



**Mast Group Ltd.**  
Mast House, Derby Road, Bootle  
Liverpool, Merseyside, L20 1EA  
United Kingdom  
Tel: + 44 (0) 151 472 1444  
Fax: + 44 (0) 151 944 1332  
email: sales@mastgrp.com  
Web: www.mastgrp.com

**Mast Diagnostica GmbH**  
Feldstrasse 20  
DE-23858 Reinfeld  
Germany  
Tel: + 49 (0) 4533 2007 0  
Fax: + 49 (0) 4533 2007 68  
email: mast@mast-diagnostica.de  
Web: www.mastgrp.com

**Mast Diagnostic**  
12 rue Jean-Jacques Mention  
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1  
France  
Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67  
Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22  
email: info@mast-diagnostic.fr  
Web: www.mastgrp.com



**Mast  
Group**

## MAST-TPHA

### Uso previsto

**HA101.** Test liquido, stabile, di emoagglutinazione di *Treponema pallidum* per la diagnosi sierologica della sifilide.

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*

### Contenuto

MAST-TPHA contiene i seguenti componenti per HA101-200 tests:

1. Diluente per il Campione, pronto per l'uso. 2x 20ml. Contiene tampone fosfato pH 7,2 e siero di coniglio 'normale'.
  2. Test Cellulare, pronta per l'uso. 2x 8,5ml ciascuna di una sospensione di eritrociti di pollo trattati, sensibilizzati con l'antigene di *T. pallidum* (ceppo di Nichol) in una base fosfato tamponata con componenti cellulari di *T. pallidum* (ceppo di Reiter).
  3. Cellule di controllo, pronta per l'uso. 2x8,5ml ciascuna di una sospensione di eritrociti di pollo trattati, non sensibilizzati, in una base fosfato tamponata con componenti cellulari di *T. pallidum* (ceppo di Reiter).
  4. Controllo Positivo, pronto per l'uso. 1x2ml di siero umano diluito con anticorpi specifici per *T. pallidum*. È fornito prediluito 1:20, con un titolo di 1:2560 ± una doppia diluizione.
  5. Controllo Negativo, pronto per l'uso. 1x2ml di siero umano diluito negativo per *T. pallidum*.
  6. Foglio di istruzioni
- I suddetti articoli 1-5 contengono tutti sodio azide 0,095% come conservante.

### Conservazione e validità

Conservare la confezione originale, ben sigillata, a 2 a 8°C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione. Una volta aperto, MAST-TPHA dovrà essere conservato a 2 a 8°C e potrà essere utilizzato fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione. **Non congelare i Reagenti.** I campioni possono essere conservati a 2 a 8°C fino a 48 ore prima del test. Se è richiesta una conservazione più prolungata, conservare a -20°C fino a 1 anno. I campioni scongelati dovranno essere miscelati prima di eseguire il test.

### Avvertenze e Precauzioni

I reagenti MAST-TPHA contengono materiale di origine umana e devono essere testati e confermati negativi per gli anticorpi HCV, HIV I e HIV II, nonché HbsAg, mediante apposite procedure a livello di singolo donatore. Poiché nessun test può offrire la completa garanzia che i prodotti di origine umana non trasmettano agenti infettivi, si consiglia di maneggiare con la debita cura e attenzione i reagenti contenuti in questo kit, sia durante l'uso che durante lo smaltimento. Non ingerirli. I reagenti MAST-TPHA non contengono sostanze pericolose, come definito dalle attuali normative del UK sulle Sostanze Chimiche (Hazardous Information e Packaging for Supply). Tutti i reagenti dovranno essere trattati come sostanze a rischio biologico sia durante l'uso che durante lo smaltimento. Rispettare le precauzioni di sicurezza per il rischio biologico ed impiegare tecniche asettiche. Deve essere utilizzato solo da personale di laboratorio opportunamente qualificato. Prima dell'eliminazione, sterilizzare tutti i materiali biologici pericolosi. Il conservante sodio azide può risultare tossico se ingerito e può reagire con le tubazioni di piombo e rame formando sali altamente esplosivi. Smettere sempre irrorando con abbondante acqua. Consultare la scheda di sicurezza del prodotto (disponibile a richiesta). I test di emoagglutinazione sono sensibili agli effetti esercitati da calore, luce solare diretta e vibrazioni. Tenere lontano da queste fonti durante il periodo di incubazione del test. Non lasciare che la saliva contenga i campioni o i reagenti poiché questo indurrebbe la comparsa di risultati erronei. Utilizzare un diverso puntale monouso per ogni campione al fine di prevenire una contaminazione crociata. Tappare nuovamente tutti i reagenti dopo l'uso. Non lasciare che i reagenti scorrano lungo le pareti laterali dei pozzetti; prima di iniziare l'analisi portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (da 20°C a 25°C). Miscelare delicatamente tutti i reagenti agitando o capovolgendo delicatamente il prodotto. Non utilizzare componenti del kit danneggiati o contaminati. I componenti del kit sono abbinati e non dovranno essere utilizzati reagenti provenienti da lotti diversi.

### Materiali richiesti ma non forniti

Microdiluitori o micropipette in grado di dispensare 25, 75 e 100 µl. Piastre di microtitolazione, con pozzetti rigidi a forma di U, per es. Dynatech M24A.

### Raccolta e preparazione dei campioni

Il test prevede solo l'impiego di campioni di siero e CSF. Non si dovrebbe utilizzare il plasma. Prelevare un campione di sangue venoso dal paziente e lasciare che il coagulo si formi e si ritragga. Centrifugare il campione di sangue coagulato e raccogliere il siero trasparente. Non utilizzare siero emolizzato, contaminato o lipemico per il test.

I campioni di siero dovrebbero essere interamente risospesi prima dell'uso. I campioni non richiedono alcun pre-trattamento. Non congelare-scongela ripetutamente i campioni perché questa operazione può causare falsi risultati.

### Procedura

#### A. Preparazione del Reagente

1. Lasciare rinvenire i reagenti MAST-TPHA a temperatura ambiente prima dell'uso.
2. Risospesare interamente le Cellule Test e di Controllo prima dell'uso. Evitare la formazione di schiuma.

#### B. Procedura qualitativa (screening)

Ogni test richiede 4 pozzetti di una piastra per microtitolazione.

1. Dispensare il Diluente per il Campione (Diluent Sample) nella piastra per microtitolazione nel seguente modo:
  - 25 µl nelle file 1, 3 & 4 e 100 µl nella fila 2.
2. Dispensare 25 µl di ciascun campione in un pozzetto della fila 1.
  - Miscelare con cura e trasferire 25 µl dalla fila 1 alla fila 2.
  - Miscelare con cura e trasferire 25 µl dalla fila 2 alla fila 3.
  - Miscelare con cura ed eliminare 25 µl dalla fila 3.
  - Trasferire 25 µl dalla fila 2 alla fila 4.
  - Miscelare con cura ed eliminare 25 µl dalla fila 4.
3. Aggiungere 75 µl di Cellule di Controllo ben miscelate alla fila 3.
4. Aggiungere 75 µl di Cellule Test ben miscelate alla fila 4.
5. Picchiettare delicatamente la piastra per miscelare. La diluizione finale dei campioni nelle file 3 e 4 è di 1/80.
6. Coprire e lasciare riposare a temperatura ambiente per 45 a 60 minuti (in alternativa la piastra può essere lasciata riposare per una notte).
7. Esaminare i modelli di agglutinazione.

Nota: I controlli del kit sono pre-diluiti e dovrebbero essere aggiunti direttamente nei singoli pozzetti delle file 3 e 4 (non è richiesto alcun diluente).

#### C. Procedura di screening alternativa con diluizione in singolo pozzetto

1. Dispensare 190 µl di diluente nella fila 1.
2. Dispensare 10 µl del campione nella fila 1 e miscelare.
3. Eliminare 150 µl dalla fila 1.
4. Aggiungere 25 µl dalla fila 1 alla fila 2.
5. Aggiungere 75 µl di Cellule Test ben miscelate alla fila 1.
6. Aggiungere 75 µl di Cellule di Controllo ben miscelate alla fila 2.
7. Picchiettare delicatamente la piastra per miscelare.
8. La diluizione finale dei campioni nelle file 1 e 2 è di 1/80.
9. Coprire e lasciare riposare a temperatura ambiente per 45 a 60 minuti (in alternativa la piastra può essere lasciata riposare per una notte).
10. Esaminare i modelli di agglutinazione.

#### D. Procedura Quantitativa

Se si intende quantificare di routine i risultati positivi, la procedura di screening può essere modificata omettendo le Cellule di Controllo e preparando solo una diluizione finale. Gran parte dei campioni saranno negativi o realmente positivi, e le Cellule di Controllo potranno essere utilizzate nella procedura quantitativa sotto riportata.

1. Preparare le diluizioni in una piastra per microtitolazione come segue:
  - Per ogni campione, dispensare 25 µl di diluente in ciascun pozzetto di una colonna della piastra. Per la titolazione dei controlli si dovrebbe iniziare dalla fila 3.
  - Trasferire 25 µl dalla fila 2 della piastra di screening originale alla fila 1 della piastra quantitativa.
  - Miscelare ed eliminare 25 µl.
  - Trasferire 25 µl dalla fila 2 della piastra di screening originale alla fila 2 della piastra quantitativa.
  - Preparare 25 µl di doppie diluizioni dalla fila 2 alla fila 8 (per i controlli, le doppie diluizioni dovrebbero iniziare dalla fila 3).
2. Aggiungere 75 µl di Cellule di Controllo ben miscelate alla fila 3.
3. Aggiungere 75 µl di Cellule Test ben miscelate alle file 2 - 8.
4. Picchiettare delicatamente la piastra per miscelare. La diluizione finale dei campioni nelle file 1 e 2 è di 1/80.
5. Coprire e lasciare riposare a temperatura ambiente per 45 - 60 minuti (o per una notte)

Nota: I controlli del kit sono pre-diluiti e 25 µl dovrebbero essere aggiunti direttamente nei singoli pozzetti delle file 1, 2 e 3 con doppie diluizioni a partire dalla fila 3 (non è richiesto alcun diluente nella fila 1 o nella fila 2).

### Interpretazione dei risultati

#### Procedura di Screening

Le cellule agglutinate formano uno strato liscio, uniforme sul fondo del pozzetto. Le cellule non agglutinate formano un bottone compatto nel centro del pozzetto. Le cellule debolmente agglutinate formano un modello anulare caratteristico o un tappeto di cellule circondato da un cerchio rosso. L'agglutinazione delle Cellule Test ma non delle Cellule di Controllo indica la presenza di anticorpi specifici per *T. pallidum*. La mancata agglutinazione delle Cellule Test indica che gli anticorpi specifici per *T. pallidum* sono assenti o al di sotto del limite di identificazione. Il modello delle Cellule di Controllo non dovrebbe essere utilizzato come indice di un modello negativo con le Cellule Test poiché danno origine a un bottone di cellule più compatto. L'agglutinazione delle Cellule Test unitamente a quella delle Cellule di Controllo indica la presenza di anticorpi anti-cellule. In questo caso il test non è valido e dovrà essere ripetuto. Se il test non è valido, dovrà essere ripetuto dopo aver prima effettuato un assorbimento del siero analitico. Per ottenere questo risultato, diluire il siero analitico 1/4 con le Cellule di Controllo e lasciare riposare a temperatura ambiente per 45-60 minuti. Dopo aver centrifugato il campione (1000 rpm/5 min) diluire il surnatante 1/5 nel Diluente. Testare direttamente questa diluizione, senza effettuare ulteriori diluizioni, utilizzando le sospensioni Cellulari Test e di Controllo. Si consiglia inoltre un test FTA ABS di conferma.

#### Procedura Quantitativa

Interpretare i risultati come per la procedura di screening. Il titolo è rappresentato dalla maggiore diluizione che manifesta una agglutinazione. Il siero di Controllo Positivo dovrebbe fornire un titolo di 1:2560 ± una doppia diluizione. La diluizione di partenza per la procedura quantitativa è 1/80. Sono stati rilevati titoli di 1/164.000 senza alcun effetto pro-zona (Hook).

#### Limitazioni

Il test è stato convalidato solo per l'uso con campioni di siero o CSF. Non riutilizzare il prodotto. Nessun test sierologico di agglutinazione può discriminare tra gli anticorpi riconducibili a una infezione sostenuta da *T. pallidum* e gli anticorpi riconducibili a una infezione sostenuta da altri treponemi patogeni, cioè *T. pertenue* e *T. carateum*. Sebbene non siano stati identificati fattori di interferenza, tutti i campioni positivi dovrebbero essere confermati, per es. con la procedura FTA-ABS, insieme agli altri riscontri clinici.

Un risultato positivo debole o sospetto dovrà essere rivalutato. La diagnosi non dovrà unicamente basarsi sui riscontri di un'analisi clinica. Durante l'interpretazione del test si consiglia vivamente di prendere in considerazione tutti i dati clinici. Il test può dare un risultato negativo in caso di Sifilide attiva precoce o di Sifilide tardiva latente. Per completare il profilo dei risultati si consiglia di eseguire un test RPR o un test antigenico VDRL/carbonio sul campione del paziente, poiché questi test identificheranno la Sifilide attiva.

#### Controllo qualità

I controlli del kit o i campioni con valori noti dovrebbero essere testati in ciascuna sessione. Il controllo negativo del kit dovrebbe fornire un risultato negativo dopo 45 minuti. Il controllo positivo dovrebbe fornire un risultato positivo dopo 45 minuti. Se i livelli dei controlli o dei campioni noti non forniscono i risultati attesi, i risultati del test non dovranno essere convalidati.

#### Bibliografia

La pertinente bibliografia è disponibile su richiesta