**Непрямий тест гемаглютинації для якісного та напівкількісного виявлення специфічних антитіл класу анти-T. Pallidum, система на мікропланшеті 100 тестів**

**ЧИТАННЯ ТА ТЛУМАЧЕННЯ**

**Якісне визначення антитіл до Treponema pallidum**

Тільки для професійного використання в діагностиці in vitro. Зберігати при 2 - 8ºC.

**ПРИНЦИП МЕТОДУ**

TPHA (Treponema Pallidum Hemagglutination) MonlabTest — це тест непрямої гемаглютинації для якісного та напівкількісного виявлення специфічних анти-Т. pallidum антитіла в сироватці або плазмі людини. Стабілізовані пташині еритроцити, сенсибілізовані антигенним розчином Т. pallidum, агглютинують у присутності анти-Т. pallidum антитіла для надання характерної картини.

**КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ**

Сифіліс — венеричне захворювання, спричинене блідою T. pallidum. Передача T. pallidum відбувається при прямому контакті з продуктивним ураженням. Інкубаційний період становить близько

20 днів, і хвороба прогресує через 3 різні стадії з різними симптомами. Анти-T. антитіла pallidum з’являються на першій стадії та можуть зберігатися у 85-90% пацієнтів після лікування та одужання.

**РЕАКТИВИ**

|  |  |
| --- | --- |
| **R1: тестові клітини (TC)** | Стабілізовано літак еритроцити чутливий з *T. pallidum*(Ніколс) антигени, консервант, pH 7,2. |
| **R2: Контрольні клітини (CC)** | Стабілізовано підвіска з літак еритроцити,Консервант, pH 7,2. |
| **R3: розчинник (DIL)** | Фосфатний буферний розчин, pH 7,2, T. pallidum(Reiter) екстракт, Консервант. |
| **КОНТРОЛЬ +** | Імунна людська сироватка попередньо розведена 1:20. презерватив |
| **КОНТРОЛЬ -** | Сироватка тваринного походження, консервант |

Прочитайте результати, порівнюючи паттерни аглютинації тестових клітин з контрольними клітинами (Примітка 3). Показання оцінюються та повідомляються відповідно до таких критеріїв:

**ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Ступінь гемаглютинації** | **Читання** | **результати** |
| Гладкий шар клітин, що вкриває все дно лунки, іноді зі складеними краями | 4+ | Реактивний |
| Гладкий шар клітин, що покриває частину дна лунки | 3+ | Реактивний |
| Гладкий шар клітин, оточений червоним колом | 2+ | Реактивний |
| Гладкий шар клітинок, що покриває меншу площу і оточений меншим червоним колом | 1+ | Реактивний |
| Форма кнопки з клітинок з невеликим отвором по центру |  | Граничний |
| Дуже компактний елемент з клітин, іноді з дуже маленьким отвором у центрі. | - | Негативний |

Негативний контроль не повинен показувати жодної моделі аглютинації як з тестовими, так і з контрольними клітинами.

Позитивний контроль має показувати лише моделі аглютинації з тестовими клітинами.

Будь-яка картина аглютинації, показана контрольними клітинами, вказує на наявність неспецифічних антитіл і не може бути інтерпретована. Зразки з прикордонним візерунком повинні бути протестовані повторно та повідомлені як негативні, якщо той самий малюнок відтворюється.

Реактивні зразки слід титрувати за напівкількісним методом. Титр сироватки визначається як найвище розведення, що показує реактивний результат.

Клінічний діагноз не слід встановлювати на підставі результатів одного тесту, він повинен об’єднувати як клінічні, так і лабораторні дані.

**КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ**

Позитивний і негативний контролі рекомендовані для моніторингу виконання процедури, а також порівняльна модель для кращої інтерпретації результату.

Усі результати, відмінні від результату негативного контролю, будуть вважатися позитивними.

**ЕФЕКТИВНІСТЬХАРАКТЕРИСТИКИ**

1. **Аналітична чутливість:**0,1 МО/мл проти 1-го міжнародного стандарту для сифілітичної плазми крові людини IgG та IgM NIBSC 05/132.

# Діагностична чутливість: 100%

1. **Діагностична специфічність:**100%

**ПЕРЕШКОДИ**

Компоненти людського походження були протестовані та виявилися негативними на наявність HBsAg, HCV та антитіл до ВІЛ (1/2). Однак поводьтеся з ним обережно, оскільки він потенційно заразний.

Реагенти містять азид натрію (<0,1%), який може реагувати зі свинцевими та мідними трубами з утворенням потенційно вибухонебезпечних азидів. Утилізуючи такі реагенти, промийте їх великою кількістю води, щоб запобігти накопиченню азиду.

**КАЛІБРУВАННЯ**

Чутливість реагенту відкалібровано відповідно до 1-го міжнародного стандарту сифілітичної сироватки (ВООЗ).

**ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ**

Усі компоненти набору залишатимуться стабільними до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо вони зберігаються щільно закритими при температурі 2-8ºC і запобігають забрудненню під час їх використання. Не заморожуйте, заморожені реагенти можуть змінити функціональність тесту.

Зберігайте флакони у вертикальному положенні. Горизонтальне положення може спричинити скупчення клітин. Якщо положення змінено, обережно перемішайте, щоб розчинити агрегати, які можуть бути присутні.

**Реагенти псування:**Наявність кластерів, часток і каламутності.

**ДОДАТКОВІОБЛАДНАННЯ**

* U-лункові планшети для мікротитрування.
* Піпетки 25-75 мкл.

**ЗРАЗКИ**

Білірубін (20 мг/дл), гемоглобін (10 г/л), ліпіди (10 г/л) і ревматоїдні фактори (300 МО/мл) не заважають. Інші речовини можуть заважати4.

**ПРИМІТКИ**

1. Енергійно або на вихровому змішувачі перемішайте флакони тестових і контрольних клітин безпосередньо перед використанням.
2. Тримайте мікропланшет подалі від вібрації, тепла та прямих сонячних променів.
3. Патерн аглютинації контрольних клітин не слід використовувати як еталон для негативних результатів, оскільки контрольні клітини дають більш компактну кнопку, ніж тестові клітини.
4. Сироватки з високим рівнем антитіл можуть давати картини аглютинації з дуже загнутими краями.

**ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ**

- Тест TPHA не може розрізнити антитіла до Т. pallidum від антитіл до інших патогенних трепонем. Рекомендується, щоб усі позитивні результати підтверджувалися альтернативними процедурами, такими як FTA-Abs.

* Хибнопозитивні результати були описані у зразках пацієнтів з мононуклеозом, проказою, бореліозом, аутоімунними захворюваннями та наркоманією.
* Тест TPHA не є корисним для визначення ефективності терапії, оскільки рівень антитіл залишається тривалий час після того, як хвороба була клінічно вилікувана, і тест залишається позитивним.

**БІБЛІОГРАФІЯ**

Свіжа сироватка або плазма. Стабільний 7 днів при 2-8ºC. Зразки можна заморожувати при температурі -20 °C або нижче, їх слід розморозити та перемішати перед тестуванням.

Зразки з наявністю фібрину необхідно центрифугувати перед дослідженням. Не використовуйте сильно гемолізовані або ліпемічні зразки.

**ПРОЦЕДУРА**

# Якісний метод

1. Дайте реагентам і зразку досягти кімнатної температури.
2. Розведіть сироватку 1:20 розчинником (10 мкл сироватки + 190 мкл розчинника)
3. Прокапайте в сусідні лунки планшета для мікротитрування (Примітка 1):

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Зразок 1:20 або контролі (мкл) | 25 | 25 |
| Контрольні клітини (мкл) | 75 | -- |
| Тестові клітини (мкл) | -- | 75 |

1. Ретельно перемішайте мікропланшет до повної гомогенізації реакції змішування.
2. Накрийте мікропланшет та інкубуйте при кімнатній температурі протягом 45-60 хвилин (Примітка 2).
3. Макроскопічно дослідити аглютинаційні структури клітин.

# Напівкількісний метод

1. Зробіть дворазове розведення попереднього зразка 1:20 у розчиннику.
2. Перевірте кожне розведення, як описано в якісному методі.
	1. Larsen SA та ін., Clin. Microbiol. Rev., 1995.
	2. M. Janier та ін., Європейські рекомендації з лікування сифілісу, 2014 р.
	3. Ratnam S. et al., Can J Infect Dis Med Microbiol, 2005.
	4. Молодий ДС. Вплив ліків на клінічні лабораторні дослідження, 4-е видання AACC Press, 1995.

**УПАКОВКА**



|  |  |
| --- | --- |
|  | Тестові клітини (TC): 1 x 7,5 мл |
|  | Контрольні клітини (CC): 1 x 7,5 мл |
| MO-165024 100 тестів | Розчинник (DIL): 2 x 10 мл |
|  | Контроль +: 1 х 1 мл |
|  |  Контроль -: 1 х 1 мл  |

Посилання: MO-165024  Monlab SL Selva de Mar 48 08019 Barcelona (Іспанія)Тел.: + 34 93 433 58 60 Факс +34 93 436 38 94orders@monlab.com [www.monlab.com](http://www.monlab.com/)

**Редакція: березень 2022 р**