERYSTYKA OZNACZENIA

Czulość analityczna:

0,1 IU/ml względem pierwszorzędowego Międzynarodowego Wzorca dla ludzkich przeciwciał kilowych IgG i IgM (1st IS for human syphilitic plasma IgG and IgM NIBSC 05/132).

Czulość diagnostyczna: 100 %.

Specyficzność diagnostyczna: 100 %.

Interferencje:

Czynnik reumatoidalny do 300 IU/ml, hemoglobina do 10 g/l, bilirubina do 20 mg/dl, triglicerydy do 10 g/l nie wpływają na wyniki oznaczenia.

UTYLIZACJA ODPADÓW

Postępować zgodnie z lokalnie aktualnymi przepisami.

LITERATURA

- Larsen SA. Et al., Clin Microbiol Rev, 1995.
- Janier M et al., European Guideline on the Management of Syphilis, 2014.
- Ratnam S. et al., Can.J Infect Dis Med Microbiol, 2005.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed AACCC Press, 1995.

Data wydania: 07. 2022.

CORMAY TPHA

Kit name	Kit size	(EN) Cat. No
CORMAY TPHA 100	100 tests	6-259

INTENDED USE

CORMAY TPHA 100 test is intended to detect (qualitatively) and measure (semi-quantitatively) anti-*Treponema pallidum* antibodies in serum and plasma. It is used as an aid to diagnosis of syphilis.

CORMAY TPHA 100 test is intended to use manually. It is only for *in vitro* diagnostics, for healthcare professional users.

INTRODUCTION

Syphilis is a venereal disease caused by *Treponema pallidum* infection. A patient suffering this infection produces two kinds of antibodies: non-treponemal antibodies (reagins) and treponemal antibodies. The treponemal antibodies are specific antibodies against surface antigens of these microorganisms. Determination of treponemal antibodies is one of main syphilis tests.

METHOD PRINCIPLE

Stabilized avian erythrocytes sensitized with an antigenic *T. pallidum* solution, agglutinates in the presence of anti-*T. pallidum* antibodies.

REAGENTS

Package	CORMAY TPHA 100
TPHA-Test cells	1 x 7.5 ml
TPHA-Control cells	1 x 7.5 ml
TPHA-Diluent	2 x 10 ml
TPHA-Control (+)	1 x 1 ml
TPHA-Control (-)	1 x 1 ml

Reagent preparation and stability

The reagents and controls are ready to use.

The reagents when stored at 2-8°C are stable up to expiry date printed on the package.

Concentrations in the test

stabilized avian erythrocytes sensitized with <i>T. pallidum</i> antigens	1.5 mmol/l
stabilized avian erythrocytes	1.5 mmol/l
phosphate buffer	1.5 mmol/l
human serum solution	150 mmol/l
animal serum solution	150 mmol/l

Warnings and notes

- Do not freeze reagents.
- Store the vials in vertical position.
- Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HBsAg, HCV, and antibody to HIV (1/2). However handle cautiously as potentially infectious.

- The reagents contain sodium azide (< 0.1%) as a preservative. Avoid contact with skin and mucous membranes.
- Shake vigorously the vials of both TPHA-Test cells and TPHA-Control cells immediately before use.
- During the assay keep the microplate away from the vibrations, heat and direct sunlight.
- Do not reuse the microplates.
- The CORMAY TPHA 100 test cannot discriminate antibodies anti-*T. pallidum* from antibodies to other pathogenic treponemas.
- False positive results have been described with samples of patients with mononucleosis, leprosy, borreliosis, autoimmune diseases and drug addiction.
- Diagnosis should only be made after taking clinical symptoms and the results of other tests into consideration.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- U-well microtitration plates,
- general laboratory equipment.

SPECIMEN

Serum or plasma. Stable 7 days at 2-8°C, otherwise store frozen at below -20°C. Samples frozen at -20 °C or lower should be thawed and mixed prior to testing.

The samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing.

Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

It is recommended to perform the assay with freshly collected samples !

PROCEDURE

Reagent bottles should be shaken gently before use.

Before assay dilute serum 1:20 with TPHA-Diluent (50 µl serum + 950 µl TPHA-Diluent).

Controls do not require dilution.

Qualitative method

- Allow the reagents and samples to reach room temperature. The sensitivity of the test may be reduced at low temperatures.
- Pipette into adjacent wells of a microtitration plate:

Sample 1:20 or Control	25 µl	25 µl
TPHA-Control cells	75 µl	----
TPHA-Test cells	----	75 µl
- Mix thoroughly the microplate till the complete homogenization of the mixing reaction.
- Cover the microplate and incubate at room temperature for 45-60 min. Do not move the microplate during incubation.
- Examine macroscopically the agglutination patterns of the cells.

Reading and interpretation

Read the results by comparing the agglutination patterns of the TPHA-Test cells with the TPHA-Control cells. Readings are scored and reported according to the following criteria:

Degree of hemagglutination	Reading	Result
Smooth mat of cells covering entire well bottom, sometimes with folded edges	4+	Positive
Smooth mat of cells covering part of the well bottom	3+	Positive
Smooth mat of cells surrounded by a red circle	2+	Positive
Smooth mat of cells covering less area and surrounded by a smaller red circle	1+	Positive
Button of cells having a small hole in centre	+/-	Borderline
Definite compact button of cells, sometimes with a very small hole in the centre	-	Negative

The negative control should not show any agglutination pattern with both TPHA-Test cells and TPHA-Control cells.

The positive control should only show agglutination patterns with TPHA-Test cells.

Any agglutination pattern showed by TPHA-Control cells indicates the presence of non-specific antibodies and cannot be interpreted.

Samples with a borderline pattern should be retested and reported as negatives if the same pattern is reproduced.

Reactive samples should be tittered following the semi-quantitative method.

Semi-quantitative method

- Make serial two fold dilutions of the prediluted 1:20 sample in TPHA-Diluent.
- Proceed for each dilution as in the qualitative method.

Reading and interpretation

The result (titer), in the semi-quantitative method, is defined as the highest dilution showing a positive result.

QUALITY CONTROL

Positive and negative controls are recommended to monitor the performance of the procedure, as well as a comparative pattern for a better result interpretation.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity:

0.1 IU/ml against the 1st International Standard for human syphilitic plasma IgG and IgM NIBSC 05/132.

Diagnostic sensitivity: 100 %

Diagnostic specificity: 100 %.

Interferences:

Haemoglobin up to 10 g/l, bilirubin up to 20 mg/dl, triglycerides up to 10 g/l and RF up to 300 IU/ml do not interfere with the test.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local legal requirements.

LITERATURE

- Larsen SA. Et al., Clin Microbiol Rev, 1995.
- Janier M et al., European Guideline on the Management of Syphilis, 2014.
- Ratnam S. et al., Can.J Infect Dis Med Microbiol, 2005.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed AACCC Press, 1995.

Date of issue: 07. 2022.



CORMAY TRHA

Название набора	Кол-во тестов	(RUS) Кат. №.
CORMAY TRHA 100	100 тестов	6-259

ПРЕДПОЛАГАЕМОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Тест CORMAY TRHA 100 предназначен для качественного и полуколичественного определения антител к *Treponema pallidum* (бледной трепонеме) в сыворотке и плазме крови. Используется в качестве вспомогательного средства для диагностики сифилиса. Тест CORMAY TRHA 100 предназначен для ручного определения. Данный тест предназначен только для диагностики *in vitro*, для применения исключительно медицинскими работниками.

ВВЕДЕНИЕ

Сифилис является венерическим заболеванием, вызванным заражением *Treponema pallidum*. Страдающие этой болезнью пациенты производят два вида антител: не-сифилисные антитела (реагины) и сифилисные антитела. Противотрепонемные антитела являются специфическими антителами против поверхностных антигенов этих микроорганизмов. Определение уровня сифилисных антител является одним из основных тестов, позволяющих выявить сифилис.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Стабилизированные птичьи эритроциты, сенсibilизованные раствором антигена *T. pallidum*, подвергаются агглютинации в присутствии сифилисных антител (антител к *T. pallidum*).

РЕАГЕНТЫ

Состав набора

	CORMAY TRHA 100
TRHA-Test cells	1 x 7,5 мл
TRHA-Control cells	1 x 7,5 мл
TRHA-Diluent	2 x 10 мл
TRHA-Control (+)	1 x 1 мл
TRHA-Control (-)	1 x 1 мл

Приготовление и стабильность реагентов

Реагенты и контроли готовы к использованию.

Реагенты при 2-8°С сохраняют стабильность в течение всего срока годности, указанного на упаковке.

Концентрации компонентов в реагентах

стабилизированные птичьи эритроциты, сенсibilизованные раствором антигена <i>T. pallidum</i>	1,5 mmol/l
стабилизированные птичьи эритроциты	1,5 mmol/l
фосфатный буфер	1,5 mmol/l
раствор человеческой сыворотки	150 mmol/l
раствор животной сыворотки	150 mmol/l

Предостережения и примечания

- Не замораживать.
- Флаконы хранить в вертикальном положении.
- Продукты человеческого происхождения были протестированы на гепатит В (HBsAg) и антитела к ВИЧ и гепатиту С (HCV), и оказались неактивными. Тем не менее, с ними необходимо обращаться как с потенциально биологически опасным материалом с соблюдением всех необходимых мер предосторожности!
- Продукты содержат азид натрия (< 0,1%) в качестве консерванта. Избегайте контакта с кожей и слизистыми оболочками.
- Перед использованием тщательно размешать реагенты TRHA-Test cells и TRHA-Control cells.
- При определении предохранять планшеты для микротитрования от вибраций, воздействия высокой температуры, прямого света.
- Планшеты для микротитрования не подлежат повторному использованию.
- Тест CORMAY TRHA 100 не различают антител против *T. pallidum* от антител к другим патогенным трепонем.
- Ложноположительные результаты могут произойти в случае мононуклеозы, лепросы, болезни Лайма, аутоиммунных заболеваний, наркомании.
- Клинический диагноз не может базироваться на результате единичного теста, но должен быть установлен с учетом клинических симптомов и результатов других тестов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- планшет для микротитрования с U-образными лунками;
- общее лабораторное оборудование.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ

Сыворотка или плазма. Сохраняет стабильность в течение 7 дней при температуре хранения 2-8°С, при более длительном периоде храните пробы в замороженном виде при температуре ниже -20°С. Образцы, замороженные при температуре -20°С или ниже, должны быть разморожены и перемешаны перед исследованием.

Пробы, содержащие фибрин, следует отцентрифугировать перед проведением теста.

Не использовать сильно гемолизированные и липемические образцы.

Рекомендуется производить исследования на свежесвятом биологическом материале!

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Перед использованием все реагенты следует аккуратно перемешать.

Перед определением развести пробу 1:20 реагентом TRHA-Diluent (50 мкл образца + 950 мкл TRHA-Diluent). Контроли не требуют разведения.

Качественное определение

- Подогреть реагенты до комнатной температуры. Чувствительность теста может быть понижена при низкой температуре.
 - Разместить в отдельных лунках планшета:
- | | | |
|---------------------------------|--------|--------|
| Разведенная проба либо контроли | 25 мкл | 25 мкл |
| TRHA-Control cells | 75 мкл | ----- |
| TRHA-Test cells | ----- | 75 мкл |
- Вывести содержимое каждого поля, чтобы получить однородную взвесь.
 - Закрывать тестовый планшет. Отчитать результаты по 45-60 минутам. Не сдвигать планшет во время инкубации.
 - Проверить наличие агглютинации, сравнивая образцы агглютинации.

Считывание и интерпретация результатов.

Проверить наличие агглютинации, сравнивая агглютинацию образца с реагентами TRHA-Test cells и TRHA-Control cells. Результаты представить, используя следующие критерии:

Выраженность агглютинации	Считывание	Результат
Вся поверхность углубления покрыта агглютинировавшей массой	4+	Положительный
Агглютинировавшая масса покрывает часть поверхности углубления	3+	Положительный
Агглютинировавшая масса образует окружность	2+	Положительный
Небольшие количества агглютинировавшей массы	1+	Положительный
Эритроциты на дне углубления образуют в центре небольшие скопления	+/-	Граничный
Одиночные небольшие скопления эритроцитов в центре углубления	-	Негативный

Отрицательный контроль не может давать агглютинацию с реагентами TRHA-Test cells и TRHA-Control cells.

Положительный контроль должен давать агглютинацию исключительно с реагентом TRHA-Test cells.

Наличие какой либо агглютинации с реагентом TRHA-Control cells свидетельствует о присутствии неспецифических антител, поэтому не следует интерпретировать подобные результаты.

Образцы с граничными результатами следует протестировать еще раз и интерпретировать как негативные в случае повторного получения граничного результата.

В положительных образцах следует определить титр антител, используя полуколичественный метод.

Полуколичественное определение

- Приготовить последовательность двукратных разведений исследуемого образца (ранее разведенного 1:20 реагентом TRHA-Diluent) с реагентом TRHA-Diluent.
- Провести исследование каждой разведенной пробы как в качественной методике.

Прочтение и интерпретация результатов

Результаты при полуколичественном определении (титр) определяют как наивысшее разведение, при котором получен позитивный результат.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется проведение положительного и отрицательного контролей при исследованиях для верификации произведенной аналитической процедуры (правильная работа реагента).

ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

- Аналитическая чувствительность:** 0,1 МЕ/мл в отношении первого Международного Стандарта для человеческих сифилитических антител IgG и IgM (1st IS for human syphilitic plasma IgG and IgM NIBSC 05/132).

- Диагностическая чувствительность:** 100 %.

- Диагностическая специфичность:** 100 %.

Интерференции:

РФ до 300 МЕ/мл, гемоглобин до 10 г/л, билирубин до 20 мг/дл и триглицериды до 10 г/л не влияют на результаты определений.

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

В соответствии с локальными требованиями.

ЛИТЕРАТУРА

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

Дата создания: 07. 2022.