

Тест-системы для клинической лабораторной диагностики in vitro

Сифилис РПГА (ТРНА Syphilis)

Номер по каталогу: L-99200

Набор рассчитан на 200 определений

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Сифилис - венерическое заболевание, вызываемое спирохетой *Treponema pallidum*. Поскольку этот организм не может быть обнаружен культурным методом, диагностика сифилиса зависит от корреляции между клиническими данными и результатом серологических тестов. Тест ТРНА является специфическим тестом для диагностики инфекции *T. pallidum*. Специфичность теста эквивалентна специфичности ТРІ теста, а чувствительность сравнима с чувствительностью теста FTA-ABS.

Присутствие экстракта трепонемы Рейтера в буфере для разведения в сочетании с использованием нечувствительных контрольных клеток делает метод очень специфичным. Тест легко выполнить. Выполнение тестирования требует минимальное количество оборудования.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Набор ТРНА обнаруживает антитела человека против *T. pallidum* методом непрямой гемагглютинации (НАИ). Птичьи эритроциты сенсibilизированы антигенными компонентами *T. pallidum* (штамм Nichol). В присутствии антител против *T. Pallidum* сенсibilизированные эритроциты (тестируемые клетки) агглютинируют и проявляют характерный вид (наличие помутнения) в лунках планшета для микротитрования. Любые неспецифические реакции выявляются при использовании контрольных клеток, которые являются сенсibilизированными эритроцитами птиц.

СОСТАВ

Флакон с сенсibilизированными эритроцитами для теста, 8,5 мл (Птичьи эритроциты, сенсibilизированные антигеном <i>Treponema pallidum</i> , суспендированные в буферном растворе, содержащем консервант).	2
Флакон с контрольными клетками эритроцитов, 8,5 мл (Несенсibilизированные птичьи эритроциты).	2
Флакон с положительным контролем, 0,5 мл (Предварительно разбавленная 1/20 и имеющая титр 1/1280 контрольная сыворотка (значение титра может изменяться от 1/640 до 1/2560, в зависимости от лота реагентов).	1
Флакон с пограничным контролем, 0,5 мл (Предварительно разбавленная 1/20 контрольная сыворотка)	1
Флакон с отрицательным контролем, 0,5 мл (Предварительно разбавленная 1/20 контрольная сыворотка)	1
Флакон с буфером для разведения, 20 мл	2
Микротитровальные планшеты с U-лунками (одноразовые)	2
Инструкция	1

Буфер для разведения готов к использованию и должен использоваться для приготовления разведений образцов. Контроль отсечки и отрицательный контроль готовы к использованию. Положительный контроль также готов к использованию.

Необходимые, но не поставляемые материалы

Автоматические пипетки на 10, 25, 75 и 190 мкл.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ**Храните бутылки в вертикальном положении.**

Реагенты должны храниться при температуре от + 2 ° С до + 8 ° С, Реагенты остаются стабильными до окончания срока годности, указанного на упаковке при условии соблюдения температурного режима хранения. Не замораживать. Не используйте реагенты из разных партий. При возникновении проблем, не используйте реагенты.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Комплект ТРНА предназначен для диагностики in vitro.

Реагенты содержат менее 0,1% азиды натрия в качестве консерванта. Реагент токсичен при проглатывании или попадании на кожу. Не пипетируйте реагенты ртом. При работе с компонентами комплекта используйте перчатки.

Контрольные сыворотки на основе сыворотки человека тестировали на отсутствие антигена HBs (набор АББОТТ АХСЫМ HBsAg MEIA), антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 (набор АББОТТ АХСЫМ HIV 1, 2 MEIA), антигена ВИЧ p24 (набор МАВЕХ антиген МАВ) и антитела анти-НСV (набор АББОТТ АХСЫМ HCV MEIA). Однако, поскольку известные методы тестирования не дают полной гарантии отсутствия инфекции, эти материалы следует рассматривать как потенциально инфекционные и строго следовать инструкциям по технике безопасности.

ОТБОР ПРОБ И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Тесты должны проводиться только на сыворотке. Для тестирования нельзя использовать гемолизованную сыворотку. Сыворотка должна быть свежей или храниться при температуре от + 2 °С до + 8 °С не более одной недели. При необходимости образцы можно заморозить при -20 °С. Размораживать только один раз.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТИРОВАНИЯ

а) Качественное определение

1) Разведение пробы

Все сывороточные пробы следует развести 1/20:

- внести 190 мкл буферного разбавителя в одну лунку
- добавить 10 мкл сыворотки в ту же самую лунку и перемешать.
- Примечания:
- Реагенты для проведения контроля и теста должны быть полностью ресуспендированы. Если необходимо, осторожно встряхните растворы.
- поставляемые положительный и отрицательный контроли предварительно разведены (1/20) и должны использоваться как указано в пункте «2) Методика работы».

2) Методика работы

Каждая проба анализируется в трех дублях в трех разных лунках для микротитрования.

- а) Разведение образца в лунке № 1. Действуйте, как указано в пункте «1) Разбавление образца»
- б) Используя пипетку, добавьте 25 мкл разведенной сыворотки в лунки № 2 и № 3.
- в) Убедитесь, что контрольная и тестовая ячейки правильно ресуспендированы.

Поместите 75 мкл контрольных клеток в лунку № 2. Добавьте 75 мкл сенсibilизированных клеток для тестирования в лунку № 3.

- г) Осторожно встряхнуть планшет для перешивания содержимого в лунках.
- д) Инкубировать 45-60 минут при комнатной температуре.

Примечания: Не подвергайте микропланшету воздействию тепла, солнечного света или вибрации.

Считайте результаты теста.

Считывание результатов может быть отложено до 24 часов при условии, если микропланшета будет накрыта и будет храниться при описанных выше условиях.

б) Количественное определение

1) Разведение пробы

Все сывороточные пробы следует развести 1/20:

- внести 190 мкл буферного разбавителя в одну лунку
- добавить 10 мкл сыворотки в ту же самую лунку.

Примечания:

- реагенты для контроля и теста должны быть полностью ресуспендированы. Если необходимо, осторожно встряхните растворы.
- поставляемые положительные и отрицательные контроли уже предварительно разбавлены (1/20) и с ними следует работать непосредственно, как указано в пункте «2) Методика работы».

2) Методика работы

Каждая проба анализируется в 8 разных лунках (от А до Н).

- а) Внести по 25 мкл буфера для разбавления в лунки, начиная от В до Н. Оставить лунку А пустой.
- б) Внести по 25 мкл разбавленной сыворотки в лунки А и В.
- б) Смешать образец и буфер в лунке В и серийно разбавить образец до лунки Н. Из последней лунки Н отбросить избыточные 25 мкл.
- в) Убедитесь, что клетки для теста полностью ресуспендированы. Внесите по 75 мкл тестовых клеток в лунки от А до Н.
- г) Осторожно встряхните пластину для перешивания реагентов в лунках.
- д) Инкубируйте 45-60 минут при комнатной температуре.









Примечания: Не подвергайте микропланшету воздействию тепла, солнечного света или вибрации.

Считайте результаты теста.

Считывание результатов может быть отложено до 24 часов при условии, если микропланшета будет накрыта и будет храниться при описанных выше условиях.

УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

а) Качественные результаты

Контрольная лунка	Тестовая лунка	Результат
		Негативный
		Позитивный (выполнить количественный тест)
		Неопределенный
		Недействительный (неспецифическая реакция)

Если клетки образуют структуру, покрывающую дно лунки, это указывает на четкий положительный результат. В случае отрицательного результата клетки (образца или отрицательного контроля) оседают в виде компактной «кнопки» на дне лунки. Если эти два условия не выполняются, тест следует считать недействительным и его следует выполнить повторно. Пограничный контроль должен гемагглютинацию (дымку) и появление осадка (неопределенные результаты). Эти результаты указывают на низкий уровень антител как в случае раннего первичного сифилиса, так и ранее леченного первичного сифилиса или фрамбезии. Образец такого типа следует повторно тестировать с помощью качественного метода. Необходимо определить титр образца, чтобы определить повышение титра во времени. Рекомендуется также провести тест на обнаружение реакинов (RPR-сифилис) и / или тест на подтверждение (FTA-ABS), чтобы завершить анализ профиля тестируемой сыворотки.

Положительный контроль должен давать четкую агглютинацию эритроцитов с появлением структуры (вуали), покрывающей дно лунки.









Примечание: В случае положительного результата контрольную лунку следует внимательно рассмотреть. Контрольные клетки должны сформировать компактную «кнопку» на дне лунки. Этот результат не должен использоваться для сравнения с результатами, полученными для отрицательных образцов (контрольная «кнопка» более компактная, чем образование, полученное с тестовыми клетками).

Агглютинация эритроцитов в контрольной лунке указывает на наличие неспецифических агглютининов в образце; тест следует считать недействительным.

Образец такого рода можно абсорбировать, используя контрольные клетки (см. пункт «Неспецифическая абсорбция»).

б) Количественные результаты

Внешний вид результатов на примере положительного контроля из набора:

1/80	A		Позитивный
1/160	B		Позитивный
1/320	C		Позитивный
1/640	D		Неопределенный
1/1280	E		Негативный
1/2560	F		Негативный
1/5120	G		Негативный
1/10240	H		Негативный

Интерпретация: титр образца соответствует разведению, показывая неопределенный результат (клеточная структура (вуаль) + «кнопочка»).

Положительный контроль, разбавленный 1/1280, должен дать неопределенный результат (клеточная структура (вуаль) + «кнопка»). Эта величина может изменяться от 1/640 до 1/2560, в зависимости от лота реагентов, как показано на рисунке выше.

в) Неспецифическая абсорбция

1. Внести 100 мкл исследуемой сыворотки в пробирку, затем добавить 400 мкл контрольных клеток. Хорошо перемешать и оставить на час при комнатной температуре.

2. Центрифугировать при 1000 об/мин в течение 5 минут, анализировать супернатант согласно методике качественного теста.

Примечание. Разведение сыворотки будет равно 1/5. Этот факт следует учитывать в процессе приготовления разведений. Если результат после этапа абсорбции всё ещё неопределенный, то образец следует проанализировать другим методом, например, определением реакинов или тестом FTA-ABS.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

а) Внешняя оценка

Тест РПГА на сифилис оценивали в центрах переливания крови и независимых лабораториях. Бразцы были испытаны

параллельно с другим тестом ТРНА на рынке. Сыворотки с противоречивыми и положительными результатами теста РПГА на сифилис были подтверждены с помощью теста FTA-ABS и/или клиническим диагнозом.

Образцы, полученные от доноров

Скрининг прошли 2160 образцов. Все результаты были отрицательными. Неспецифический результат получен на двух сыворотках. После этапа абсорбции данные сыворотки дали отрицательные результаты.

Специфичность: 100% (2160/2160).

Клинические образцы

Были протестированы 602 сыворотки. Результаты суммированы в таблице:

Клинический диагноз	Результат теста РПГА		
	Положительный	Отрицательный	Всего
Положительный	298	1	299
Отрицательный	2	301	303
Всего	300	302	602

Сыворотки с противоречивыми и положительными результатами теста РПГА на сифилис были подтверждены с помощью теста FTA-ABS и/или клиническим диагнозом.

Специфичность составила 99,3% (301/303).

Чувствительность составила 99,7% (298/299).

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

1. Антитела к сифилису, которые определяются тестом РПГА, долговременно сохраняются в крови, даже после успешного лечения. В этом заключается причина, почему положительный тест РПГА указывает на недавнюю или предыдущую инфекцию.
2. Невозможно отличить сифилис от других трепонемных инфекций (например, фрамбезии), используя тест РПГА. Всегда следует учитывать клинические симптомы при постановке диагноза. Ложноположительные результаты можно наблюдать у пациентов, страдающих от проказы, инфекционного мононуклеоза или нарушений соединительной ткани.
3. Тест FTA-ABS следует применять для подтверждения результатов, поскольку им можно различить антитела классов IgG и IgM. Данный тест полезен в случае очень раннего заболевания сифилисом, когда можно получить отрицательный тест РПГА.
4. Рекомендуется применение количественного теста (например, RPP или VDRL) при мониторинге процесса лечения.

Производитель:

«ВЕДАЛАБ», Франция,
VEDALAB, ZAT du Londeau, Rue de l'Expansion, Cerise, B.P. 181, 61006
ALENCON Cedex, France

Официальный дистрибьютор в Российской Федерации:

ООО «МИКРО-ЛАБ»

Москва, ул. Кольская, д.14, стр.6

www.micro-lab.org

8(499)399-32-36

info@micro-lab.org