



**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

### Utilisation prévue

**HA101.** Test d'hémagglutination de *Treponema pallidum* pour le sérodiagnostic de la syphilis.

USAGE IN VITRO SEULEMENT

### Composition

MAST-TPHA contient les composants suivants pour le HA101-200 tests (HA102-2000 tests):

1. Diluant d'échantillon, prêt à l'emploi. 2 x 20 ml. Contient un tampon phosphate pH 7,2 et du sérum normal de lapin.
  2. Cellules Test, suspension prête à l'emploi. 2 x 8,5 ml de suspension d'érythrocytes de poulet traités, sensibilisés avec *T. pallidum* (souche de Nichol) dans un tampon phosphate contenant les composants cellulaires de *T. pallidum* (souche de Reiter)
  3. Cellules de contrôle, suspension prête à l'emploi. 2 x 8,5 ml de suspension d'érythrocytes de poulet traités dans un tampon phosphate contenant les composants cellulaires de *T. pallidum* (souche de Reiter)
  4. Contrôle positif, prêt à l'emploi. 1 x 2 ml de sérum humain dilué contenant les anticorps spécifiques de *T. pallidum*. Prédilué au 1:20 avec un titre de 1:2560 ± une dilution au 1/2.
  5. Contrôle négatif, prêt à l'emploi. 1 x 2 ml de sérum humain dilué négatif pour *T. pallidum*.
  6. Notice d'emploi.
- Les réactifs 1 à 5 ci-dessus contiennent tous de l'azotate de sodium à 0,095% comme conservateur.

### Stabilité et stockage

Le coffret non ouvert se conserve à 2 à 8°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Après ouverture, MAST-TPHA peut être stocké à 2 à 8°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Ne pas congeler les réactifs. Les échantillons se conservent à 2 à 8°C au maximum pendant 48 heures avant d'être testés. Au-delà, les stocker à moins 20°C au maximum 1 an. Les échantillons décongelés doivent être bien mélangés avant utilisation.

### Précautions d'emploi

MAST-TPHA contient des réactifs d'origine humaine testés et confirmés négatifs pour les tests VHC, VIH I et II et l'antigène HBs par des techniques approuvées par les banques du sang. Cependant, aucun test ne peut totalement garantir qu'un produit d'origine humaine est exempt d'agent infectieux, il est donc recommandé de les manipuler avec soin et attention lors du test et lors de leur élimination. Ne pas avaler. MAST-TPHA contient des réactifs considérés comme dangereux selon la réglementation en matière de classification chimique et d'emballage au Royaume Uni. Tous les réactifs doivent être considérés comme potentiellement dangereux lors de leur utilisation et lors de leur élimination. Observer les précautions d'usage pour les produits dangereux et les techniques aseptiques. A utiliser uniquement par du personnel formé et qualifié. Stériliser tous les déchets dangereux avant de les jeter. L'azotate de sodium est un conservateur toxique en cas d'ingestion et qui peut réagir avec les canalisations en plomb et cuivre en formant des sels très explosifs. Rincer abondamment avec de l'eau. Se référer à la fiche de sécurité. Les tests d'hémagglutination sont sensible à la chaleur, à la lumière directe et aux vibrations. Les maintenir éloignés de telles sources pendant les phases d'incubation. Eviter de contaminer les échantillons ou les réactifs par de la salive car cela peut causer des résultats erronés. Utiliser des embouts séparés pour chaque échantillon pour prévenir tout risque de contaminations croisées. Remplacer tous les bouchons des flacons de réactif immédiatement après usage. Ne pas laisser les réactifs couler le long des bords des flacons. Avant de commencer le test, ramener tous les réactifs à température ambiante (20 à 25°C). Mélanger doucement tous les réactifs par renversement et balancement. Ne pas utiliser les réactifs endommagés ou contaminés. Les composants de chaque coffret sont tracés et ne doivent pas être échangés.

### Matériels nécessaire non fournis

Microdiluteurs ou micropipettes capables de délivrer 25, 75 et 100 µL.  
Microplaques avec des puits à fond en U ex: Dynatech M24A.

### Prélèvement et préparation de l'échantillon

Le test est destiné à une utilisation sur échantillons de sérum ou de LCR uniquement. Les échantillons de plasma ne doivent pas être utilisés. Ponctionner un échantillon de sang veineux et laisser se former et se rétracter le culot. Centrifuger le sang coagulé et récupérer le sérum limpide. Ne pas utiliser de sérums hémolysés, contaminés ou lipidiques. Les sérums doivent être agités avant utilisation. Les échantillons ne nécessitent aucun prétraitement. Les échantillons ayant subis des congélations et décongelés répétés peuvent donner des résultats erronés.

### Procédure

#### A. Préparation des réactifs

1. Ramener les réactifs du coffret MAST-TPHA à température ambiante avant utilisation.
2. Bien homogénéiser les cellules Test et de contrôle avant utilisation. Eviter la formation de bulles.

#### B. Procédure qualitative (dépistage)

Chaque test nécessite 4 puits de la microplaque.

1. Distribuer le Diluant d'échantillon dans la microplaque comme suit:
  - 25µl dans les rangées 1,3 & 4 et 100µl dans la rangée 2.
2. Distribuer 25µl de chaque échantillon dans un puits de la rangée 1.
  - Bien mélanger et transférer 25µl de la rangée 1 à la rangée 2.
  - Bien mélanger et transférer 25µl de la rangée 2 à la rangée 3.
  - Bien mélanger et éliminer 25µl des puits de la rangée 3.
  - Transférer 25µl des puits de la rangée 2 vers la rangée 4.
3. Bien mélanger et éliminer 25µl des puits de la rangée 4.
4. Ajouter 75µl de cellules de contrôle bien mélangées dans la rangée 3.
5. Ajouter 75µl de cellules test bien mélangées dans la rangée 4.
6. Tapoter la microplaque doucement pour mélanger. La dilution finale de l'échantillon dans les rangées 3 et 4 est de 1:80.
7. Recouvrir la microplaque et laisser reposer à température ambiante pendant 45 à 60 minutes (ou une nuit entière).
8. Examiner les profils d'agglutination.

Remarque: les contrôles fournis dans le coffret sont déjà dilués et doivent être ajoutés directement dans les puits des rangées 3 et 4 (pas de dilution nécessaire).

#### C. Procédure alternative de dépistage avec dilution dans un puits

1. Distribuer 190 µl de diluant dans la rangée de puits 1.
2. Distribuer 10 µl d'échantillon dans les puits de la rangée 1 et mélanger.
3. Retirer 150 µl des puits de la rangée 1.
4. Transférer 25 µl des puits de la rangée 1 vers la rangée 2.
5. Ajouter 75 µl de cellules Test mélangées dans les puits de la rangée 1.
6. Ajouter 75 µl de cellules de contrôle dans les puits de la rangée 2.
7. Tapoter la microplaque doucement pour mélanger. La dilution finale de l'échantillon dans les rangées 3 et 4 est de 1:80.
8. Recouvrir la microplaque et laisser reposer à température ambiante pendant 45 à 60 minutes (ou une nuit entière).
9. Examiner les profils d'agglutination.

#### D. Procédure quantitative

Si l'intention est de titrer les résultats positifs du dépistage, les cellules de contrôle peuvent être omises et préparer seulement une dilution finale. La plupart des échantillons seront négatifs ou vraiment positifs et les cellules de contrôle peuvent être utilisées lors de la procédure quantitative indiquée ci-dessous:

Préparer des dilutions de la microplaque selon les étapes suivantes:

- Pour chaque échantillon, distribuer 25 µl de diluant dans chaque puits de la première colonne de la microplaque. Pour le titrage des contrôles, la distribution doit commencer à partir de la rangée 3.
- Transférer 25 µl de la rangée 2 de la plaque de dépistage originale dans la rangée 1 de la plaque de dosage quantitatif.
- Mélanger et éliminer 25 µl.
- Transférer 25 µl de la rangée 2 de la plaque de dépistage originale vers la rangée 2 de la plaque de dosage quantitatif.
- Préparer 25 µl de dilutions au demi de la rangée 2 à la rangée 8 (pour les contrôles, les dilutions au demi commencent à partir de la rangée 3).
- Ajouter 75 µl de cellules de contrôle dans la rangée 1.
- Ajouter 75 µl de cellules Test dans les rangées 2 à 8.
- Mélanger doucement en tapotant.
- La dilution finale de l'échantillon dans les rangées 3 et 4 est de 1:80.
- Recouvrir la microplaque et laisser reposer à température ambiante pendant 45 à 60 minutes (ou bien une nuit entière).

**Remarque:** les contrôles du coffret sont déjà dilués et 25 µl doivent être ajoutés directement dans les puits des rangées 1, 2 et 3 avec des dilutions au demi commençant à partir de la rangée 3 (aucun diluant n'est nécessaire dans les puits des rangées 1 ou 2).

### Interprétation des résultats

#### Procédure de dépistage

Les cellules agglutinées forment une couche lisse au fond du puits. Les cellules non agglutinées donnent un culot compact au centre du puits. Les cellules faiblement agglutinées forment un anneau caractéristique ou un agglutinat de cellules entourées d'un cercle rouge. Une agglutination des cellules Test sans agglutination des cellules de Contrôle indique la présence d'anticorps spécifiques de *T. pallidum*. L'absence d'agglutination avec les cellules Test indique que les anticorps spécifiquement dirigés contre *T. pallidum* sont absents ou en dessous de la limite de détection.

Le profil des cellules de Contrôle ne doit pas être utilisé comme exemple de résultat négatif comme les cellules Test car il correspond en fait à un culot plus compact de cellules. Une agglutination des cellules Test et des cellules de Contrôle indique la présence d'anticorps dirigés contre ces cellules. Dans ce cas le test n'est pas valide et doit être répété. Un test non validé doit être répété après avoir effectué une absorption du sérum à tester. Pour cela, diluer le sérum à tester au 1/4 dans les cellules de Contrôle et reposer à température ambiante pendant 40 à 60 minutes. Après centrifugation de l'échantillon (1000 t/min pendant 5 min) diluer le surnageant au 1/5 dans le Diluant. Tester cette dilution directement sans autre dilution à l'aide des suspensions de cellules Test et de Contrôle. Un test de confirmation FTA absorbé est aussi recommandé.

#### Procédure quantitative

Interpréter les résultats comme dans la procédure de dépistage. Le titre correspond à la plus grande dilution présentant encore une agglutination. Le sérum de contrôle positif doit donner un titre de 1:2560 +/- une dilution au demi. La dilution de départ pour la procédure quantitative est de 1:80. Des titres de 1:164000 ont été détectés sans effet de zone (Hook).

#### Limites d'utilisation

Le test est validé seulement pour les échantillons de sérums et de LCR. Ne pas réutiliser le produit. Aucun test sérologique d'agglutination ne peut discriminer les anticorps dus à une infection à *T. pallidum* et les anticorps dus à d'autres tréponèmes pathogènes tels que *T. pertenue* et *T. carateum*. Aucun autre facteur d'interférence n'a été identifié bien que tous les échantillons positifs aient été confirmés par la technique FTA absorbé, en conjonction avec d'autres données cliniques.

Un résultat positif faible ou douteux doit être re-confirmé. Le diagnostic ne peut être posé sur la base d'un seul test. Lors de l'interprétation du test il est fortement recommandé de prendre en considération toutes les données cliniques. Le test peut donner des résultats négatifs en cas de syphilis active précoce ou en phase de latence. Pour compléter les résultats il est conseillé de tester l'échantillon du patient avec le test RPR ou VDRL/charbon pour détecter une éventuelle syphilis active.

#### Contrôle de qualité

Les contrôles du coffret ou des sérums de titres connus doivent être testés dans chaque série de tests. Le contrôle négatif du coffret doit donner un résultat négatif après 45 minutes. Le contrôle positif du coffret doit donner un résultat positif après 45 minutes. Si les titres des contrôles ou des sérums connus ne sont pas corrects, le test doit être considéré comme non valide.

#### Références

Bibliographie disponible sur demande.