



DIESSE Diagnostica Senese SpA

Via delle Rose 10, 53035 Monteriggioni SI

Tel. ++39/0577/ 587111 - Fax ++39/0577/318690

ISTRUZIONI PER L'USO

SYPHILIS FAST (TPHA MODIFICATO)

REF 051 50 tests

(Italiano)

1. UTILIZZAZIONE

TEST DI AGGLUTINAZIONE AL LATTICE PER IL DOSAGGIO RAPIDO DEGLI ANTICORPI TOTALI ANTI TREPONEMA PALLIDUM NEL SIERO UMANO CON METODO IN SLIDE.

2. INTRODUZIONE

La diagnosi sierologica della Sifilide si effettua stabilendo se ci sono, nel siero del paziente, anticorpi a titolo significativo, specifici e non per il *Treponema pallidum* (TP).

I metodi attualmente più usati sono: VDRL e TPHA, IgG e IgM ELISA, Ig totali con metodo a competizione.

La VDRL dosa anticorpi aspecifici, rivela positività relative alla fase acuta, ma con grandi problemi di falsi positivi e scarsa sensibilità. Il testo di emoagglutinazione (TPHA) dosa anticorpi specifici per il *Treponema pallidum* ma l'uso di globuli rossi di origine animale porta ad avere delle reazioni aspecifiche (potere emoagglutinante) di alcuni sieri umani.

Il metodo ELISA è da considerare il test più avanzato in uso, data la possibilità di una sua completa automazione, specificità e sensibilità.

Il metodo proposto intende essere un test di screening ad alta specificità, che utilizza lattice di polistirolo sensibilizzato con proteine specifiche del *Treponema pallidum* e può sostituire il test della VDRL e del TPHA, vista la facilità, la velocità di esecuzione e la sua alta specificità e sensibilità. Come per ogni test di screening, un risultato positivo va comunque confermato con altro test.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il sistema DIESSE è costituito da particelle di lattice di polistirolo, sensibilizzate con 3 delle proteine immunodominanti del *Treponema pallidum* (17K, 15K e 42K) ottenute in *E. coli* con tecnica ricombinante. Mettendo in contatto siero umano contenente anticorpi anti-*Treponema pallidum* con il lattice sensibilizzato, si ha la formazione entro 8 minuti di un **agglutinato ben visibile**; in assenza di anticorpi (siero negativo) il lattice rimane disperso uniformemente e non si ha traccia di agglutinazione.

4. COMPOSIZIONE DEL KIT

Portare a temperatura ambiente prima dell'uso.

LATEX LATTICE ADSORBITO (R1) Liofilo 1 x 1.1 mL

Contenuto: Particelle di lattice di polistirolo colorato in blu, sensibilizzate con proteine specifiche del *Treponema pallidum*, stabilizzate e liofilizzate.

Preparazione: Da ricostituire con 1,1 mL di acqua distillata. Portare il lattice a temperatura ambiente prima dell'uso.

CONTROL + SIERO DI CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.5 mL

Contenuto: Siero umano ad alto titolo ELISA, testato con metodica approvata e calibrato in modo tale da essere considerato, per la sua reattività, un siero altamente positivo.

CONTROL - SIERO DI CONTROLLO NEGATIVO 1 x 0.5 mL

Contenuto: Siero di origine animale, completamente non reattivo con il lattice adsorbito.

ALTRO MATERIALE

- 10 Slides per eseguire fino a 11 reazioni contemporaneamente
- 100 Bastoncini per la miscelazione. Usare un bastoncino per ogni determinazione e gettare dopo l'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

- Acqua distillata
- Micropipette con relative punte, da utilizzare nella dispensazione del lattice e del siero, rispettivamente.

- Soluzione fisiologica
- Sorgente luminosa

5. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C.

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo apertura e/o preparazione:

REAGENTE	CONDIZIONI
LATTICE	2 mesi dopo la ricostituzione
CONTROLLO POSITIVO	2 mesi
CONTROLLO NEGATIVO	2 mesi

6. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO. CONSERVARE A 2-8°C.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test approvati dall'FDA sia per la ricerca di HbsAg che per quella degli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 ed anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

Smaltimento dei residui: i campioni di siero e i reagenti usati devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di legge vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni e durante la prova. Lavare accuratamente le mani una volta terminato il test.
2. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere pulita, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per pulire eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.
3. I sieri di controllo contengono come conservante sodio azide 0.09% che, con piombo e rame può formare depositi altamente esplosivi di metallo azidi.

Avvertenze analitiche

1. Prima dell'uso, portare tutti i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (18-30°C). Riporre i reagenti alla temperatura di conservazione raccomandata immediatamente dopo l'uso.
2. Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza. Evitare l'inquinamento microbico dei reagenti poiché ciò riduce la validità del prodotto e può dare luogo a risultati errati.
3. Non modificare la Procedura, né sostituire i reagenti con quelli di altri produttori o da altri lotti, a meno che non sia specificamente riportato che il reagente è intercambiabile fra lotti. Non ridurre i tempi di incubazione raccomandati.
4. Tutta la vetreria da utilizzare nel test deve essere lavata accuratamente con acido cloridrico 2M e sciacquata con acqua distillata o deionizzata.
5. Evitare l'uso di congelatori autosbrinanti per la conservazione dei campioni.
6. Non esporre i reagenti a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e le fasi di incubazione.
7. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, siero non completamente coagulato e contenente globuli rossi o campioni con contaminazioni microbiche.
8. Evitare la contaminazione dello slide con la polvere da guanti monouso.

7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE

Siero ottenuto da sangue prelevato senza alcuna precauzione particolare. Non è richiesta alcuna preparazione particolare del paziente. Non sono state osservate interferenze in seguito all'uso di anticoagulanti come citrato, eparina o EDTA. Il campione può essere mantenuto per 7 giorni a 2/8°C. Per conservazioni più lunghe congelare a -20°C. Un ciclo di congelamento/scongelo dei campioni o un'inattivazione al calore per 30 min a 56°C non influenza i risultati. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.

Campioni fortemente lipemici, itterici o inquinati non dovrebbero essere utilizzati.

8. PROCEDIMENTO*** PROCEDIMENTO MANUALE**

In uno slide a fondo bianco, pipettare 40 µL di siero umano intero e 20 µL di lattice sensibilizzato (R1); **mescolare lattice e campione con un bastoncino sfruttando tutto lo spazio del cerchio** ed agitare per rotazione per 8 minuti.

Leggere sotto una lampada la presenza di un eventuale agglutinato.

Inserire per ogni seduta analitica, il controllo positivo e negativo.

*** PROCEDIMENTO SEMIAUTOMATICO**

Utilizzare i volumi previsti nella metodica manuale e agitare su agitatore meccanico rotante con raggio di 3 cm alla velocità di 100-130 rpm.

*** PROCEDIMENTO SEMIQUANTITATIVO IN SLIDE**

Diluire il campione per raddoppio con fisiologica ed effettuare il test in slide sulle varie diluizioni.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Alla fine degli 8 min di lettura, il controllo positivo deve presentare una evidente e totale agglutinazione, il controllo negativo totale assenza di questa. Se tali condizioni non si verificano accertarsi che i campioni non presentino alternazioni evidenti e quindi ripetere le prove.

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST*** RISULTATI METODO MANUALE/SEMIAUTOMATICO**

POSITIVO: Agglutinazione evidente sul fondo bianco dello slide

NEGATIVO: Agglutinazione assente; fondo omogeneo.

*** RISULTATI METODO SEMIQUANTITATIVO**

Il titolo del siero in esame si ottiene moltiplicando la diluizione per il limite di sensibilità 1/40.

Esempio:

Diluizione	1/2	1/4	1/8
Test Slide	++	+	-
Titolo	1/2 x 1/40 = 1/80		

Sono da considerarsi positivi al limite i campioni con titolo 1/40

11. INTERFERENZE

Non interferiscono le seguenti sostanze:

- Fattore Reumatoide da 60 a 500 UI/mL
- Autoanticorpi da 16 a 12.000 UE/mL
- Trigliceridi <= 870 mg/dl
- Bilirubina <= 2,5 UI
- Anticorpi eterofili <= 1:448
- Emoglobina <= 30 mg/dl
- Anticorpi anti-Borrelia burgdorfi.

12. LIMITAZIONI DEL TEST

In donne in gravidanza si possono verificare false positività.

13. PERFORMANCE

Sono stati analizzati 200 sieri di donatori sani con il Syphilis Fast e con un test di screening immunoenzimatico considerato come riferimento. Si sono trovati 7 falsi positivi. La specificità diagnostica è risultata del 96.5%.

Si sono inoltre controllati 105 sieri positivi, trovando 3 falsi negativi. La sensibilità diagnostica è del 97.1%.

Per titoli >= 81.920 TPHA non è stato osservato effetto prozona.

14. SENSIBILITA' ANALITICA

La sensibilità del metodo è di 0,1 UI/mL, riferito al I° Standard Internazionale, WHO 1958.

15. BIBLIOGRAFIA

1. Luger A.F.H. In: Serological diagnosis of sexually transmitted diseases. New York: M. Dekker Inc. 1988, 249-674.
2. Rathlev T. Haemagglutination test utilizing pathogenic *T. pallidum* for serodiagnosis of syphilis. Br. J. Ven. Dis. 1967; 43: 181-5.3.
3. Veldkamp J. Application of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the serodiagnosis of syphilis. Br. J. Ven. Dis. 1975; 51: 227.
4. De Maio E. et al. Evaluation of a competitive enzyme immunoassay in screening for syphilis. Microbiologica. In pubblicazione, 1995.
5. Berti B. et al. Test di agglutinazione al lattice per lo screening sierologico della sifilide. Poster, AMCLI '95, Ott. 1995.
6. H. Young et al. A new recombinant antigen latex agglutination test (Syphilis Fast) for the rapid serological diagnosis of syphilis. International journal of STD & AIDS, 1998; 9: 196-200.



DIESSE Diagnostica Senese SpA

Via delle Rose 10, 53035 Monteriggioni SI

Tel. ++39/0577/ 587111 - Fax ++39/0577/318690

INSTRUCTIONS FOR USE

SYPHILIS FAST (MODIFIED TPHA)

REF 051 50 tests

(English)

1. INTENDED USE

LATEX AGGLUTINATION TEST FOR THE RAPID ASSAY OF TOTAL ANTI-TREPONEMA PALLIDUM ANTIBODIES IN HUMAN SERUM USING THE SLIDE METHOD

2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

The serological diagnosis of syphilis is performed by revealing the presence of significant levels of specific *Treponema pallidum* (TP) antibodies in the serum. The methods at present most widely used are: VDRL and TPHA, ELISA IgG and IgM, total Ig with "competitive" methods.

VDRL is used to assay non-specific antibodies; it detects acute-phase positive reactions, but poses problems of false-positive results and poor sensitivity. The hemoagglutination test (TPHA) assays antibodies specific for *Treponema pallidum*, but the use of erythrocytes of animal origin leads to non specific reactions (hemoagglutinating power) with some human sera.

The ELISA method is the most advanced technique in use at present, thanks to the possibility of its complete automation, its specificity and sensitivity.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

The system is composed of polystyrene latex particles coated with three of the immunodominant proteins of *Treponema pallidum* (17K, 15K and 42K) obtained in *E. coli* by recombinant technology. When human serum containing anti-*Treponema pallidum* antibodies is placed in contact with the sensitised latex, ***agglutination takes place within 8 minutes, and is easily visible***; in the absence of antibodies (negative serum) the latex remains uniform, and there is no trace of agglutination.

4. KIT CONTENTS

Bring reagents to room temperature before use.

LATEX ADSORBED LATEX (R1) Freeze-dried, 1 x 1.1 mL

Contents: Blue-coloured polystyrene latex particles, coated with specific stabilised and freeze-dried *Treponema pallidum* proteins.

Preparation: To be reconstituted with 1.1 mL of distilled water. Bring the latex to room temperature before use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL SERUM 1 x 0.5 mL

Contents: Positive human serum. The serum is calibrated to be considered highly positive.

CONTROL - NEGATIVE CONTROL SERUM 1 x 0.5 mL

Contents: Serum of animal origin, totally non-reactive with the adsorbed latex.

OTHER MATERIALS

- 10 Slides to perform up to 11 reactions simultaneously
- 100 Mixing sticks. Use a new stick for each test and throw away after use.

OTHER MATERIAL REQUIRED, BUT NOT SUPPLIED

- Distilled water.
- Micropipettes for distribution of latex and sera
- Physiological saline
- Source of light.

5. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C.

The expiry date is printed on each component and on the box label.

Reagents have a limited stability after opening and/or preparation

REAGENT	CONDITIONS
LATEX	2 months after reconstitution
POSITIVE CONTROL	2 months.
NEGATIVE CONTROL	2 months

6. PRECAUTIONS

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY. STORE AT 2-8°C

Caution: *This kit contains materials of human origin which have been tested and gave a negative response by FDA-approved methods for the presence of HbsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. As no diagnostic test can offer a complete guarantee regarding the absence of infective agents, all material of human origin must be handled as potentially infectious. All precautions normally adopted in laboratory practice should be followed when handling material of human origin.*

Waste disposal: *serum samples and reagents once used must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.*

Health and Safety Information

1. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens and performing the assay. Wash hands thoroughly when finished.
2. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1.0% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.
3. Control sera contain Sodium Azide 0.09% as preservative which may react with copper and lead in plumbing to form potentially explosive metal azides.

Analytical precautions

1. Allow all reagents and samples to come to room temperature (18-30°C) before use. Immediately after use return reagents to the recommended storage temperature.
2. Do not use the reagents beyond the stated expiry date. Microbiological contamination of reagents must be avoided as this may reduce the life of the product and cause erroneous results.
3. Do not modify the Test Procedure or substitute reagents from other manufacturers or other lots unless the reagent is stipulated as interchangeable. Do not reduce any of the recommended incubation times.
4. Any glassware to be used with the reagents should be thoroughly washed with 2M hydrochloric acid and then rinsed with distilled water or high quality deionized water.
5. Avoid the use of self-defrosting freezers for the storage of samples.
6. Do not expose reagents to strong light or hypochlorite fumes during storage or during incubation steps.
7. Use of highly hemolyzed samples, incompletely clotted sera, plasma samples containing fibrin or samples with microbial contamination may give rise to erroneous results.
8. Avoid contaminating the slide with the dust from disposable gloves.

7. SAMPLES AND STORAGE

Serum obtained from blood collected without any particular measures.

No special preparation of the patient is necessary. The use of anticoagulants such as citrate, heparin or EDTA does not interfere in the test. Samples can be stored for 7 days at 2-8°C. For longer storage, freeze at -20°C. Freezing/thawing of the samples or heat inactivation for 30 min at 56°C does not influence the results. Do not keep the samples in auto-defrosting freezers.

Strongly lipemic, icteric or contaminated samples should be avoided.

8. PROCEDURE

*** MANUAL TEST PROCEDURE**

Pipet 40 µL of whole human serum and 20 µL of coated latex (R1) into a division on the slide; **mix the latex with the sample over the whole surface of the circle on the slide** using a stick, and rotate for 8 minutes.

Examine under a lamp for the presence of agglutinate.

Include the positive and negative controls in every run.

*** SEMIAUTOMATIC PROCEDURE**

Use the volumes reported for the manual method, and a mechanical rotating shaker, with a radius of 3 cm, at a speed of 100-130 rpm.

*** SEMIQUANTITATIVE METHOD IN SLIDE**

Dilute the sample by doubling dilutions in saline and perform the test in slide on the different dilutions.

9. TEST VALIDATION

After 8 minutes incubation time, the positive control must present evident, total agglutination; the negative control must present no agglutination.

10. INTERPRETATION OF THE TEST*** RESULTS MANUAL/SEMIAUTOMATIC METHOD**

POSITIVE: Evident agglutination against the white background of the slide.

NEGATIVE: No agglutination; homogeneous appearance.

*** RESULTS SEMIQUANTITATIVE METHOD**

The titre of the serum sample is give by multiplying the dilution by the sensitivity limit 1/40.

Example:

Dilution	1:2	1:4	1:8
Slide Test	++	+	-
Titer	$1/2 \times 1/40 = 1/80$		

Samples with titers of 1/40 should be considered borderline positive.

11. INTERFERING SUBSTANCES

The following substances do not interfere in the test :

- Rheumatoid factor from 60 to 500 IU/mL
- Autoantibodies from 16 to 12.000 EU/mL
- Triglycerides \leq 870 mg/dl
- Bilirubin \leq 2,5 UI
- Heterophyle antibodies \leq 1:448
- Hemoglobin \leq 30 mg/dl
- Anti-Borrelia burgdorfi antibodies

12. LIMITATIONS OF THE TEST

False positive results can be found in women during pregnancy.

13. PERFORMANCE

200 serum samples from healthy donors were analysed with Syphilis Fast and with an immunoenzymatic screening method taken as reference. Seven false positive results were found. The diagnostic specificity was 96.5%.

105 positive sera were tested, and 3 false negatives were found. The diagnostic sensitivity was 97.1%.

No prozone effect was observed with titers \geq 81,920 TPHA.

14. ANALYTICAL SENSITIVITY

The sensitivity of the method is equal to 0.1 IU/mL, with reference to the 1st International Standard Preparation, WHO 1958.

15. REFERENCES

1. Luger A.F.H. In: Serological diagnosis of sexually transmitted diseases. New York: M. Dekker Inc. 1988, 249-674.
2. Rathlev T. Haemagglutination test utilizing pathogenic *T. pallidum* for serodiagnosis of syphilis. Br. J. Ven. Dis. 1967; 43: 181-5.
3. Veldkamp J. Application of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the serodiagnosis of syphilis. Br. J. Ven. Dis. 1975; 51: 227.
4. De Maio E. et al. Evaluation of a competitive enzyme immunoassay in screening for syphilis. Microbiologica. In print, 1995.
5. Berti B. et al. Test di agglutinazione al lattice per lo screening sierologico della sifilide. Poster, AMCLI '95, Oct. 1995.
6. Young et al. A new recombinant antigen latex agglutination test (Syphilis Fast) for the rapid serological diagnosis of syphilis. International journal of STD & AIDS, 1998; 9: 196-200.



DIESSE Diagnostica Senese SpA

Via delle Rose 10, 53035 Monteriggioni SI

Tel. ++39/0577/ 587111 - Fax ++39/0577/318690

INSTRUCCIONES DE USO

SYPHILIS FAST (TPHA MODIFICADO)

REF 051 50 tests

(Español)

1. INDICACIONES DE USO

TEST DE AGLUTINACIÓN EN LÁTEX PARA EL ANÁLISIS RÁPIDO DE LOS ANTICUERPOS TOTALES ANTI TREPONEMA PALLIDUM EN SUERO HUMANO CON MÉTODO EN SLIDE

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST

La diagnóstico serológica de la Sífilis se efectúa estableciendo si hay en el suero del paciente anticuerpos con titulación significativa, específicos y no específicos para el *Treponema pallidum* (TP).

Los métodos actualmente más utilizados son: VDRL e TPHA, IgG e IgM ELISA, Ig totales con método a competición.

La VDRL titula anticuerpos específicos, revela positividad relativa a la fase aguda, pero con grandes problemas de falsos positivos y de escasa sensibilidad. El test de hemoaglutinación (TPHA) titula anticuerpos específicos para el *Treponema pallidum* pero el uso de células rojas de origen animal conduce a reacciones específicas (poder hemoaglutinante) de algunos sueros humanos.

El método ELISA se debe considerar el test más adelantado en uso, dada la posibilidad de su completa automatización, especificidad y sensibilidad.

El método propuesto es un test de screening de alta especificidad, que utiliza látex de poliestireno sensibilizado con proteínas específicas del *Treponema pallidum* y puede reemplazar el test de la VDRL y de TPHA, dada su facilidad, su velocidad de ejecución y su alta especificidad y sensibilidad. Como para cada test de screening, un resultado positivo tiene que ser confirmado con otro test.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El sistema DIESSE está constituido por Partículas de látex de poliestireno sensibilizadas con 3 de las proteínas inmunodominantes del *Treponema pallidum* (17K, 15K e 42K) obtenidas en *E. coli* con método recombinante. Poniendo en contacto suero humano con anticuerpos anti-*Treponema pallidum* con el látex sensibilizado, hay la formación dentro de 8 minutos de un **aglutinado bien visible**; en ausencia de anticuerpos (suero negativo) el látex desaparece uniformemente y no hay aglutinación alguna.

4. COMPONENTES DEL KIT

- Poner los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso.

LATEX LÁTEX ADSORBIDO (R1) Liófilo, 1 x 1.1 mL

Contenido: Partículas de látex de poliestireno de color azul, sensibilizadas con proteínas específicas del *Treponema pallidum*, estabilizadas y liofilizadas.

Preparación: Reconstituir con 1,1 mL de agua destilada. Poner el látex a temperatura ambiente antes de su uso.

CONTROL + SUERO DE CONTROL POSITIVO 1 x 0.5 mL

Contenido: Suero humano a titulación alta ELISA, testado con método aprobado y calibrado de manera que sea considerado por su reactividad un suero muy positivo.

CONTROL - SUERO DE CONTROL NEGATIVO 1 x 0.5 mL

Contenido: Suero de origen animal, completamente no reactivo con el látex adsorbido.

OTROS MATERIALES

- 10 Slides para ejecutar hasta 11 reacciones contemporáneamente.
- 100 palitos para mezcla. Utilizar un palito para cada determinación y tirar después de su uso.

OTROS MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Agua destilada
- Micropipetas para la dispensación del látex y del suero, respectivamente.
- Solución fisiológica
- Fuente de luz

5. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben ser conservados a 2/8°C. La fecha de caducidad está impresa en cada uno de los componentes y en la etiqueta exterior de la caja.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada después de la abertura y/o de la preparación

REACTIVO	CONDICIONES
LÁTEX	2 meses después de su reconstitución
CONTROL POSITIVO	2 meses
CONTROL NEGATIVO	2 meses

6. PRECAUCIONES DE USO

SOLAMENTE PARA USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO. CONSERVAR A 2-8°C

Cuidado:

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y dieron resultados negativos en las pruebas aprobadas por la FDA para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una completa garantía sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los materiales de origen humano deben manipularse según las prácticas de seguridad comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

Desecho de los residuos: las muestras de suero y los reactivos se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos, según disposiciones normativas vigentes.

Informaciones de Salud y Seguridad:

1. Usar los guantes de un solo uso y la protección para los ojos al manejar las muestras y durante la prueba. Lavar las manos a fondo después de terminar el test.
2. El derramamiento de los materiales potencialmente infecciosos se debe retirar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada tendrá que ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1.0%, antes de que se continúe el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar para derramamientos que contengan ácido antes de que la zona sea enjuagada. Todos los materiales utilizados para limpiar derramamientos incluido los guantes, se deben disponer como basura potencialmente infecciosa. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio
3. Los sueros de control contienen Ázida Sódica (0.09%) que puede reaccionar con cobre y plomo y formar ázidas metálicas potencialmente explosivas.

Precauciones analíticas

1. Poner todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso. Inmediatamente después del uso poner los reactivos a la temperatura de conservación recomendada.
2. No usar los reactivos después de la fecha de caducidad. La contaminación microbiológica de los reactivos debe ser evitada ya que esta puede acortar la vida del producto y causar resultados erróneos
3. No modificar el método, ni reemplazar los reactivos con los de otros fabricantes o de otros lotes, a no ser que esté específicamente indicado que el reactivo es intercambiable. No reducir los tiempos de incubación recomendados.
4. Lavar con ácido hidroclicórico 2M todos los materiales de laboratorio que se utilizan en las pruebas y aclarar con agua destilada o desionizada.
5. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
6. No exponer los reactivos a fuerte iluminación ni a humos de hipoclorito durante la conservación o las fases de incubación.
7. Puede ser fuente de errores el uso de muestras muy hemolizadas, suero no completamente coagulado y con células rojas o muestras con contaminaciones microbianas.
8. Evitar la contaminación del slide con el polvo de los guantes de un solo uso.

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

Suero obtenido por sangre recogida sin alguna especial precaución. No se requiere alguna preparación especial del paciente. No se observaron interferencias debido al uso de anticoagulantes como citrato, heparina u EDTA. La muestra se puede conservar durante 7 días a 2/8°C. Para conservaciones más largas congelar a -20°C. Un ciclo de congelación/descongelación de las muestras o una inactivación al calor para 30 min a 56°C no afectan los resultados. Las muestras no deben ser almacenadas en congeladores autodescongelantes.

No utilizar muestras muy lipémicas, ictericas, hemolizadas o contaminadas.

8. PROCEDIMIENTO*** MÉTODO MANUAL**

En uno slide a fondo blanco, pipetear 40 µL de suero humano entero y 20 µL de látex sensibilizado (R1); **mezclar látex y muestra con un palito disfrutando de todo el plazo del círculo y agitar** per inversión durante 8 minutos.

Leer bajo una lámpara la presencia de un eventual aglutinado.

Insertar por cada serie analítica el control positivo y negativo.

*** PROCEDIMIENTO SEMIAUTOMÁTICO**

Utilizar los volúmenes previstos en el método manual y agitar sobre agitador mecánico rodante con rayo de 3 cm a la velocidad de 100-130 rpm.

*** PROCEDIMIENTO SEMICUANTITATIVO EN SLIDE**

Hacer diluciones seriadas de la muestra con solución fisiológica y efectuar el test sobre las diluciones.

9. VALIDACIÓN DEL TEST

Al final de los 8 minutos de lectura, el control positivo debe mostrar una evidente y total aglutinación, el control negativo total ausencia de esta. Si esas condiciones no se verifican, averiguar que las muestras no den alteraciones evidentes y por eso repetir las pruebas.

10. INTERPRETACIÓN DEL TEST*** RESULTADOS MÉTODO MANUAL/SEMIAUTOMÁTICO**

POSITIVO: Aglutinación evidente sobre el fondo blanco del slide

NEGATIVO: Aglutinación ausente; fondo homogéneo.

*** RESULTADOS MÉTODO SEMICUANTITATIVO**

La titulación del suero examinado se obtiene multiplicando la dilución por el límite de sensibilidad 1/40.

Ejemplo:

Dilución	1/2	1/4	1/8
Test Slide	++	+	-
Titulación	1/2 x 1/40 = 1/80		

Hay que considerar positivas al límite las muestras con titulación 1/40.

11. INTERFERENCIAS

No interfieren las siguientes sustancias:

- Factor Reumatoideo de 60 a 500 UI/mL
- Autoanticuerpos de 16 a 12.000 UE/mL
- Triglicéridos <= 870 mg/dl
- Bilirubina <= 2,5 UI
- Anticuerpos eterófilos <= 1:448
- Hemoglobina <= 30 mg/dl
- Anticuerpos anti-Borrelia burgdorfi.

12. LIMITACIONES DEL TEST

En mujeres embarazadas pueden verificarse falsas positividades.

13. PERFORMANCE

Se analizaron 200 sueros de donadores sanos con el Syphilis Fast y con un test de screening inmunoenzimático considerado como referencia. Se encontraron 7 falsos positivos. La especificidad diagnóstica resultó del 96.5%.

Se controlaron además 105 sueros positivos, encontrando 3 falsos negativos. La sensibilidad diagnóstica es de 97.1%.

Para titulaciones >= 81.920 TPHA no se observó efecto prozona.

14. SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad del método es de 0,1 UI/mL, con referencia al I° Standard Internacional, WHO 1958.

15. BIBLIOGRAFÍA

1. Luger A.F.H. In: Serological diagnosis of sexually transmitted diseases. New York: M. Dekker Inc. 1988, 249-674.
2. Rathlev T. Haemagglutination test utilizing pathogenic *T. pallidum* for serodiagnosis of syphilis. Br. J. Ven. Dis. 1967; 43: 181-5.3.
3. Veldkamp J. Application of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the serodiagnosis of syphilis. Br. J. Ven. Dis. 1975; 51: 227.
4. De Maio E. et al. Evaluation of a competitive enzyme immunoassay in screening for syphilis. Microbiologica. In pubblicazione, 1995.
5. Berti B. et al. Test di agglutinazione al lattice per lo screening sierologico della sifilide. Poster, AMCLI '95, Ott. 1995.
6. H. Young et al. A new recombinant antigen latex agglutination test (Syphilis Fast) for the rapid serological diagnosis of syphilis. International journal of STD & AIDS, 1998; 9: 196-200.



DIESSE Diagnostica Senese SpA

Via delle Rose 10, 53035 Monteriggioni SI

Tel. ++39/0577/ 587111 - Fax ++39/0577/318690

INSTRUÇÕES DE USO

SÍFILIS FAST (TPHA MODIFICADO)

REF 051 50 testes

(Português)

1. USO PRETENDIDO

TESTE POR AGLUTINAÇÃO EM LATEX PARA PESQUISA RÁPIDA DE ANTICORPOS TOTAIS ANTI-TREPONEMA PALLIDUM EM SORO HUMANO USANDO O MÉTODO EM SLIDE

2. SUMÁRIO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

O diagnóstico sorológico da sífilis é realizado através da demonstração da presença de níveis significativos de anticorpos específicos anti *Treponema pallidum* (TP) na amostra de soro. Os métodos mais utilizados são: VDRL e TPHA, ELISA IgG e IgM, Ig total com “métodos competitivos”.

O VDRL é utilizado para dosagem de anticorpos específicos; detecta reações positivas na fase aguda, mas apresenta muitos problemas de resultados falso-positivos e baixa sensibilidade. O teste de hemaglutinação (TPHA) é específico para *Treponema pallidum* mas, por utilizar eritrócitos de animal, pode revelar reações não específicas com alguns soros humanos.

O método de ELISA é o mais avançado até o presente, permite utilização de automação completa, é específico e sensível.

3. PRINCÍPIO DO TESTE

O sistema é composto por partículas de latex de polistireno sensibilizadas com três proteínas imunodominantes de *Treponema pallidum* (17K, 15K e 42K) obtidas de *E. coli* através de técnicas recombinantes. Quando o soro humano contendo anticorpos anti-*Treponema pallidum* entrar em contato com o latex sensibilizado, ocorrerá uma **aglutinação dentro de 8 minutos, facilmente visível**; na ausência de anticorpos (soro negativo) o latex permanece uniforme e não há traços de aglutinação.

4. CONTEÚDO DO KIT

Traga os reagentes a temperatura ambiente antes do uso.

LATEX ADSORBED LATEX (R1) Liofilizado, 1 x 1.1 mL

Conteúdo: Partículas de latex polistireno de coloração azulada, sensibilizada com proteínas liofilizadas e específicas de *Treponema pallidum*.

Preparação: Reconstituir com 1.1 mL de água destilada. Traga o latex a temperatura ambiente antes do uso.

CONTROL + SORO CONTROLE POSITIVO 1 x 0.5 mL

Conteúdo: Soro humano positivo. O soro é calibrado para ser considerado altamente positivo.

CONTROL - SORO CONTROLE NEGATIVO 1 x 0.5 mL

Conteúdo: Soro originado de animal, totalmente não reagente com latex adsorvido.

OUTROS MATERIAIS

- 10 Slides para realização de mais de 11 reações simultaneamente.
- 100 Misturadores. Use um novo misturador para cada teste e despreze-o após o uso.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Água destilada.
- Micropipetas para distribuição do latex e soro
- Soro fisiológico
- Luminosidade.

5. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Reagentes devem ser armazenados a 2/8°C.

A data de expiração está impressa no rótulo de cada componente.

Após aberto e/ou preparado os reagentes tem um limite de estabilidade

REAGENTE	CONDIÇÕES
LATEX	2 meses após reconstituído
CONTROLE POSITIVO	2 meses.
CONTROLE NEGATIVO	2 meses.

6. PRECAUCÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO. ARMAZENAR A 2-8°C

Precaução: Este kit contém materiais de origem humana que foram testados e deram uma resposta negativa por métodos aprovados pela FDA à presença de HbsAg e de anticorpos anti-HIV1, anti-HIV2 e anti-HVC. Dado que nenhum teste de diagnóstico poderá dar uma leitura completa no que respeita a agentes infecciosos, todo o material de origem humana deve ser manuseado como potencialmente infeccioso. Todas as precauções normalmente adotadas na prática de laboratório devem ser seguidas quando manusear material de origem humana.

Eliminação de resíduos: as amostras de soro e os reagentes utilizadas devem ser tratados como resíduos infecciosos e portanto, eliminados em conformidade com as disposições legais aplicáveis.

Informação de Saúde e Segurança

1. Utilize luvas descartáveis e proteção para os olhos quando manusear amostras e executar o ensaio. Lave as mãos meticulosamente quando tiver acabado.
2. Todo material potencialmente infectante deve ser descontaminado juntando um volume suficiente de hipoclorito de sódio para obter uma concentração final de pelo menos 1.0%. Uma exposição de 30 minutos a hipoclorito de sódio a 1% pode ser necessária para assegurar uma descontaminação efetiva.
3. Soro controle contém Azida Sódica 0.09% como conservante que pode reagir com cobre e chumbo do encanamento e formar depósitos altamente explosivos de metal azida.

Precauções analíticas

1. Aguarde todos os reagentes atingirem a temperatura ambiente (18-30°C) antes da utilização. Reponha imediatamente os reagentes à temperatura recomendada para armazenamento após utilização.
2. Não utilizar os reagentes depois de ultrapassada a data de validade indicada. A contaminação microbiológica dos reagentes deve ser evitada pois pode reduzir a validade do produto e causar resultados erróneos.
3. Não modifique o procedimento de teste ou substitua reagentes por outros de outros fabricantes ou outros lotes de reagente a menos que sejam estipulados como intermutáveis. Não reduza nenhum dos tempos recomendados para incubação.
4. Qualquer recipiente de vidro a ser usado com os reagentes deve ser lavado profusamente com ácido hidrocloreto 2M e depois enxaguado com água destilada ou água deionizada de alta qualidade.
5. Evite a utilização de congeladores autodescongeláveis para armazenamento de amostras.
6. Não exponha reagentes a luz intensa ou a vapores de hipoclorito durante o armazenamento ou durante os passos de incubação.
7. A utilização de amostras altamente hemolizadas, soros incompletamente coagulados, amostras de plasma contendo fibrina ou amostras com contaminação microbiana pode dar resultados erróneos.
8. Evite a contaminação do slide com o pó das luvas descartáveis.

7. TIPO DE ESPÉCIMENS E ARMAZENAMENTO

Soro obtido de sangue coletado sem medidas particulares

Não é necessária nenhuma preparação especial do paciente. A utilização de anticoagulantes como o citrato, heparina ou EDTA não interfere no teste. As amostras podem ser armazenadas durante 7 dias a 2-8°C. Conserve as amostras a -20°C se for necessária uma conservação mais prolongada. Congelamento/descongelamento das amostras ou ativação por 30 min a 56°C não afeta os resultados. Evite a utilização de congeladores autodescongeláveis para armazenamento de amostras.

Amostras fortemente lipêmicas, contaminadas ou ictericas devem ser evitadas.

8. PROCEDIMENTO

*** PROCEDIMENTO MANUAL DO TESTE**

Pipetar 40 µL do soro humano e 20 µL do latex sensibilizado (R1) na divisão do slide; **misturar o latex com a amostra sobre toda a superfície do círculo do slide** usando um misturador e agitar em rotação por 8 minutos.

Examine sob a luz a presença de aglutinação.

Inclua os controles negativos e positivos em todas as corridas.

*** PROCEDIMENTO SEMI-AUTOMÁTICO**

Use os volumes relatados no método manual e um homogeneizador mecânico com um raio de 3 cm, em uma velocidade de 100-130 rpm.

*** MÉTODO SEMIQUANTITATIVO EM SLIDE**

Diluir a amostra por diluição seriada em salina e realizar o teste no slide em diferentes diluições.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Depois de 8 minutos de incubação, o controle positivo deve apresentar aglutinação total evidente; o controle negativo não deve apresentar aglutinação.

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE*** RESULTADOS PARA OS MÉTODOS MANUAL/SEMI-AUTOMÁTICO**

POSITIVO: Aglutinação evidente contra o fundo branco do slide.

NEGATIVO: Nenhuma aglutinação; aparência homogênea.

*** RESULTADOS PARA O MÉTODO SEMIQUANTITATIVO**

O título da amostra de soro é dado através da multiplicação da diluição pelo limite de sensibilidade 1/40.

Exemplo:

Diluição	1:2	1:4	1:8
Teste Slide	++	+	-
Título	$1/2 \times 1/40 = 1/80$		

Amostras com títulos de 1/40 devem ser consideradas borderline positiva.

11. SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

As seguintes substâncias não interferem no teste:

- Fator Reumatóide de 60 a 500 IU/mL
- Autoanticorpos de 16 a 12.000 EU/mL
- Triglicérides \leq 870 mg/dl
- Bilirrubina \leq 2,5 UI
- Anticorpos Heterófilos \leq 1:448
- Hemoglobina \leq 30 mg/dl
- Anticorpos Anti-Borrelia burgdorfi

12. LIMITAÇÕES DO TESTE

Resultados falso-positivos podem ocorrer para mulheres durante a gestação.

13. PERFORMANCE

200 amostras de soro de doadores saudáveis foram analisadas com o Teste de Sífilis Fast e com um método imunoenzimático de referência. Sete resultados falso-positivos foram encontrados. A especificidade diagnóstica foi 96,5%.

105 soros positivos foram testados e 3 falso-negativos foram encontrados. A sensibilidade diagnóstica foi 97,1%.












Nenhum efeito pró-zona foi observado com títulos de \geq 81,920 TPHA.

14. SENSIBILIDADE ANALÍTICA

A sensibilidade do método é igual a 0,1 IU/mL, com referência ao 1st International Standard Preparation, OMS 1958.

15. REFERÊNCIAS

1. Luger A.F.H. In: Serological diagnosis of sexually transmitted diseases. New York: M. Dekker Inc. 1988, 249-674.
2. Rathlev T. Haemagglutination test utilizing pathogenic T. pallidum for serodiagnosis of syphilis. Br. J. Ven. Dis. 1967; 43: 181-5.
3. Veldkamp J. Application of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the serodiagnosis of syphilis. Br. J. Ven. Dis. 1975; 51: 227.
4. De Maio E. et al. Evaluation of a competitive enzyme immunoassay in screening for syphilis. Microbiologica. In print, 1995.
5. Berti B. et al. Test di agglutinazione al lattice per lo screening sierologico della sifilide. Poster, AMCLI '95, Oct. 1995.
6. H. Young et al. A new recombinant antigen latex agglutination test (Syphilis Fast) for the rapid serological diagnosis of syphilis. International journal of STD & AIDS, 1998; 9: 196-200.

	EN ES IT	Date of manufacture Fecha de fabricación Data di fabbricazione	FR GR PT	Date de fabrication Ημερομηνία Παραγωγής Data de fabrico
	EN ES IT	Use By Fecha de caducidad Utilizzare entro	FR GR PT	Utiliser jusque Ημερομηνία λήξης Prazo de validade
	EN ES IT	Caution, consult accompanying documents Atención, ver instrucciones de uso Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	FR GR PT	Attention voir notice d'instructions Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα Atenção, consulte a documentação incluída
	EN ES IT	Manufacturer Fabricante Fabbicante	FR GR PT	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante
	EN ES IT	Contains sufficient for <n> tests Contenido suficiente para <n> ensayos Contenuto sufficiente per "n" saggi	FR GR PT	Contenu suffisant pour "n" tests Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	EN ES IT	Temperature limitation Límite de temperatura Limiti di temperatura	FR GR PT	Limites de température Περιορισμοί θερμοκρασίας Limites de temperatura
	EN ES IT	Consult Instructions for Use Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso	FR GR PT	Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Consulte as instruções de utilização
	EN ES IT	Biological risks Riesgo biológico Rischio biologico	FR GR PT	Risques biologiques Βιολογικοί κίνδυνοι Risco biológico
	EN ES IT	Catalogue number Número de catálogo Numero di catalogo	FR GR PT	Référence du catalogue Αριθμός καταλόγου Referência de catálogo
	EN ES IT	In Vitro Diagnostic Medical Device Producto sanitario para diagnóstico in vitro Dispositivo medico-diagnostico in vitro	FR GR PT	Dispositif médical de diagnostic in vitro In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	EN ES IT	Batch code Código de lote Codice del lotto	FR GR PT	Code du lot Αριθμός Παρτίδας Código do lote



Diesse Diagnostica Senese
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena) – Italy
Tel. 0577-587111