

# TPHA kit (Syphilis)

Determinazione qualitativa e semiquantitativa attraverso agglutinazione su micropiastra di antigeni associati alla Sifilide

96 determinazioni

REF 6009

## PRINCIPIO

La Sifilide o Lue è una malattia venerea infettiva, il cui agente eziologico è il *Treponema Pallidum*. L'infezione dell'organismo avviene attraverso soluzioni di continuo della cute. La struttura antigenica dei treponemi non è completamente nota, si distinguono comunque tre diversi tipi di antigeni; l'antigene lipoideo, quello proteico e quello polisaccaridico.

La diagnosi può essere fatta direttamente sul *Treponema Pallidum* o indirettamente (diagnosi sierologica) evidenziando anticorpi specifici anti-*Treponema*.

Il TPHA è un test treponemico specifico che utilizza l'antigene polisaccaridico specie-specifico. Si tratta di un test ad emoagglutinazione passiva che impiega globuli rossi di pollo sensibilizzati con un estratto di *Treponema Pallidum*. Questi ultimi reagiscono agglutinando con gli anticorpi specifici eventualmente presenti nel siero.

## REAGENTI

Contenuto del kit:

REF 6009  
2 x 4 ml

**REAGENTE 1** (liquido)

Emazie test: emazie di pollo sensibilizzate con estratto di *Treponema Pallidum* coltivato in testicoli di coniglio, pronto all'uso.

**REAGENTE 2** (liquido) 1 x 10 ml

Emazie di controllo: emazie di pollo non reattive per il *Treponema Pallidum*, pronto all'uso.

**REAGENTE 3** (liquido) 1 x 20 ml

Diluente: soluzione salina, pronto all'uso.

**REAGENTE 4** (liquido) 1 x 0,5 ml

Controllo positivo, pronto all'uso.

**REAGENTE 5** (liquido) 1 x 1 ml

Controllo negativo, pronto all'uso.

**AVVERTENZA:** i reagenti contengono sodio azide come conservante (< 0,1 %). Manipolare il prodotto con attenzione, evitando l'ingestione e il contatto con la pelle.

**MICROPIASTRA fondo a "U"** 1 x 96 pozzetti

**STABILITÀ:** i reagenti sigillati sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

## CAMPIONE

Siero non emolizzato.

**STABILITÀ:** 1 giorno a 2-8°C, 1 mese a -20°C.

## PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Portare a temperatura ambiente tutti i reattivi prima dell'uso. Agitare accuratamente i Reagenti 1 e 2 prima dell'uso.

## PROCEDIMENTO TEST QUALITATIVO

Distribuire nei pozzetti della micropiastra i reagenti come riportato nella tabella sottostante, utilizzando solo i primi tre pozzetti. Prima di aggiungere i reattivi 1 e 2 preparare l'intera curva come da tabella. Incubare la piastra a temperatura ambiente su un piano perfettamente orizzontale per almeno 50 minuti, coperta e al riparo dalla luce.

Pozzetto	1	2	3
Diluente (µl)	190	---	---
Campione (µl)	10	25 dal pozzetto1	25 dal pozzetto1

Effettuate le diluizioni sul campione aggiungere i Reattivi 1 e 2 come da tabella sottostante:

Pozzetto	1	2	3
Reagente 2 (µl)	---	75	---
Reagente 1 (µl)	---	---	75
Titolo corrispondente	---	Controllo	1:80

Il controllo positivo è pronto all'uso già prediluito 1:20, va quindi utilizzato direttamente aggiungendo a 25 µl di controllo 75 µl di Reagente 1.

La prima diluizione 1:20 del campione è possibile effettuarla in provetta a parte, in modo tale da non sporcare inutilmente un pozzetto.

## INTERPRETAZIONE

Se si osserva sul fondo del pozzetto un fondello ben definito di eritrociti non emoagglutinati il risultato è negativo (se si nota un piccolo buco al

centro del fondello il risultato è comunque negativo). Se invece si osserva un leggero strato di eritrociti agglutinati o un anello di agglutinazione il test è positivo.

Il risultato è da considerarsi dubbio se gli eritrociti si sono depositati sul fondo del pozzetto formando un anello ben definito. Il pozzetto 2 (controllo) deve avere gli eritrociti depositati sul fondo non agglutinati. In caso contrario, cioè in presenza di positività, il siero non è adatto alla prova in quanto contiene anticorpi specifici e il test è da considerarsi nullo.

In questo caso trattare il siero nel seguente modo e ripetere la prova:

- adsorbire 25 µl di campione con 0,5 ml di Reattivo 2 e incubare per 30 minuti a T.A.

- centrifugare per 5 minuti a 1000 rpm

- prelevare 25 µl di sovrantante e aggiungere 75 µl di Reagente 2

- ripetere il test.

## PROCEDIMENTO TEST QUANTITATIVO

Preparare la curva di diluizione dei sieri come in tabella, quindi aggiungere i reattivi 1 e 2.

Pozzetto	1	2	3	4	5	6	7	8
Diluente (µl)	190	---	---	25	25	25	25	25
Siero (µl)	10	25 dal 1	25 dal 1	25 dal 1	25 dal 4	25 dal 5	25 dal 6	25 dal 7, eliminare 25 µl
Prima di aggiungere i reattivi 1 e 2 preparare tutte le diluizioni								
Reagente 2 (µl)	---	75	---	---	---	---	---	---
Reagente 1 (µl)	---	---	75	75	75	75	75	75
Titolo	---	Controllo	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560

Incubare come per il metodo qualitativo.

Il controllo positivo è pronto all'uso già prediluito 1:20, va utilizzato quindi saltando il passaggio riportato in tabella corrispondente al pozzetto 1.

## INTERPRETAZIONE

Il titolo del campione è dato dalla massima diluizione che presenta agglutinazione. Valgono le indicazioni date per il metodo qualitativo.








## OSSERVAZIONI

1. Tempi di reazione più lunghi possono indicare falsi positivi.
2. Confrontare sempre i risultati con i controlli.
3. Il controllo positivo ha titolo di circa 1:1280.
4. Falsi positivi sono riscontrabili in presenza di malattie del connettivo, lebbra e mononucleosi.
5. Sono disponibili a listino le micropiastre da lettura.
6. I reattivi sono stati inattivati e testati per la presenza di HIV I/II, HCV e HBsAg. Tuttavia vanno trattati come potenzialmente infetti.

## BIBLIOGRAFIA

1. Tomizawa, T., Kasamatsu, S., (1966). Japan J. Med. Sci. Biol., 19,305-308.
2. Garner, M.F. Bachouse, J.L., Daskalopoulos, G. Walsh, J.L. (1972). Brit. J. Vener. Dis., 48, 470-473.
3. Sequeira, P.J.L., Eldridge, A. E. (1973). Brit. J. Venr. Dis.,49, 242-248.

## LEGENDA SIMBOLI

	dispositivo medico diagnostico in vitro
	numero di lotto
	numero di catalogo
	limite di temperatura
	usare entro la data
	attenzione
	consultare le istruzioni per l'uso

IVD

CE

Ed. 02 - Mar 2015 MS

## PRODUTTORE



FAR

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY

tel +39 045 6700870

sito web <http://www.fardiac.com>

e-mail: [order@fardiac.com](mailto:order@fardiac.com) e-mail: [fardiac@fardiac.com](mailto:fardiac@fardiac.com)