

SYPHILIS TPHA LIQUID

MÉTODOS:

Hemoaglutinação.

FINALIDADE:

Teste de hemoaglutinação indireta para a determinação qualitativa e quantitativa de anticorpos contra *Treponema pallidum*. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

TPHA é um teste de hemoaglutinação indireta para a detecção de anticorpos específicos contra *Treponema pallidum*. Os eritrócitos aviários revestidos com antígeno de T. pallidum aglutinam-se na presença de anticorpos da sífilis para formar padrões característicos em placas de microtitulação. As células são suspensas em um meio absorvente projetado para eliminar anticorpos contra treponemas não patogênicos. Os eritrócitos aviários revestidos sem o antígeno são usados como controle para revelar reatividade não específica. As amostras são examinadas para anticorpos da sífilis usando o teste qualitativo. O título de anticorpos reativos em amostras positivas é determinado no teste semiquantitativo.

SIGNIFICADO CLÍNICO:

A sífilis é uma infecção crônica que progride por vários estágios de infecção. Os sintomas típicos inicialmente são feridas (cancro), depois erupção cutânea sifilítica seguida por longos períodos de dormência. A infecção não tratada pode resultar em problemas cardiovasculares e neurosífilis. A infecção é causada pelo Treponema pallidum subsp. pallidum espiroqueta e geralmente é adquirida por contato sexual, embora a doença também possa ser transmitida por transfusão de sangue infectado ou verticalmente no útero. O organismo tem se mostrado praticamente impossível de cultivar em meio artificial, e o diagnóstico da infecção geralmente depende da demonstração de anticorpos no sangue, que aparecem logo após a infecção inicial.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2-8°C.

Reagentes:

STC - Células Teste TPHA: Pronta para uso.

Eritrócitos de aves cobertas com antígeno *Treponema pallidum* 0,4 %; Cloreto de sódio 0,15 mol/L.

SCC - Células Controle TPHA: Pronta para uso.

Eritrócitos de aves não reativos com anticorpo anti- *Treponema pallidum* 0,4 %; Cloreto de sódio 0,15 mol/L.

PC - Controle Positivo: Soro controle de matriz humana, líquido, estabilizado (pré-diluído 1/20 pronto para uso), reativo com células teste. Potencialmente Infectante.

NC - Controle Negativo: Controle líquido estabilizado, não reativo com células testes e células controle (pré-diluído 1/20 pronto para uso). Albumina bovina 0,25%, Tampão glicina 0,1 mol/L.

DIL - Diluente TPHA: Soro de coelho 0,4 %; Cloreto de sódio 0,15 mol/L.

Todos os reagentes e controles contêm azida sódica 0,095%.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo, se fechados e armazenados entre 2 e 8°C. Não congelar. Após a abertura dos frascos os reagentes são estáveis por 6 meses. Evitar contaminação.

TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 7 dias e em uma temperatura de até 37°C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes. Os reagentes e os controles contêm azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa.
- O material proveniente de sangue humano utilizado para a manufatura deste kit foi testado para a presença de HBsAg e anticorpos anti-HCV e HIV encontrando-se não reativo. Entretanto este material ainda deve ser considerado potencialmente patogênico, e deve ser manuseado com cuidado. Recomenda-se seguir as normas de biossegurança.
- Todo material contaminado com amostras dos pacientes ou controles do kit devem ser inativados por autoclavagem (60 min. a 120º) ou por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 10% por no mínimo 60 minutos;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Não utilizar reagentes de lotes diferentes.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

AMOSTRA:

- Utilizar somente SORO.
- A amostra deve ser livre de contaminação e hemólise. Soro recente pode ser armazenado por 7 dias entre 2 e 8°C e a -20°C por até 1 mês. Amostras descongeladas devem ser homogeneizadas antes do teste.

Não congelar e descongelar repetidamente as amostras, pois isso causará resultados falsos.

- O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (2 a 8°C) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

MATERIAL NECESSÁRIO E NÃO FORNECIDO:

- Micropipetas ou microtitulador (10 µL, 25 µL, 75 µL, 100 µL, 190 µL).
- Placas de microtitulação com fundo em "U" (Ex.: placas de microteste de perfil U Rotilabo 9291.1, Carl Roth GmbH).

MÉTODOS DE ANÁLISE:

TESTE QUALITATIVO:

O teste requer 3 poços em uma placa de microtitulação (1 poço para diluição e 2 poços para o próprio teste) e 50 µL de amostra diluída em **DIL** 1 para 20 (25 µL de amostra diluída por poço).

- Dilua a amostra em 1 para 20 misturando bem 190 µL **DIL** e 10 µL de amostra no poço 1 (poço de diluição). **Nota:** Não dilua **PC** e **NC** nesta etapa se o controle de qualidade estiver sendo realizado.
- Transfira 25 µL da amostra diluída (ou **PC** e **NC** não diluídos) para cada um dos poços, 2 (poço de controle) e 3 (poço de teste).
- Ressuspender **SCC** e **STC** balançando os frascos suavemente. Adicione 75 µL de **SCC** ao poço de controle e 75 µL de **STC** ao poço de teste. A diluição final da amostra após a adição de células é de 1 para 80.
- Bata suavemente na placa para misturar. Cubra e deixe descansar por 45-60 minutos em temperatura ambiente. Os padrões de aglutinação são estáveis por até uma hora se não forem perturbados.
- Examine os padrões de aglutinação.

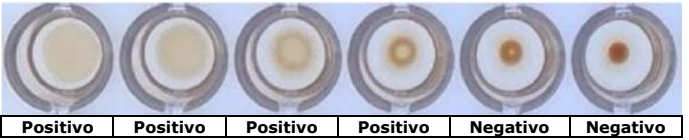
TESTE SEMI-QUANTITATIVO:

O teste requer 10 poços em uma placa de microtitulação (1 poço para diluição e 9 poços para o teste em si) e 50 µL de amostra diluída em **DIL** para 1 em 20.

- Dilua a amostra em 1 para 20 homogeneizando bem 190 µL **DIL** e 10 µL de amostra no poço 1 (poço de diluição). **Nota:** Não dilua **PC** e **NC** nesta etapa se o controle de qualidade estiver sendo realizado.
- Dispense 25 µL **DIL** nos poços 4 - 10.
- Transfira 25 µL de amostra diluída do poço 1 (ou **PC** e **NC** não diluídos dos respectivos frascos) para cada um dos poços 2, 3 e 4 (poço controle e poços de teste 1/80 e 1/160, respectivamente). Homogeneize bem o poço 4.
- Diluir a amostra do poço 4 em série nos poços 5 - 10 de forma duplicada: transferir 25 µL do poço 4 para o poço 5, misturar o poço 5, transferir 25 µL do poço 5 para o poço 6, homogeneizar o poço 6, etc. excesso de 25 µL do último poço.
- Ressuspender **SCC** e **STC** balançando os frascos suavemente. Adicionar 75 µL de **SCC** ao poço 2 (poço de controle) e 75 µL de **STC** a cada um dos poços 3 - 10 (poços de teste). A diluição final da amostra após a adição de células é de 1 para 80 no poço de controle e de 1 para 80 a 1 para 10240, em etapas de duplicação, nos poços de teste.
- Bata suavemente na placa para misturar. Cubra e deixe descansar por 45-60 minutos em temperatura ambiente. Os padrões de aglutinação são estáveis por até uma hora se não forem perturbados.
- Examine os padrões de aglutinação e determine o título (a diluição mais alta mostra aglutinação).

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO:

Resultado do teste semiquantitativo com **PC** como amostra.



As células fortemente aglutinadas formam uma camada uniforme sobre o fundo do poço. As células fracamente aglutinadas formam um padrão de anel característico. As células não aglutinadas formam um botão compacto no centro do poço.

Qualitativo: A ausência de aglutinação indica que qualquer anticorpo reativo, se presente, está abaixo do limite de detecção do ensaio. Aglutinação (fraca ou forte) de **STC**, mas não de **SCC** indica a presença de um anticorpo específico para T. pallidum. As amostras que induzem aglutinação devem ser reavaliadas qualitativa ou quantitativamente e, se positivas, devem ser testadas por métodos adicionais para confirmação. Os anticorpos não específicos podem induzir aglutinação de **STC** e **SCC** e tornar o resultado inválido. Esses anticorpos podem ser absorvidos por pré-incubação com **SCC** (ver Nota Importante 2).

Semiquantitativo: O título é a diluição mais alta mostrando aglutinação (1/2560 no exemplo acima).

CONTROLE DE QUALIDADE:

O desempenho correto de **STC** e **SCC** deve ser verificado com os soros de controle positivo (**PC**) e negativo (**NC**) com cada lote de amostras de pacientes. **PC** faz **STC** aglutinar para formar um padrão característico no fundo do poço. Após a titulação, **PC** dá um título de 1/1280 ± 1 diluição de duplicação (ver imagem acima). O grau de aglutinação diminui à medida que a diluição aumenta. Em contraste, **PC** não induz aglutinação com **SCC** - um botão compacto de células se forma no fundo do poço. **NC** não induz aglutinação com **STC** ou **SCC**. Nota: **PC** e **NC** estão prontos para uso e, ao contrário de uma amostra,

REV.: 04/25



eles não devem ser diluídos antes de serem combinados com **SCC** ou **STC**. **Nota:** **PC** e **NC** estão prontos para uso e, ao contrário de uma amostra, não devem ser diluídos antes de serem combinados com **SCC** ou **STC**.

NOTAS IMPORTANTES:

1- Amostras positivas devem ser retestadas com um teste confirmatório. Amostras de pacientes com sífilis primária, contendo principalmente anticorpos IgM específicos, podem apresentar resultados negativos. Se a infecção por sífilis ainda for suspeita nesses casos, o teste deve ser repetido após cerca de 2 semanas com uma amostra recém-colhida. Evidências clínicas devem sempre ser consideradas. Devido à persistência a longo prazo de anticorpos específicos na circulação em pacientes com sífilis tratada, um resultado positivo pode indicar infecção passada ou presente. Embora o teste TPHA seja altamente específico, sabe-se que resultados falso-positivos ocorrem em pacientes com hanseníase, mononucleose infecciosa e distúrbios do tecido conjuntivo. Anticorpos contra outros treponemas patogênicos também podem causar resultados falso-positivos. O diagnóstico final, portanto, deve considerar outros achados clínicos e diagnósticos.

2- Para eliminar da amostra anticorpos não específicos reativos contra **STC** e **SCC**, homogenize 10 µL de amostra e 190 µL **SCC**, incube por 30 - 60 minutos em temperatura ambiente e centrifugue por 3 minutos a 1500g. O sobrenadante é equivalente a uma amostra diluída para 1 em 20 em **DIL**. Como tal, deve ser usado na etapa 2 do teste qualitativo ou na etapa 3 do teste semiquantitativo.

3- Cada unidade individual de sangue humano usada na fabricação deste kit de teste foi testada no nível de doador quanto à presença de HBsAg, anticorpos para HCV e HIV e considerada não reativa. No entanto, apesar dos resultados negativos, todos os reagentes devem ser tratados como potencialmente infecciosos.

4- Os componentes do kit são combinados e não devem ser substituídos por componentes de outros lotes.

Limitações

O teste não se destina à triagem de doadores de sangue ou de sangue doado para uso no contexto de uma transfusão de sangue.

ESTUDOS DE DESEMPENHO:

Especificidade e sensibilidade diagnóstica:

A especificidade e a sensibilidade diagnóstica do Syphilis TPHA-test foi determinada por três estudos externos. O Syphilis TPHA-test foi comparado contra um teste similar já aprovado pelo German Paul-Ehrlich-Institut e contra um teste confirmatório (FTA-Abs). Soros positivos e negativos confirmados para Syphilis e também soros de pacientes com alto potencial de reações cruzadas foram empregados. Os soros positivos foram classificados, onde infecções primárias/secundárias, e sífilis sem tratamento e com tratamento foram encontradas. Adicionalmente, um painel com 50 soros selecionados em um laboratório foram determinados com o Syphilis TPHA liquid e um teste de TPHA foi empregado na rotina do laboratório.

Os resultados dos estudos individuais encontram-se sumarizados abaixo:

Estudo 1

Sensibilidade diagnóstica 95,6%
Especificidade diagnóstica 100%.

Estudo 2

Sensibilidade diagnóstica de 92,7%
Especificidade diagnóstica de 100%

Estudo 3

Sensibilidade diagnóstica de 98,5%
Especificidade Diagnóstica de 100%

Precisão e Exatidão

Precisão entre corridas (amostra de controle QC-1280, n = 10):% CV = 8,1%, polarização = 2,5%.

Sensibilidade Analítica

O kit é capaz de detectar 0,05 UI/mL de anticorpo anti-treponêmico testando diluições do 1º Padrão Internacional da OMS para IgG e IgM de plasma sífilítico humano (código NIBSC 05/132). Nenhum efeito de gancho de alta dose (prozona) foi detectado em amostras com concentrações de anticorpos treponêmicos em uma faixa clinicamente relevante.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Cat. Nº	Reagente	Volume	Nº Teste
50101	STC	2 x 4,0 mL	100
	SCC	2 x 4,0 mL	
	PC	1 x 0,5 mL	
	NC	1 x 0,5 mL	
	DIL	1 x 20 mL	

BIBLIOGRAFIA:

- 1-Garner, M.F., Backhouse, J.L., Daskalopoulos, G., and Walsh, J.L., Brit. J. Vener. Dis., 48 (1972) 470.
- 2-Johnsten, N.A., Brit. J. Vener. Dis., 48 (1972) 474.
- 3-Lesinski, J., Krach, J., and Kadziewicz, E., Brit. J. Vener. Dis., 50 (1974) 334.
- 4-Luger, A., Sprendlingwimmer, J., W.H.O. Document WHO/VDT/RES 72 (1972) 284.
- 5-O'Neill, P., Warner, R.W., and Nicol, C.S., Brit. J. Vener. Dis., 49 (1973) 427.
- 6-Sequeira, P.J.L., and Eldridge, A.E., Brit. J. Vener. Dis., 49 (1973) 242.
- 7-Shore, R.N., Arch. Dermatol., 109 (1974) 853.
- 8-Tomizawa, T., and Kasamatsu, S., Jap. J. Med. Sci. Biol., 19 (1966) 305.

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefone: 31-3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br

N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Fabricante: Human GmbH Max-Planck-Ring 21, D 65205, Wiesbaden, Alemanha.

Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda, Rua Cromita 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.

Telefone: 31-3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

ANVISA: 10303460223 Classe de Risco: IV

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO



O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico *in vitro*