

EN TPLA REAGENT

INTENDED USE

For the quantitative determination of anti-Treponema *pallidum* antibodies in human serum

SUMMARY

Syphilis a chronic infection is caused by *Treponema pallidum* which can be transmitted congenitally or by sexual contact. It is characterized by episodes of active disease interrupted by periods of latency¹.

There are two types of serological test for syphilis, non-treponemal and treponemal. The most widely used non-treponemal antibody tests for syphilis are the rapid plasma reagin (RPR) and venereal disease research laboratory (VDRL) tests, both measuring antibodies against a cardiolipin-lecithin-cholesterol antigen complex. Treponemal tests measure antibodies to native (Nichols strain) or recombinant *T. pallidum* antigens.¹ This automated assay is based on a latex immunological agglutination test principle.

PRINCIPLE

The polystyrene latex, coated with antigen components derived from *Treponema pallidum* (Nichols strain), is exposed to the test sample under certain conditions, to induce formation of anti-Treponema antibody-latex aggregate. The elevation of turbidity due to the formation of this aggregate (the change in turbidity) relative to the pre-exposure level is measured, to determine the anti-Treponema antibody titer in the test sample.

REAGENTS

Composition

Component	Ingredients	Concentration
Reagent 1	Phosphate buffer	100 mmol/L pH 7.2-7.4
	Bovine serum albumin	
	Stabilizers Sodium Azide	<0.1%
Reagent 2	<i>Treponema pallidum</i> antigen-coated latex	1.5 - 3.5mg/mL
	Phosphate buffer	100 mmol/L pH 7.2-7.5
	Bovine serum albumin Sodium Azide	<0.1%

Precautions and Warnings

1. For In Vitro Diagnostic Use.
2. Do not use the reagents beyond the expiration date printed on the label.
3. **Warning** : All specimens used in the test should be considered potentially infectious. Universal precautions as they apply to your facility should be used for handling and disposal of materials during and after testing.²
4. TPLA Reagents must be used with the TPLA Calibrator Set.
5. **Caution** : Avoid freezing reagents.
6. **Caution** : Reagents 1 and 2 contain <0.1% sodium azide as a preservative. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form potentially explosive metal azide buildup. Flush with copious amounts of water when discarding material.
7. **Caution** : Do not pool reagents within a kit or between reagent kits.
8. Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines.

Preparation

Reagent 1 : Liquid, ready to use.

Reagent 2 : Liquid, ready to use.

Invert to mix before use. Avoid the formation of foam.

Storage and Stability

Unopened reagent is stable until the expiration date shown on the label when stored at 2 - 8°C.

Once opened, the reagent is stable up to 4 weeks at 2 - 8°C.

DO NOT FREEZE.

Onboard stability

Reagents are stable open on the Hitachi 7170 analyzer for 4 weeks at 2 - 8 °C.

Indications of Deterioration

Presence of turbidity in reagent 1 or microbial growth in either reagents may indicate deterioration.

Inability to recover control values.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum is the recommended collection media. Use standard sample collection and preparation methods.³

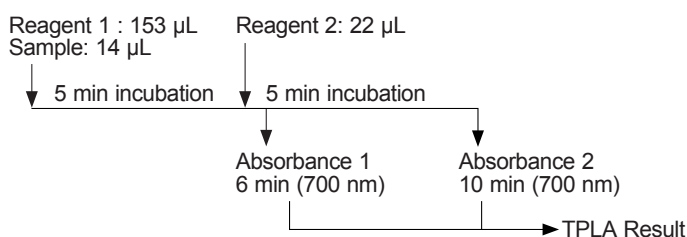
If not analyzed promptly, serum specimens may be stored at 2 - 8°C for 1 week or at 15 - 25°C for 1 day.⁴ If specimens need to be stored for more than 1 week, they may be preserved at -20°C or below for up to 4 weeks. ⁴

If the samples have been frozen, centrifuge at 15000xg for 10 minutes before measurement. Samples may be frozen and thawed once. ⁴

PROCEDURE

Assay

Below is a general example of the TPLA assay procedure for an automated analyzer. All analyzer applications should be validated.



Materials Provided

TPLA Reagents 1 and 2 are required for the measurement of anti-Treponema *pallidum* antibodies. The TPLA reagents are packaged and sold as a kit.

Description	Configuration	Catalog Number
TPLA Reagent 1	1 x 45 mL	486647
TPLA Reagent 2	1 x 10 mL	

Materials Required but not Provided

Description	Configuration	Catalog Number
TPLA Calibrator Set	5 levels x 1 mL	486654
TPLA Control Set	2 x 1mL level A 2 x 1mL level B	486661

- Analyzer capable of running two-reagent chemistries.

Calibration

Only the TPLA Calibrator set should be used to calibrate the TPLA assay. The assigned values of the TPLA Calibrators are traceable to an in-house standard.

Refer to the instrument operator's manual for analyzer specific calibration procedures and for guidance in determining calibration frequency.

Quality Control values should be within the expected ranges.

Quality Control

Reliability of test results should be monitored routinely with quality control materials or serum pools that reasonably represent performance with patient specimens. Controls or serum pools should be used to monitor that the reagents are functioning properly and that correct procedures are being followed. An acceptable range for each lot of control material should be established by the laboratory. If control values are not within the expected range, follow normal troubleshooting procedures. If assistance is required, please contact your local distributor.

Quality control requirements should be established in accordance with local, state and/or federal regulations, or accreditation requirements.

RESULTS

Results are expressed in titer units (T.U.). T.U. are based on the *Treponema pallidum* haemagglutination (TPHA) assay. 1280 T.U. is equivalent to a titer of 1:1280 TPHA.

To convert from T.U. (Titer Units) to mIU multiply T.U. units by 2.

Limitations/Interfering Substances

Criterion: Recovery within $\pm 15\%$ of initial value

Lipemia: No significant lipemic interference up to 2850 (Formazin degree). Centrifuge at 15000xg for 10 minutes before measurement.

Hemoglobin concentration of up to 480 mg/dL did not interfere (bias <15%) in samples with syphilitic anti-lipid antibodies levels of 106 T.U.

Conjugated Bilirubin concentration of up to 20 mg/dL did not interfere (bias <15%) in samples with syphilitic anti-lipid antibodies levels of 110 T.U.

Unconjugated Bilirubin concentration of up to 18 mg/dL did not interfere (bias <15%) in samples with syphilitic anti-lipid antibodies levels of 109 T.U.

Serum samples from patients in the early stage of antibody production due to compromised immune function contain a small amount of antibody and may test negative.

A non-specific immune response may occur in serum samples from patients with autoimmune diseases. The test result should be evaluated based on other test results and clinical symptoms.

Serum samples from patients receiving blood products containing immunoglobulin may test positive. Evaluate the test result carefully.

Due to the large range of specimen concentrations possible, sample probe washing must be adequate to prevent sample carryover.

Expected Values

A measurement of 10 T.U. or higher indicates that the sample is antibody positive.

A positive antibody test should be followed by subsequent tests and should be evaluated along with other test results and clinical symptoms. A final diagnosis of syphilis should be made by a physician.

Each laboratory should confirm the reference interval for the patient population it serves.

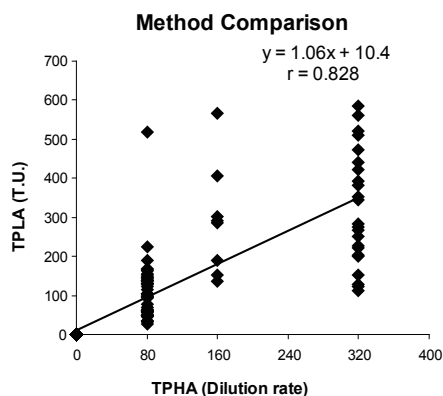
SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Method Comparison

Comparative performance studies were conducted using the TPLA Reagent on the Hitachi 7170 analyzer and a commercially available *Treponema pallidum* hemagglutination (TPHA) method. 171 serum samples, with positive TPLA sample concentrations between 27 and 585 T.U.

The regression analysis is provided below:

Sekisui Diagnostics TPLA vs. an existing TPHA test method (n = 171)	
Slope	1.06
Intercept (T.U.)	10.5
Correlation Coefficient (r)	0.828



Precision

Precision of the TPLA reagent was determined using 2 levels of controls and positive and negative human serum sample.

Within run studies used 10 samples and total precision used 21 samples which were run three times per day for 21 days on the Hitachi 7170 analyzer.

Within-Run Precision

Serum pool / Control	Mean Recovery (T.U.)	Standard Deviation (T.U.)	% CV
Human Serum (Syphilis Positive)	137.5	1.52	1.1
Human Serum (Syphilis Negative)	0.0	0.00	—
TPLA Control A	24.4	0.51	2.1
TPLA Control B	77.4	0.59	0.8

Total Precision

Serum pool/ Control	Mean Recovery (T.U.)	Standard Deviation (T.U.)	% CV
Human Serum	134.7	3.2	2.4
Human Serum (Syphilis Negative)	0.0	0.0	—
TPLA Control A	24.9	0.7	2.7
TPLA Control B	76.7	1.1	1.4

Limit of Detection (LoD)

The limit of detection is the actual concentration at which an observed test result is 2.6 SD above that of the lowest calibrator (calibrator 1). Limit of detection was established using the level 1 calibrator and 10 measurements with TPLA Reagent on the Hitachi 7170 clinical analyzer.

The limit of detection has been defined as: 7 T.U.

Specificity

A high dose hook effect was not observed at analyte concentrations up to 327 T.U.

Rheumatoid factor was tested to 550 IU/mL and did not affect performance.

A negative result that does not match the clinical signs may occur with patients with hyperglobulinemia. In such cases the sample may be diluted with 0.9% NaCl solution and rerun.

Linearity

The TPLA method is linear from 7 T.U. to 250 T.U.

Specimens above 250 T.U. may be diluted with antibody-negative serum or diluted with 0.9% NaCl solution. Multiply the result by the dilution factor to obtain the TPLA concentration for the sample.

Other Performance Studies

Cross Reactivity (Analytical specificity)

Samples containing potentially interfering substances were analysed for cross-reactivity. Samples tested with the Sekisui Diagnostics TPLA assay were:

- from patients with collagenosis and patients undergoing dialysis
- from pregnant women

Specimen	Number	TPLA Reactive	Rate
Collagenosis patients	28	0	0%
Pregnant women	26	0	0%
Dialysis patients	50	0	0%

No false-positive results were found.

Clinical sensitivity^{5,6,7}

A total of 268 confirmed syphilis-positive samples in various stages of the disease were tested with the Sekisui Diagnostics TPLA assay. The sensitivity was found to be 100%

Syphilis- positive samples	TPLA		
	Number	Positive	Negative
268	268	0	

Clinical specificity^{4,5,6}

A total of 3427 syphilis-negative samples were tested with the Sekisui Diagnostics TPLA assay. The specificity with these samples was 99.6%.

		TPLA	
Syphilis-negative samples	Number	Positive	Negative
	3427	13	3414

DE TPLA-REAGENZ

VERWENDUNGSZWECK

Zur quantitativen Bestimmung von Anti-Treponemal *pallidum*-Antikörpern in Humanserum

ZUSAMMENFASSUNG

Syphilis ist eine chronische Infektion, die durch Treponema *pallidum* verursacht wird und kongenital oder durch Geschlechtsverkehr übertragen werden kann. Die Krankheit ist charakterisiert durch Episoden der Krankheitsaktivität mit zwischenzeitlichen Latenzperioden¹.

Es gibt zwei Arten von serologischen Syphilistests, nicht-treponemale und treponemale. Die am häufigsten verwendeten nicht-treponemalen Antikörper-Syphilistests sind der Rapid-Plasma-Reagin-Test (RPR) und der vom Venereal Disease Research Laboratory entwickelte VDRL-Test, die Antikörper gegen einen Kardiolipin-Lezithin-Cholesterol-Antigenkomplex nachweisen. Treponemale Tests messen Antikörper gegen native (Nichols-Stamm) oder rekombinante T. *pallidum*-Antigene.¹ Dieser automatisierte Test basiert auf einem immunologischen Latexagglutinations-Testprinzip.

PRINZIP

Polystyrenlatex, das mit Antigenkomponenten beschichtet ist, die von Treponema *pallidum* (Nichols-Stamm) abgeleitet wurden, wird unter bestimmten Bedingungen mit der Testprobe zusammengebracht, um die Bildung von Anti-Treponema-Antikörper-Latexaggregat auszulösen. Die Erhöhung der Trübung infolge der Bildung dieses Aggregats (Veränderung der Trübung) im Verhältnis zu dem Wert vor dem Test wird gemessen, um den Titer von Anti-Treponema-Antikörpern in der Testprobe zu bestimmen.

REAGENZIEN

Zusammensetzung

Komponente	Wirkstoffe	Konzentration
Reagenz 1	Phosphatpuffer	100 mmol/l pH 7,2 - 7,4
	Rinderserumalbumin Stabilisatoren Natriumazid	< 0,1 %
Reagenz 2	Mit Treponema <i>pallidum</i> -Antigen beschichteter Latex Phosphatpuffer	1,5 bis 3,5 mg/ml
	Rinderserumalbumin Natriumazid	100 mmol/l pH 7,2 - 7,5 < 0,1 %

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

- Für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
- Nach Ablauf des auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatums Reagenzien nicht mehr verwenden.
- Warnhinweis** : Alle in dem Test verwendeten Proben müssen als potenziell infektiös angesehen werden. Im Umgang mit den Materialien und bei deren Entsorgung während und nach den Tests sind die geltenden internen Vorsichtsmaßnahmen anzuwenden.²
- TPLA-Reagenzien müssen mit dem TPLA-Kalibratorset verwendet werden.
- Achtung** : Reagenzien nicht einfrieren!
- Achtung** : Reagenz 1 und 2 enthalten <0,1 % Natriumazid als Konservierungsmittel. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen reagieren und explosives Metallazid bilden. Beim Entsorgen des Materials mit reichlich Wasser spülen.
- Achtung** : Reagenzien nicht innerhalb eines Kits oder zwischen Reagenzkits mischen.

- Die Entsorgung sämtlicher Abfälle muss gemäß den geltenden Vorschriften durchgeführt werden.

Vorbereitung

Reagenz 1 : Flüssigkeit, gebrauchsfertig.

Reagenz 2 : Flüssigkeit, gebrauchsfertig.

Vor der Verwendung Ampullen für eine Vermischung umdrehen. Schaumbildung vermeiden.

Lagerung und Stabilität

Ein ungeöffnetes Reagenz ist bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil, wenn es bei 2 bis 8°C gelagert wird.

Nach dem Öffnen ist das Reagenz bis zu 4 Wochen bei 2 bis 8°C stabil.

NICHT EINFRIEREN.

Stabilität im Analysegerät

Geöffnete Reagenzien sind im Hitachi 7170-Analysegerät 4 Wochen bei 2 bis 8°C stabil.

Anzeichen von Zersetzung

Eine Trübung in Reagenz 1 oder Mikrowachstum in beiden Reagenzien können auf eine Zersetzung hinweisen.

Unmöglichkeit, Kontrollwerte zu erzielen.

ENTNAHME UND VORBEREITUNG VON PROBEN

Serum wird als Entnahmemedium empfohlen. Standardverfahren der Probenentnahme und -vorbereitung verwenden.³

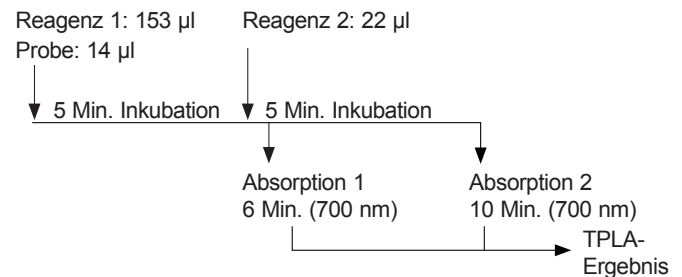
Wenn die Analyse nicht direkt durchgeführt wird, können Serumproben bei 2 bis 8 °C eine Woche lang oder bei 20 bis 25 °C einen Tag lang aufbewahrt werden.⁴ Wenn Proben länger als eine Woche aufbewahrt werden müssen, können sie bei -20 °C oder darunter bis zu vier Wochen lang gelagert werden.⁴

Wenn Proben eingefroren wurden, vor der Messung 10 Minuten lang bei 15000xg zentrifugieren. Proben dürfen einmal eingefroren und aufgetaut werden.⁴

VERFAHREN

Test

Nachfolgend wird ein allgemeines Beispiel des TPLA-Testverfahrens für ein automatisches Analysegerät beschrieben. Das Verfahren ist auf allen angewendeten Analysegeräten zu validieren.



Beiliegende Materialien

Für den Nachweis von Anti-Treponema *pallidum*-Antikörpern werden die TPLA-Reagenzien 1 und 2 benötigt. Die TPLA-Reagenzien werden als Kit verpackt und vertrieben.

Beschreibung	Konfiguration	Katalognummer
TPLA-Reagenz 1	1 x 45 ml	486647
TPLA-Reagenz 2	1 x 10 ml	

Erforderliche Materialien, die nicht beiliegen

Beschreibung	Konfiguration	Katalognummer
TPLA-Kalibratorset	5 Konzentrationen x 1 ml	486654
TPLA-Kontrollset	2 x 1 ml Konzentration A 2 x 1 ml Konzentration B	486661

- Analysegerät mit der Möglichkeit, zwei Reagenzien zu verarbeiten.

Kalibrierung

Für die Kalibrierung des TPLA-Tests darf nur das TPLA-Kalibratorset verwendet werden. Die zugewiesenen Werte der TPLA-Kalibratoren sind auf einen firmeninternen Standardwert abgleichbar.

Informationen zu spezifischen Kalibrierungsverfahren für das

Analysegerät und Anleitungen zur Bestimmung der Kalibrierungshäufigkeit finden Sie im Bedienungshandbuch des Geräts.

Die Qualitätskontrollwerte müssen innerhalb der erwarteten Bereiche liegen.

Qualitätskontrolle

Die Zuverlässigkeit der Testergebnisse ist mit Qualitätskontrollmaterialien oder Serum-Pools, die die Leistungswerte mit Patientenproben angemessen repräsentieren, routinemäßig zu überwachen. Mithilfe von Kontrollproben oder Serum-Pools ist zu überwachen, dass die Reagenzien ordnungsgemäß funktionieren und dass korrekte Verfahren befolgt werden. Für jede Kontrollmaterialcharge ist vom Labor ein zulässiger Bereich festzulegen. Wenn Kontrollwerte außerhalb des erwarteten Bereichs liegen, sind die üblichen Fehlerbehebungsverfahren zu befolgen. Wenn Sie Unterstützung benötigen, wenden Sie sich an Ihren Händler.

Die Qualitätskontrollanforderungen sollten im Einklang mit den behördlichen und/oder staatlichen Vorschriften oder Zulassungsbestimmungen festgelegt werden.

ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden in T.U. (Titereinheiten) ausgedrückt. T.U. basieren auf dem *Treponema pallidum*-Hämagglutinationstest (TPHA). 1280 T.U. entsprechen einem Titer von 1:1280 TPHA.

Zur Umrechnung von T.U. (Titereinheiten) in mIU müssen die T.U.-Einheiten mit 2 multipliziert werden.

Einschränkungen/Inhibitoren

Kriterium: Erzielung innerhalb $\pm 15\%$ des anfänglichen Werts

Lipämie: Keine signifikante lipämische Interferenz bis zu 2850 (Formazingrad). Vor der Messung 10 Minuten lang bei 15000xg zentrifugieren.

Bei einer Hämoglobinkonzentration bis zu 480 mg/dl kam es in Proben zu keiner Interferenz (Bias $<15\%$) mit syphilitischen Anti-Lipid-Antikörpern in Konzentrationen von 106 T.U.

Bei einer Konzentration von konjugiertem Bilirubin bis zu 20 mg/dl kam es in Proben zu keiner Interferenz (Bias $<15\%$) mit syphilitischen Anti-Lipid-Antikörpern in Konzentrationen von 110 T.U.

Bei einer Konzentration von nicht konjugiertem Bilirubin bis zu 18 mg/dl kam es in Proben zu keiner Interferenz (Bias $<15\%$) mit syphilitischen Anti-Lipid-Antikörpern in Konzentrationen von 109 T.U.

Serumproben von Patienten im Frühstadium der Antikörperbildung wegen beeinträchtigter Immunfunktion enthalten geringe Mengen an Antikörpern und können daher ein negatives Testergebnis aufweisen.

In Serumproben von Patienten mit Autoimmunerkrankungen kann eine unspezifische Immunantwort verzeichnet werden. In diesem Fall muss das Testergebnis anhand von anderen Testergebnissen und klinischen Symptomen bewertet werden.

Serumproben von Patienten, die Blutprodukte mit Immunglobulinen bekommen, können ein positives Testergebnis aufweisen. Das Testergebnis ist sorgfältig auszuwerten.

Wegen der hohen Bandbreite möglicher Probenkonzentrationen sind Probensonden angemessen zu reinigen, um eine Übertragung zwischen Proben zu vermeiden.

Zu erwartende Werte

Eine Messung von 10 T.U. oder höher zeigt an, dass die Probe Antikörper-positiv ist.

Nach einem positiven Antikörpertest sollten weitere Tests durchgeführt werden, wobei andere Testergebnisse und klinische Symptome in die Bewertung einbezogen werden sollten. Eine endgültige Syphilisdiagnose muss durch den Arzt erfolgen.

Jedes Labor muss das Referenzintervall für seine Patientenpopulation bestätigen.

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

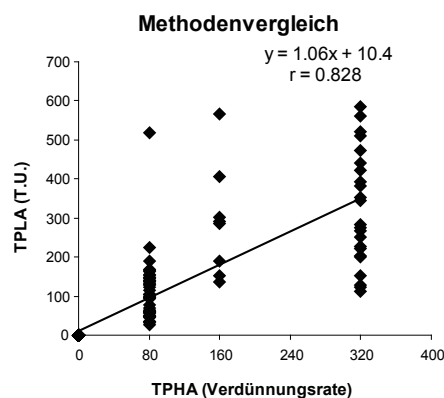
Methodenvergleich

Vergleichende Leistungsstudien wurden mit dem TPLA-Reagenz auf dem Analysegerät Hitachi 7170 und mit einem üblichen *Treponema pallidum*-Hämagglutinationsverfahren (TPHA) durchgeführt. Es

handelte sich um 171 Serumproben mit positiven TPLA-Probenkonzentrationen zwischen 27 und 585 T.U.

Die Regressionsanalyse wird nachfolgend dargestellt:

Sekisui Diagnostics TPLA vs. übliches TPHA-Testverfahren (n = 171)	
Steigung	1,06
Achsenabschnitt (T.U.)	10,5
Korrelationskoeffizient (r)	0,828



Präzision

Zur Ermittlung der Präzision des TPLA-Reagenz wurden 2 Kontrollkonzentrationen und positive und negative Humanserumproben getestet.

Für Untersuchungen innerhalb der Testreihe wurden 10 Proben und für die Ermittlung der Gesamtpräzision wurden 21 Proben dreimal pro Tag 21 Tage lang auf dem Analysegerät Hitachi 7170 getestet.

Präzision innerhalb der Testreihe

Serum-Pool / Kontrolle	Mittlere Gewinnung (T.U.)	Standardabweichung (T.U.)	% CV
Humanserum (Syphilis-positiv)	137,5	1,52	1,1
Humanserum (Syphilis-negativ)	0,0	0,00	—
TPLA-Kontrolle A	24,4	0,51	2,1
TPLA-Kontrolle B	77,4	0,59	0,8

Gesamtpräzision

Serum-Pool / Kontrolle	Mittlere Gewinnung (T.U.)	Standardabweichung (T.U.)	% CV
Humanserum	134,7	3,2	2,4
Humanserum (Syphilis-negativ)	0,0	0,0	—
TPLA-Kontrolle A	24,9	0,7	2,7
TPLA-Kontrolle B	76,7	1,1	1,4

Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze ist die tatsächliche Konzentration, bei der ein ermitteltes Testergebnis um 2,6 SD (Standardabweichung) über dem des niedrigsten Kalibrators (Kalibrator 1) liegt. Die Nachweisgrenze wurde mit dem Kalibrator der Konzentration 1 und 10 Messungen mit TPLA-Reagenz auf dem klinischen Analysegerät Hitachi 7170 festgelegt.

Die Nachweisgrenze wurde definiert als 7 T.U.

Spezifität

Ein Hook-Effekt bei hohen Dosen von Analytkonzentrationen bis zu 327 T.U. wurde nicht beobachtet.

Der Rheumafaktor wurde bis 550 IU/ml getestet, ohne dass die Leistung beeinträchtigt wurde.

Ein negatives Ergebnis, das nicht zu den klinischen Symptomen passt, kann bei Patienten mit Hyperglobulinämie verzeichnet werden. In diesen Fällen kann die Probe mit 0,9%iger NaCl-Lösung verdünnt und erneut getestet werden.

Linearité

Die TPLA-Methode ist linear von 7 T.U. bis 250 T.U.

Proben über 250 T.U. können mit Antikörper-negativem Serum oder mit 0,9%iger NaCl-Lösung verdünnt werden. Das Ergebnis ist mit dem Verdünnungsfaktor zu multiplizieren, um die TPLA-Konzentration der Probe zu erhalten.

Weitere Leistungsstudien

Kreuzreaktivität (Analytische Spezifität)

Proben, die potenzielle Inhibitoren enthielten, wurden auf Kreuzreaktivität analysiert. Die mit dem TPLA-Test von Sekisui Diagnostics untersuchten Proben stammten

- von Patienten mit Kollagenose und von Dialysepatienten
- von Schwangeren

Probe	Anzahl	TPLA Reaktiv	Rate
Kollagenosepatienten	28	0	0 %
Schwangere	26	0	0 %
Dialysepatienten	50	0	0 %

Es wurden keine falsch-positiven Ergebnisse festgestellt.

Klinische Sensitivität^{5,6,7}

Insgesamt wurden 268 als Syphilis-positiv bestätigte Proben in verschiedenen Krankheitsstadien mit dem TPLA-Test von Sekisui Diagnostics untersucht. Die Sensitivität betrug 100 %

Syphilis- positive Proben	TPLA		
	Anzahl	Positiv	Negativ
	268	268	0

Klinische Spezifität^{4,5,6}

Insgesamt wurden 3427 Syphilis-negative Proben mit dem TPLA-Test von Sekisui Diagnostics untersucht. Die Spezifität betrug bei diesen Proben 99,6 %.

Syphilis-negative Proben	TPLA		
	Anzahl	Positiv	Negativ
	3427	13	3414

FR RÉACTIF TPLA

UTILISATION

Détermination quantitative de la concentration d'anticorps au anti-Treponema pallidum dans le sérum humain.

RÉSUMÉ

La syphilis est une infection chronique causée par le Treponema pallidum, qui peut être transmis par voie sexuelle ou congénitalement. Elle se caractérise par l'alternance de périodes d'activité et de latence¹.

Il existe deux types de tests sérologiques pour le dépistage de la syphilis : non tréponémiques et tréponémiques. Les tests de dépistage d'anticorps non tréponémiques les plus courants pour la syphilis sont le test rapide de la réagine plasmatique (RPR, Rapid Plasma Reagin) et le test du laboratoire de recherches sur les maladies vénériennes (VDRL, Venereal Disease Research Laboratory), qui mesurent tous deux les anticorps par rapport au complexe antigène cardiolipine-lécithine-cholestérol. Les tests tréponémiques mesurent les anticorps aux antigènes natifs (souche de Nichols) ou à l'antigène T. pallidum recombinant.¹ Ce test automatisé repose sur le principe d'un test d'agglutination immunologique des particules de latex.

PRINCIPE

Les particules de latex polystyrène, recouvertes de composants antigéniques dérivés du Treponema pallidum (souche de Nichols), sont exposées à l'échantillon testé dans certaines conditions, en vue d'induire la formation d'un agrégat anticorps-latex anti-Treponema. L'augmentation de la turbidité résultant de la formation de cet agrégat

(variation de la turbidité) par rapport au niveau préalable à l'exposition est mesurée afin de déterminer le titre des anticorps au Treponema dans l'échantillon testé.

RÉACTIFS

Composition

Composant	Ingrédients	Concentration
Réactif 1	Tampon de phosphate Albumine sérique bovine Stabilisants Azoture de sodium	100 mmol/l pH 7,2 à -7,4 < 0,1 %
Réactif 2	Particules de latex recouvertes d'antigène au Treponema pallidum Tampon de phosphate Albumine sérique bovine Azoture de sodium	1,5 à 3,5 mg/ml 100 mmol/l pH 7,2 à -7,5 < 0,1 %

Avertissements et précautions

1. Pour diagnostic in vitro.
2. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date d'expiration indiquée sur l'étiquette.
3. **Avertissement** : Tous les échantillons du test doivent être considérés comme présentant un risque d'infection potentiel. Mettre en œuvre les précautions universelles en vigueur au sein de votre laboratoire lors de la manipulation et l'élimination du matériel pendant et après les tests.²
4. Les réactifs TPLA doivent être utilisés avec le kit de calibrateurs TPLA.
5. **Attention** : Ne pas congeler les réactifs.
6. **Attention** : Les réactifs 1 et 2 contiennent de l'azoture de sodium à 0,1 % comme agent conservateur. L'azoture de sodium peut réagir avec les canalisations de plomb et de cuivre et entraîner la formation d'azotures métalliques potentiellement explosifs. Lors de son élimination, toujours rincer abondamment avec de l'eau.
7. **Attention** : Ne pas utiliser de réactifs en pool dans un kit ou entre des kits de réactifs.
8. L'élimination de tous les déchets doit se faire conformément aux réglementations locales.

Préparation

Réactif 1 : Liquide, prêt à l'emploi.

Réactif 2 : Liquide, prêt à l'emploi.

Retourner le flacon pour mélanger son contenu avant usage. Éviter la formation de mousse.

Conservation et stabilité

Le réactif est stable avant l'ouverture du flacon jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette, à condition d'être conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C.

Une fois le flacon ouvert, le réactif est stable pendant quatre semaines à une température comprise entre 2 et 8 °C.

NE PAS CONGELER.

Stabilité à bord

Une fois les flacons ouverts sur l'analyseur Hitachi 7170, les réactifs sont stables pendant 4 semaines à une température comprise entre 2 et 8 °C.

Signes de détérioration

La présence de turbidité dans le réactif 1 ou d'une croissance microbienne dans l'un ou l'autre réactif peut indiquer une détérioration. Impossibilité de rétablir les valeurs de contrôle.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Le sérum est le milieu de prélèvement recommandé. Utiliser les méthodes de prélèvement et de préparation des échantillons standard.³

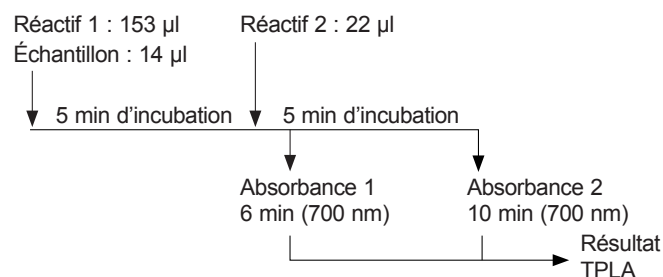
S'ils ne sont pas analysés rapidement, les échantillons sériques peuvent être conservés entre 2 et 8 °C pendant une semaine, ou entre 15 et 25 °C pendant une journée.⁴ Si les échantillons doivent être conservés pendant plus d'une semaine, ils peuvent être stockés à une température inférieure ou égale à -20 °C pendant quatre semaines au maximum.⁴

Si les échantillons ont été congelés, les centrifuger à 15 000 x g pendant 10 minutes avant de procéder aux mesures. Les échantillons peuvent être congelés et décongelés une seule fois. ⁴

PROCÉDURE

Test

La section ci-dessous présente un exemple le général de la procédure de test TPLA sur un analyseur automatisé. Toutes les applications de l'analyseur doivent être validées.



Matériel fourni

Les réactifs TPLA 1 et 2 sont requis pour mesurer la concentration d'anticorps au *Treponema pallidum*. Les réactifs TPLA sont conditionnés et vendus sous forme de kit.

Description	Configuration	Numéro de référence catalogue
Réactif TPLA 1	1 x 45 ml	486647
Réactif TPLA 2	1 x 10 ml	

Matériel requis mais non fourni

Description	Configuration	Numéro de référence catalogue
Kit de calibrateurs TPLA	5 niveaux x 1 ml	486654
Kit de contrôles TPLA	2 x 1 ml Niveau A 2 x 1 ml Niveau B	486661

- Analyseur capable d'exécuter des chimies à deux réactifs.

Étalonnage

Seuls les calibrateurs TPLA doivent être utilisés pour étalonner les tests TPLA. Les valeurs affectées des calibrateurs TPLA sont définies dans une norme interne.

Pour connaître les procédures d'étalonnage spécifiques à l'analyseur et savoir comment déterminer la fréquence étalonnage, se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument.

Les valeurs du contrôle de qualité doivent être comprises dans les plages attendues.

Contrôle de qualité

La fiabilité des résultats des tests doit être contrôlée régulièrement avec le matériel de contrôle de qualité ou les pools de sérum représentant raisonnablement les performances avec les échantillons de patients. Des contrôles ou des pools de sérum doivent être utilisés pour vérifier que les réactifs fonctionnent bien et que les procédures correctes sont respectées. Le laboratoire doit définir une plage acceptable pour chaque lot de matériel de contrôle. Si les valeurs de contrôle ne sont pas comprises dans la plage attendue, suivre les procédures de dépannage normales. Si une assistance est nécessaire, contacter le représentant local.

Les critères du contrôle de qualité doivent être définis conformément aux réglementations locales, nationales et/ou fédérales, ou conformément aux critères d'homologation.

RÉSULTATS

Les résultats sont exprimés en unités de titre (T.U.). Les T.U. sont basées sur le test d'hémagglutination du *Treponema pallidum* (TPHA). 1 280 T.U. sont équivalentes à un titre de 1:1280 TPHA.

Pour convertir en mIU une valeur exprimée en T.U. (unités de titre), multiplier les unités T.U. par 2.

Limites/Substances interférentes

Critère : Récupération dans $\pm 15\%$ de la valeur initiale

Lipémie : Aucune interférence lipémique significative jusqu'à 2850 (degré Formazine). Centrifuger à 15 000 x g pendant 10 minutes avant de procéder aux mesures.

Une concentration d'hémoglobine allant jusqu'à 480 mg/dl n'interfère pas (biais < 15 %) dans les échantillons contenant des niveaux d'anticorps antilipidiques syphilitiques de 106 T.U.

Une concentration de bilirubine directe allant jusqu'à 20 mg/dl n'interfère pas (biais < 15 %) dans les échantillons contenant des niveaux d'anticorps antilipidiques syphilitiques de 110 T.U.

Une concentration de bilirubine indirecte allant jusqu'à 18 mg/dl n'interfère pas (biais < 15 %) dans les échantillons contenant des niveaux d'anticorps antilipidiques syphilitiques de 109 T.U.

Les échantillons de sérum prélevés sur des patients en phase précoce de production d'anticorps en raison d'une fonction immune compromise contiennent une faible quantité d'anticorps et peuvent donner un résultat négatif aux tests.

Une réponse immune non spécifique peut se produire dans les échantillons de sérum prélevés sur les patients souffrant de maladies auto-immunes. Le résultat du test devrait être évalué sur la base d'autres résultats de test et symptômes cliniques.

Les échantillons de sérum prélevés sur les patients auxquels sont administrés des produits sanguins contenant de l'immunoglobuline peuvent donner des résultats positifs. Évaluer le résultat du test soigneusement.

Du fait de la vaste plage de concentrations d'échantillons possible, il convient de bien nettoyer les sondes d'échantillon afin d'éviter le transfert d'échantillons.

Valeurs attendues

Une mesure supérieure ou égale à 10 T.U. indique que l'échantillon est positif aux anticorps.

Un test positif doit être suivi d'autres tests et doit être évalué par comparaison avec d'autres résultats de test et symptômes cliniques. Le diagnostic définitif de la syphilis doit être établi par un médecin.

Chaque laboratoire doit confirmer l'intervalle de référence applicable à la population de patients à laquelle il s'intéresse.

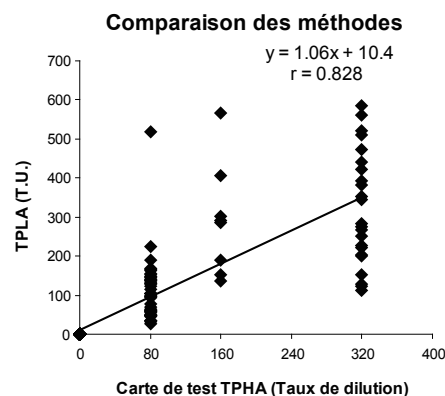
CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES SPÉCIFIQUES

Comparaison des méthodes

Des études de performances comparatives ont été réalisées en utilisant le réactif TPLA sur l'analyseur Hitachi 7170 et une méthode d'hémagglutination du *Treponema pallidum* (TPHA) disponible dans le commerce. 171 échantillons de sérum, avec des concentrations d'échantillons TPLA comprises entre 27 et 585 T.U., ont été testés.

L'analyse de régression est décrite ci-dessous :

Sekiusi Diagnostics TPLA vs une méthode de test TPHA existante (n = 171)	
Pente	1,06
Ordonnée à l'origine (T.U.)	10,5
Coefficient de corrélation (r)	0,828



Précision

La précision du réactif TPLA a été déterminée à l'aide de 2 niveaux de contrôles et de sérum humain positif et négatif.

Les études intra-série ont porté sur 10 échantillons et la précision totale sur 21 échantillons qui ont été traités trois fois par jour pendant 21 jours sur l'analyseur Hitachi 7170.

Précision intra-série

Pool de sérum/ Contrôle	Récupération moyenne (T.U.)	Écart-type (T.U.)	% ET
Sérum humain (Positif syphilis)	137,5	1,52	1,1
Sérum humain (Négatif syphilis)	0,0	0,00	—
Contrôle TPLA A	24,4	0,51	2,1
Contrôle TPLA B	77,4	0,59	0,8

Précision globale

Pool de sérum/ Contrôle	Récupération moyenne (T.U.)	Écart-type (T.U.)	% ET
Sérum humain	134,7	3,2	2,4
Sérum humain (Négatif syphilis)	0,0	0,0	-
Contrôle TPLA A	24,9	0,7	2,7
Contrôle TPLA B	76,7	1,1	1,4

Limite de détection (LdD)

La limite de détection est la concentration réelle à laquelle un résultat de test observé correspond à ET 2,6 supérieur à celui du calibrateur le plus faible (calibrateur 1). La limite de détection a été établie en utilisant le calibrateur de niveau 1 et 10 mesures avec le réactif TPLA sur l'analyseur clinique Hitachi 7170.

La limite de détection a été définie comme suit : 7 T.U.

Spécificité

Un effet crochet à haute dose n'a pas été observé aux concentrations d'analyte allant jusqu'à 327 T.U.

Le facteur rhumatoïde a été testé à 550 UI/ml et n'a eu aucun impact sur les performances.

Un résultat négatif qui ne concorde pas avec les signes cliniques peut se produire chez les patients souffrant d'hyperglobulinémie. Dans ce cas, l'échantillon peut être dilué avec une solution de NaCl à 0,9 %, puis réanalysé.

Linéarité

La méthode TPLA est linéaire entre 7 et 250 T.U.

Les échantillons supérieurs à 250 T.U. peuvent être dilués avec du sérum négatif aux anticorps ou une solution de NaCl à 0,9 %. Multiplier le résultat par le facteur de dilution pour obtenir la concentration TPLA de l'échantillon.

Autres études des performances

Réactivité croisée (Spécificité analytique)

Des échantillons contenant des substances potentiellement interférentes ont été analysés en vue de déterminer leur réactivité croisée. Les échantillons testés avec le dosage TPLA de Sekisui Diagnostics ont été prélevés sur les populations suivantes :

- Patients souffrant de collagénose et patients sous dialyse
- Femmes enceintes

Échantillon	Nombre	TPLA Réactif	Taux
Patients souffrant de collagénose	28	0	0 %
Enceinte	26	0	0 %
Patients sous dialyse	50	0	0 %

Aucun résultat faux positif trouvé.

Sensibilité clinique^{5,6,7}

Au total 268 échantillons confirmés positifs à la syphilis, à différentes phases de la maladie, ont été testés à l'aide du test TPLA de Sekisui Diagnostics. La sensibilité de ces échantillons était de 100 %.

Échantillons positifs à la syphilis	TPLA		
	Nombre	Positif	Négatif
	268	268	0

Spécificité clinique^{4,5,6}

Au total 3427 échantillons négatifs à la syphilis ont été testés avec le test TPLA de Sekisui Diagnostics. La spécificité de ces échantillons était de 99,6%.

Échantillons négatifs à la syphilis	Nombre	TPLA	
		Positif	Négatif
	3427	13	3414

IT REAGENTE TPLA

USO PREVISTO

Determinazione quantitativa degli anticorpi anti *Treponema pallidum* nel siero umano

RIASSUNTO

La sifilide è un'infezione cronica causata dal *Treponema pallidum*, un batterio che si trasmette per via congenita o contatto sessuale. È caratterizzata da episodi di malattia attiva intervallati da periodi di latenza¹.

Esistono due tipi di test sierologici per la sifilide, treponemici e non treponemici. I test non treponemici più diffusi per la sifilide sono il test RPR (Rapid PLasma Reagin) e il test VDRL (Venereal Disease Research Laboratory), entrambi basati sulla misurazione degli anticorpi rispetto a un antigene costituito da un complesso di cardiolipina, lecitina e colesterolo. I test treponemici misurano gli anticorpi rispetto all'antigene nativo (ceppo Nichols) o ricombinante di *T. pallidum*.¹ Il presente test automatizzato si basa su un principio di test immunologico di agglutinazione al lattice.

PRINCIPIO

Il lattice di polistirene, rivestito di componenti antigenici derivati dal *Treponema pallidum* (ceppo Nichols) viene esposto al campione da testare in determinate condizioni in modo da indurre la formazione di aggregati di anticorpi anti *Treponema* e lattice. Viene quindi misurato l'aumento della torbidezza dovuta alla formazione di detto aggregato (modifiche nella torbidezza) rispetto al livello pre-esposizione, in modo da determinare la titolazione di anticorpi anti *Treponema* nel campione.

REAGENTI

Composizione

Componente	Eccipienti	Concentrazione
Reagente 1	Tampone fosfato	100 mmol/L pH 7,2-7,4
	Sieralbumina bovina Stabilizzatori Azoturo di sodio	<0.1%
Reagente 2	Lattice rivestito di antigene del <i>Treponema pallidum</i> Tampone fosfato	1,5 - 3,5 mg/mL 100 mmol/L pH 7,2-7,5
	Sieralbumina bovina Azoturo di sodio	<0.1%

Avvertenze e Precauzioni

1. Solo per uso diagnostico in vitro.
2. Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza riportata sull'etichetta.
3. **Avvertenza** : Tutti i campioni utilizzati per il test devono essere considerati potenzialmente infettivi. Per la manipolazione e lo smaltimento dei materiali durante e dopo i test, attenersi alle precauzioni internazionali pertinenti per la propria struttura.²
4. I reagenti TPLA devono essere utilizzati con le reti di calibratori TPLA.
5. **Attenzione** : evitare di congelare i reagenti.
6. **Attenzione** : I reagenti 1 e 2 contengono < 0,1% di azoturo di sodio come conservante. L'azoturo di sodio può reagire con il piombo e il rame delle tubature e diventare un composto di

azoturo metallico potenzialmente esplosivo. Durante lo smaltimento del materiale, far scorrere abbondante acqua.

- Attenzione** : Non mescolare i reagenti di uno stesso kit o di altri kit.
- Lo smaltimento dei rifiuti deve essere svolto in conformità con le linee guida locali.

Preparazione

Reagente 1 : liquido, pronto per l'uso.

Reagente 2 : liquido, pronto per l'uso.

Miscelare capovolgendo prima dell'uso. Evitare la formazione di schiuma.

Conservazione e stabilità.

Il reagente non aperto rimane stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato a una temperatura compresa fra 2 e 8°C.

Una volta aperto e poi richiuso, il reagente rimane stabile fino a 4 settimane a una temperatura di 2 - 8°C.

NON CONGELARE.

Stabilità a bordo

I reagenti aperti sugli analizzatori Hitachi 7170 rimangono stabili per 4 settimane a una temperatura compresa fra 2 e 8°C.

Segni di deterioramento

La torbidità nel reagente 1 o la presenza di crescita microbica in entrambi i reagenti può essere indice di deterioramento.

Impossibile ripristinare i valori di controllo.

PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Il siero è il mezzo di prelievo raccomandato. Seguire i metodi di prelievo e preparazione standard.³

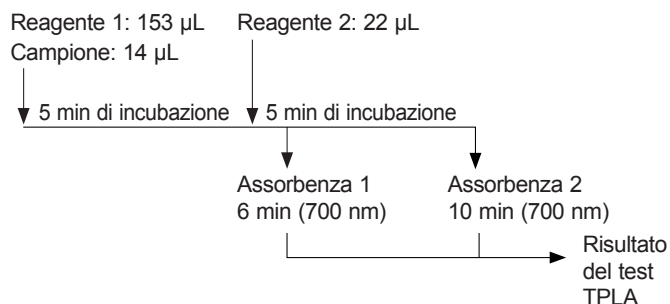
Se non vengono analizzati immediatamente, i campioni di siero possono essere conservati a 2 - 8°C per una settimana o a 15 - 25°C per un giorno.⁴ Se è necessario conservare i campioni per più di una settimana, è possibile tenerli fino a 4 settimane a -20°C o anche meno.⁴

Se i campioni vengono congelati, centrifugarli a 15000 giri per 10 minuti prima di procedere alla misurazione. I campioni possono essere congelati e scongelati una sola volta.⁴

PROCEDURA

Dosaggio

Di seguito viene riportato un esempio generico di procedura di dosaggio TPLA per un analizzatore automatico. Tutte le applicazioni con analizzatori devono essere convalidate.



Materiale fornito

I reagenti TPLA 1 e 2 sono necessari per la misurazione degli anticorpi anti *Treponema pallidum*. I reagenti TPLA sono confezionati e commercializzati in kit.

Descrizione	Configurazione	Codice catalogo
Reagente TPLA 1	1 x 45 mL	486647
Reagente TPLA 2	1 x 10 mL	

Materiale necessario ma non fornito

Descrizione	Configurazione	Codice catalogo
Set di calibratori TPLA	5 livelli x 1 mL	486654
Set di controlli TPLA	2 x 1 mL livello A 2 x 1 mL livello B	486661

- Analizzatore in grado di effettuare reazioni chimiche con due reagenti.

Calibrazione

Per calibrare il dosaggio del TPLA utilizzare unicamente il set di calibratori TPLA. I valori prefissati dei calibratori TPLA si riferiscono a uno standard della casa produttrice.

Fare riferimento al manuale per l'operatore dello strumento per le procedure di calibrazione specifiche dell'analizzatore e per indicazioni sulla frequenza della calibrazione.

I valori di controllo della qualità devono essere compresi negli intervalli previsti.

Controllo qualità

L'affidabilità dei risultati dei test deve essere monitorata di routine con materiali per il controllo della qualità o pool di sieri che rappresentino ragionevolmente le prestazioni dei campioni dei pazienti. I controlli o pool di sieri devono essere impiegati per verificare che i reagenti funzionino adeguatamente e che si seguano le procedure corrette. Spetta al laboratorio stabilire un intervallo accettabile per ciascun lotto di materiale di controllo. Se i valori di controllo non rientrano nell'intervallo stabilito, seguire le normali procedure di risoluzione dei problemi. Per ulteriore assistenza, contattare il distributore locale.

I requisiti per il controllo di qualità devono essere stabiliti in conformità con le normative statali e/o federali o con i requisiti di accreditamento.

RISULTATI

I risultati sono espressi in unità di titolazione (T.U.). Le T.U. si basano sul dosaggio dell'emagglutinazione di *Treponema pallidum* (TPHA). 1280 T.U. equivalgono a una titolazione di 1:1280 TPHA.

Per convertire da T.U. (Unità di titolazione) a mUI moltiplicare le unità T.U. per 2.

Limitazioni/Sostanze interferente

Criterio: recupero entro \pm il 15% del valore iniziale

Lipemia: nessuna interferenza da lipemia significativa fino a 2850 (unità di formazina). Centrifugare a 15000 giri per 10 prima della misurazione.

La concentrazione di emoglobina fino a 480 mg/dL non interferisce (distorsione <15%) in campioni con livelli di anticorpi antilipidici di origine sifilitica pari a 106 T.U.

La concentrazione di bilirubina coniugata fino a 20 mg/dL non interferisce (distorsione <15%) in campioni con livelli di anticorpi antilipidici di origine sifilitica pari a 110 T.U.

La concentrazione di bilirubina non coniugata fino a 18 mg/dL non interferisce (distorsione <15%) in campioni con livelli di anticorpi antilipidici di origine sifilitica pari a 109 T.U.

I campioni di siero prelevati da pazienti con una produzione di anticorpi dovuta a una funzione immunitaria compromessa allo stadio iniziale contengono una quantità ridotta di anticorpi e possono risultare negativi al test.

Una risposta immunitaria non specifica può verificarsi in campioni di siero prelevati da pazienti con malattie autoimmuni. Il risultato del test dovrebbe essere valutato in base ad altri risultati di test e sintomi clinici.

I campioni di siero prelevati da pazienti che ricevono prodotti del sangue contenenti immunoglobulina possono risultare positivi al test. Valutare con attenzione il risultato del test.

Data l'elevata gamma di concentrazioni possibili di campioni, il lavaggio delle sonde per il prelievo deve essere tale da evitare che rimangano residui di campione.

Valori previsti

Una misurazione pari o superiore a 10 T.U. indica che il campione è positivo all'anticorpo.

Un test di positività all'anticorpo deve essere seguito da ulteriori test e valutato insieme ai risultati di altri test e sintomi clinici. La diagnosi definitiva di sifilide deve essere effettuata da un medico.

Ciascun laboratorio deve confermare l'intervallo di riferimento per la propria popolazione di pazienti.

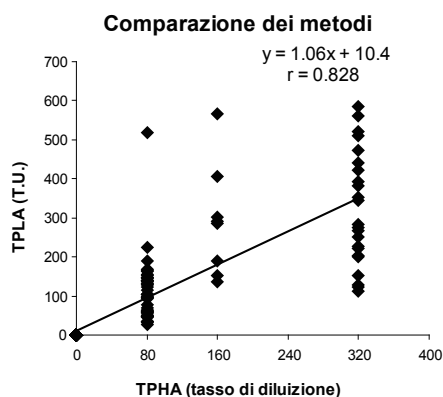
CARATTERISTICHE SPECIFICHE DELLE PRESTAZIONI

Confronto fra i metodi

Studi di confronto delle prestazioni sono stati condotti sull'uso del reagente TPLA sull'analizzatore Hitachi 7170 e un metodo di emagglutinazione di *Treponema pallidum* (TPHA) disponibile in commercio. 171 campioni di siero con concentrazioni di campioni positivi al TPLA comprese fra 27 e 585 TU.

Di seguito viene riportata l'analisi regressiva:

TPLA Sekisui Diagnostics rispetto a un metodo esistente di test TPLA (n = 171)	
Coefficiente angolare	1.06
Intercetta (T.U.)	10.5
Coefficiente di correlazione (r)	0.828



Precisione

La precisione del reagente TPLA è stata determinata mediante 2 livelli di controlli e campioni di siero umano positivi e negativi.

All'interno di un ciclo gli studi hanno impiegato 10 campioni e la precisione totale ne ha utilizzati 21, eseguiti tre volte al giorno per 21 giorni sull'analizzatore Hitachi 7170.

Precisione intra ciclo

Pool di sieri / Controllo	Recupero medio (T.U.)	Deviazione standard (T.U.)	% CV
Siero umano (positivo alla sifilide)	137.5	1.52	1.1
Siero umano (negativo alla sifilide)	0.0	0.00	—
Controllo TPLA A	24.4	0.51	2.1
Controllo TPLA B	77.4	0.59	0.8

Precisione totale

Pool di sieri / Controllo	Recupero medio (T.U.)	Deviazione standard (T.U.)	% CV
Siero umano	134.7	3.2	2.4
Siero umano (negativo alla sifilide)	0.0	0.0	—
Controllo TPLA A	24.9	0.7	2.7
Controllo TPLA B	76.7	1.1	1.4

Limite di rilevazione (LoD)

Il limite di rilevazione consiste nell'effettiva concentrazione in cui il risultato del test osservato è di 2,6 DS superiore a quello del calibratore più basso (calibratore 1). Il limite di rilevazione è stato stabilito mediante il calibratore 1 e 10 misurazioni con il reagente TPLA sull'analizzatore clinico Hitachi 7170.

Il limite di rilevazione è stato definito pari a 7 T.U.

Specificità

Non si è osservato un effetto gancio per dosi elevate in concentrazioni analitiche fino a 327 T.U.

Il fattore reumatoide, testato in dosi di 550 UI/mL, non ha influito sulla prestazione.

Un risultato negativo che non corrisponde ai segni clinici si può verificare con pazienti affetti da iperglobulinemia. In tali casi il campione può essere diluito con una soluzione di NaCl allo 0,9% e riesaminato

Linearità

Il metodo TPLA risulta lineare da 7 T.U. a 250 T.U.

I campioni oltre le 250 T.U. possono essere diluiti con siero negativo agli anticorpi o con una soluzione di NaCl allo 0,9%. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione per ottenere la concentrazione di TPLA per il campione.

Altri studi sulle prestazioni

Cross reattività (specificità analitica)

Campioni contenenti sostanze potenzialmente interferenti sono stati analizzati per la cross reattività. I campioni testati con il dosaggio TPLA di Sekisui Diagnostics provenivano:

- da pazienti affetti da collagenosi e pazienti sottoposti a dialisi
- da donne in stato di gravidanza

Campione	Numero	TPLA Reattivo	Tasso
Pazienti con collagenosi	28	0	0%
Donne in gravidanza	26	0	0%
Pazienti in dialisi	50	0	0%

Non sono stati riscontrati risultati falsi positivi.

Sensibilità clinica^{5,6,7}

In totale 268 campioni selezionati confermati positivi per la sifilide a vari stadi della malattia sono stati testati con il dosaggio TPLA Sekisui Diagnostics. La sensibilità è risultata pari al 100%

Campioni positivi per la sifilide	Numero	TPLA	
		Positivo	Negativo
	268	268	0

Specificità clinica^{4,5,6}

In totale 3427 campioni negativi per la sifilide sono stati testati con il dosaggio TPLA Sekisui Diagnostics. La specificità per questi campioni era del 99,6%.

Campioni negativi per la sifilide	Numero	TPLA	
		Positivo	Negativo
	3427	13	3414

ES REACTIVO DE TPLA

USO INDICADO

Para la determinación cuantitativa de anticuerpos antitreponema *pallidum* en suero humano

RESUMEN

La sífilis es una infección crónica causada por el *Treponema pallidum* que se transmite congénitamente o por contacto sexual. Se caracteriza por episodios de enfermedad activa interrumpidos por períodos de latencia¹.

Hay dos tipos de análisis serológicos de sífilis: no treponémicos y treponémicos. Los análisis de anticuerpos no treponémicos que más se utilizan para la sífilis son los análisis de reagina plasmática rápida (RPR) y los análisis de laboratorio de investigación de enfermedades venéreas (VDRL), los cuales miden los anticuerpos respecto a un complejo antigénico de cardiopina-lectina-colesterol. Los análisis treponémicos miden los anticuerpos a los antígenos nativos (cepa de Nichols) o *T. pallidum* recombinante.¹ Este ensayo automatizado se basa en un principio de análisis de aglutinación inmunológica con látex.

PRINCIPIO

El látex de poliestireno, recubierto con componentes antígenos derivados de *Treponema pallidum* (cepa de Nichols), se expone a la muestra analizada bajo determinadas condiciones, para inducir la formación del agregado anticuerpo antitreponema-látex. Se mide el aumento de la turbidez debido a la formación de este agregado (el cambio de la turbidez) respecto al nivel anterior a la exposición, para determinar el título de anticuerpos antitreponema de la muestra analizada.

REACTIVOS

Composición

Componente	Ingredientes	Concentración
Reactivo 1	Tampón fosfato	100 mmol/l pH 7,2-7,4
	Albúmina de suero bovino Estabilizantes Azida de sodio	<0,1%
Reactivo 2	Látex recubierto de antígeno para el <i>Treponema pallidum</i> Tampón fosfato	1,5 - 3,5 mg/ml 100 mmol/l pH 7,2-7,5
	Albúmina de suero bovino Azida de sodio	<0,1%

Precauciones y advertencias

1. Para uso diagnóstico in vitro.
2. No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.
3. **Advertencia** : Todas las muestras que se utilizan en este análisis deben considerarse potencialmente infecciosas. Deben emplearse las precauciones universales según se apliquen a sus instalaciones para la manipulación y el desecho de los materiales durante el análisis y después de ellos.²
4. Los reactivos de TPLA deben utilizarse con el juego de calibradores de TPLA.
5. **Precaución** : Evite congelar los reactivos.
6. **Precaución** : Los reactivos 1 y 2 contienen <0,1% de azida de sodio como conservante. La azida de sodio puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre para formar una acumulación de azida metálica potencialmente explosiva. Enjuáguelos con abundante agua al descartar el material.
7. **Precaución** : No mezcle los reactivos dentro de un kit ni entre kits de reactivos.
8. La eliminación de todos los materiales de desecho debe realizarse de acuerdo con las directrices locales.

Preparación

Reactivo 1 : líquidos, listos para su uso.

Reactivo 2 : líquidos, listos para su uso.

Invertir para mezclar antes de su uso. Evite que se forme espuma.

Conservación y estabilidad

El reactivo sin abrir se mantiene estable hasta la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta si se almacena a 2 - 8 °C.

Una vez abierto, el reactivo es estable durante un máximo de 4 semanas a 2 - 8°C.

NO CONGELAR.

Estabilidad en el instrumento

Tras abrirlos, los reactivos son estables en los analizadores Hitachi 7170 durante 4 semanas a 2 - 8 °C.

Indicaciones de deterioro

La presencia de turbidez en el reactivo 1 o crecimiento microbiano en cualquiera de los reactivos puede indicar deterioro.

Incapacidad de recuperar los valores de control.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

El suero es el medio de recogida recomendado. Utilice los métodos estándar para recoger y preparar las muestras.³

Si no se analizan inmediatamente, las muestras de suero se pueden conservar a 2 - 8 °C durante 1 semana o a 15 - 25 °C durante 1 día.⁴ Si necesita almacenar las muestras durante más de 1 semana, puede conservarlas a -20°C o menos durante un máximo de 4 semanas.⁴

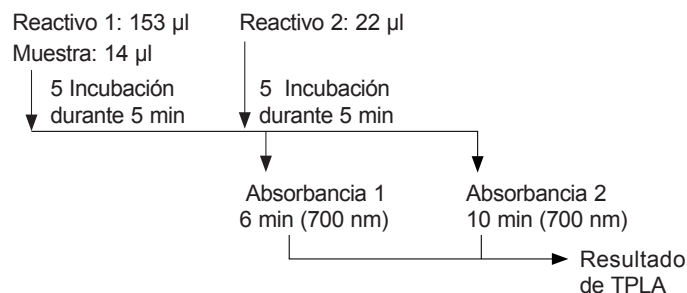
Si se han congelado las muestras, será necesario que las centrifugue a 15000xg durante 10 minutos antes de realizar las medidas. Las muestras pueden congelarse y descongelarse una vez.⁴

PROCEDIMIENTO

Ensayo

A continuación, se indica un ejemplo general del procedimiento de

ensayo de TPLA con un analizador automatizado. Será necesario validar cualquier otra aplicación en un analizador.



Materiales suministrados

Los reactivos 1 y 2 de TPLA son necesarios para la medición de los anticuerpos antitreponema *pallidum*. Los reactivos de TPLA se empaquetan y se venden como un kit.

Descripción	Configuración	Número de catálogo
Reactivo de TPLA 1	1 x 45 ml	486647
Reactivo de TPLA 2	1 x 10 ml	

Materiales necesarios que no se suministran

Descripción	Configuración	Número de catálogo
Juego de calibradores de TPLA	5 niveles x 1ml	486654
Juego de controles de TPLA	2 x 1 ml nivel A 2 x 1 ml nivel B	486661

- Analizador capaz de procesar dos productos químicos reactivos.

Calibración

Sólo debe utilizarse el juego de calibradores de TPLA para calibrar el ensayo de TPLA. Se puede realizar un seguimiento de los valores asignados de los calibradores de TPLA respecto a un estándar interno.

Consulte en el manual del usuario del instrumento los procedimientos de calibración específicos del analizador y las instrucciones para determinar la frecuencia de calibración.

Los valores de control de calidad deben estar dentro de los intervalos esperados.

Control de calidad

La fiabilidad de los resultados del análisis debe supervisarse regularmente con materiales de control de calidad o mezclas de sueros que representen de manera razonable el rendimiento con las muestras de los pacientes. Deben utilizarse controles o mezclas de sueros para supervisar que los reactivos funcionan correctamente y que se siguen los procedimientos adecuados. El laboratorio debe establecer un intervalo aceptable para cada lote del material de control. Si los valores de control no están comprendidos dentro del intervalo esperado, siga los procedimientos de solución de problemas normales. Si necesita asistencia, póngase en contacto con su distribuidor local.

Los requisitos de control de calidad deberán establecerse de acuerdo con las regulaciones locales, estatales y/o federales, o para satisfacer los requisitos de aprobación.

RESULTADOS

Los resultados se expresan en unidades de titulación (T.U.). Las T.U. se basan en el ensayo de hemaglutinación de *Treponema pallidum* (TPHA). 1280 T.U. equivalen a un título de 1:1280 TPHA.

Para convertir de T.U. (unidades de titulación) a mIU, multiplique las unidades T.U. por 2.

Limitaciones/Sustancias interferentes

Criterio: recuperación dentro de $\pm 15\%$ del valor inicial

Lipemia: ninguna interferencia significativa de lipemia hasta 2850 (grado de formazina). Centrifugue a 15000xg durante 10 minutos antes de realizar las medidas.

Una concentración de hemoglobina de hasta 480 mg/dl no interfiere

(deriva <15%) en muestras con niveles de anticuerpos antilípidos de la sífilis de 106 T.U.

Una concentración de bilirrubina conjugada de hasta 20 mg/dl no interfiere (deriva <15%) en muestras con niveles de anticuerpos antilípidos de la sífilis de 110 T.U.

Una concentración de bilirrubina no conjugada de hasta 18 mg/dl no interfiere (deriva <15%) en muestras con niveles de anticuerpos antilípidos de la sífilis de 109 T.U.

Las muestras de suero procedentes de pacientes en las fases iniciales de la producción de anticuerpos debido a una función inmunitaria comprometida contienen una pequeña cantidad de anticuerpos y es posible que generen resultados negativos.

Es posible que se produzca una respuesta inmune no específica en muestras de suero procedentes de pacientes con enfermedades autoinmunitarias. Los resultados del análisis deben evaluarse de acuerdo con otros resultados de análisis y síntomas clínicos.

Las muestras de suero procedentes de pacientes a los que se hayan administrado hemoderivados con inmunoglobulina pueden presentar resultados positivos. Evalúe cuidadosamente el resultado del análisis.

Debido a la amplia variedad posible de concentraciones de las muestras, el lavado de las cánulas de las muestras debe realizarse adecuadamente para evitar el arrastre de una muestra a otra.

Valores esperados

Una medida de 10 T.U. o superior indica que la muestra es positiva a los anticuerpos.

Un análisis positivo de anticuerpos debe ser seguido por análisis posteriores y debe evaluarse junto con otros resultados de análisis y síntomas clínicos. El diagnóstico final de sífilis debe ser emitido por un médico.

Cada laboratorio debe confirmar el intervalo de referencia de la población de pacientes a la que atiende.

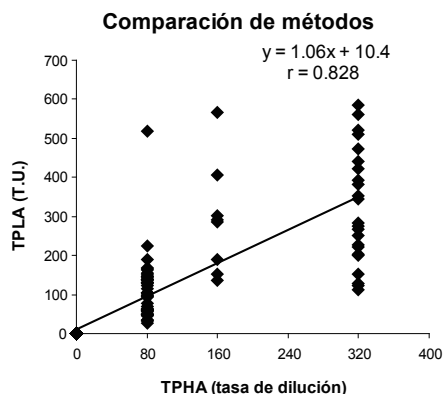
CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMIENTO

Comparación de métodos

Los estudios comparativos del funcionamiento se llevaron a cabo utilizando el reactivo de TPLA en el analizador Hitachi 7170 y un método de hemaglutinación de *Treponema pallidum* (TPHA) disponible en el mercado. Se analizaron 171 muestras de suero, con concentraciones de muestras de TPLA positivas comprendidas entre 27 y 585 T.U.

A continuación, se indica el análisis de regresión:

TPLA de Sekiusi Diagnostics frente a un método de análisis de TPHA existente (n = 171)	
Pendiente	1,06
Intersección (T.U.)	10,5
Coefficiente de correlación (r)	0,828



Precisión

La precisión del reactivo de TPLA se determinó utilizando 2 niveles de controles y muestras de suero humano positivas y negativas.

Los estudios intraserie utilizaron 10 muestras y la precisión total empleó 21 muestras que se analizaron tres veces al día durante 21 días en el analizador Hitachi 7170.

Precisión intraserie

Mezcla de sueros / Control	Recuperación media (T.U.)	Desviación estándar (T.U.)	% CV
Suero humano (Positivo a la sífilis)	137,5	1,52	1,1
Suero humano (Negativo a la sífilis)	0,0	0,00	—
Control A de TPLA	24,4	0,51	2,1
Control B de TPLA	77,4	0,59	0,8

Precisión total

Mezcla de sueros / Control	Recuperación media (T.U.)	Desviación estándar (T.U.)	% CV
Suero humano	134,7	3,2	2,4
Suero humano (Negativo a la sífilis)	0,0	0,0	—
Control A de TPLA	24,9	0,7	2,7
Control B de TPLA	76,7	1,1	1,4

Límite de detección (LoD)

El límite de detección es la concentración real para la cual un resultado observado del análisis es 2,6 DE superior al calibrador inferior (calibrador 1). El límite de detección se estableció utilizando el calibrador de nivel 1 y 10 mediciones con el reactivo de TPLA en el analizador clínico Hitachi 7170.

El límite de detección se ha definido como: 7 T.U.

Especificidad

No se observó ningún efecto de saturación para dosis altas para concentraciones del analito de hasta 327 T.U.

Se analizó el factor reumatoide hasta 550 IU/ml sin que afectase al funcionamiento.

Se puede producir un resultado negativo que no coincida con los signos clínicos en pacientes con hiperglobulinemia. En tales casos, la muestra puede diluirse con una solución de NaCl al 0,9% para volver a analizarla.

Linealidad

El método de TPLA es lineal desde 7 T.U. hasta 250 T.U.

Las muestras por encima de 250 T.U. pueden diluirse con suero negativo a los anticuerpos o con una solución de NaCl al 0,9%. Multiplique el resultado por el factor de dilución para obtener la concentración de TPLA de la muestra.

Otros estudios de funcionamiento

Reactividad cruzada (especificidad analítica)

Se analizaron muestras que contenían sustancias potencialmente interferentes para determinar su reactividad cruzada. Las muestras analizadas con el ensayo de TPLA de Sekiusi Diagnostics procedían de:

- pacientes con enfermedad del tejido conjuntivo y pacientes sometidos a diálisis
- mujeres embarazadas

Muestra	Número	TPLA Reactivo	Porcentaje
Pacientes con enfermedad del tejido conjuntivo	28	0	0%
Mujeres embarazadas	26	0	0%
Pacientes sometidos a diálisis	50	0	0%

No se detectó ningún resultado falso positivo.

Sensibilidad clínica^{5,6,7}

Se analizaron un total de 268 muestras de presencia positiva de la sífilis confirmada en varias fases de la enfermedad con el ensayo de TPLA de Sekiusi Diagnostics. Se determinó que la sensibilidad era del 100%

		TPLA	
Sífilis- muestras positivas	Número	Positivo	Negativo
	268	268	0

Especifidad clínica^{4,5,6}

Se analizaron un total de 3427 muestras negativas de sífilis con el ensayo de TPLA de Sekisui Diagnostics. La especificidad con estas muestras fue del 99,6%.

Muestras negativas de sífilis	Número	TPLA	
		Positivo	Negativ
	3427	13	3414

SV TPLA-REAGENS

AVSEDD ANVÄNDNING

För kvantitativ fastställning av anti-treponema *pallidum*-antikroppar i humanserum

SAMMANFATTNING

Syfilis är en kronisk infektion som orsakas av *Treponema pallidum* som kan överföras vid födseln eller vid sexuella kontakter. Den karakteriseras av skov varvat med latent perioder¹.

Det finns två typer av serologiska testmetoder för syfilis, icke-treponemal och treponemal. De mest använda icke-treponemala antikroppstesterna för syfilis är RPR-tester (rapid plasma reagin) och VDRL-tester (venereal disease research laboratory) som båda mäter antikroppar mot ett antigen kardiopalin-lecitin-kolesterol-komplex. Treponemaltester mäter antikroppar mot nativt (Nichols strain) eller rekombinanta *T. pallidum*-antigener.¹ Detta automatiserade test är ett lateximmunologiskt agglutinationstest.

PRINCIP

Polystyrenlatexen, belagd med antigena delar från *Treponema pallidum* (Nichols strain), exponeras för testprovet under särskilda förhållanden för att inducera bildning av anti-treponema antikroppslatexansamling. Den förhöjda grumligheten på grund av bildningen av denna ansamling (förändringen i grumlighet) i förhållande till pre-exponeringen mäts för att bestämma anti-treponemaantikroppstitern i testprovet.

REAGENSER

Innehåll

Del	Ingredienser	Koncentration
Reagens 1	Fosfatbuffert	100 mmol/L pH 7,2-7,4
	Bovint serum, albumin Stabiliserare Natriumazid	<0.1%
Reagens 2	<i>Treponema pallidum</i> antigenbelagd latex Fosfatbuffert	1,5 - 3,5 mg/mL 100 mmol/L pH 7,2-7,5
	Bovint serum, albumin Natriumazid	<0.1%

Försiktighetsåtgärder och varningar:

1. Avsedd för in vitro-diagnostik.
2. Använd inte reagenserna efter utgångsdatumet på etiketten.
3. **Varning** : Alla prover som används i testet bör anses vara potentiellt infektiösa. Följ standardåtgärder för försiktighet i enlighet med din institution enligt ditt sjukhus när det gäller hantering och kassering av material under och efter testning.²
4. TPLA-reagenser måste användas med TPLA-kalibratorsetet.
5. **Försiktighet** : Undvik nedfrysning av reagenser.
6. **Försiktighet** : Reagenserna 1 och 2 innehåller <0,1 % natriumazid som konserveringsmedel. Natriumazid kan reagera med bly- och kopparrör och bilda potentiellt explosiva metallazidansamlingar. Spola med generösa mängder vatten när du kasserar material.
7. **Försiktighet** : Blanda inte ihop reagenser i ett kit eller mellan reagenskit.
8. Kassera allt avfallsmaterial i enlighet med lokala riktlinjer.

Beredning

Reagens 1: Vätska, redo att användas.

Reagens 2: Vätska, redo att användas.

Vänd upp och ner för att blanda före användning. Undvik skumbildning.

Förvaring och hållbarhet

Oöppnad reagens håller fram till utgångsdatum som anges på etiketten vid förvaring i 2 - 8°C.

När den öppnats och tillslutits håller reagensen i upp till 4 veckor vid 2 - 8°C.

FÅR INTE FRYSAS.

Systemets hållbarhet

Reagenser är hållbara öppna på Hitachi 7170- analysatorn i 4 veckor vid 2 - 8 °C.

Tecken på försämring

Förekomst av grumlighet i reagens 1 eller mikrobiell tillväxt i någon av reagenserna kan tyda på försämring.

Oförmåga att återfå kontrollvärden.

PROVTAGNING OCH -BEREDNING

Serum är det rekommenderade uppsamlingsmediet. Använd standarduppsamling och -framställningsmetoder.³

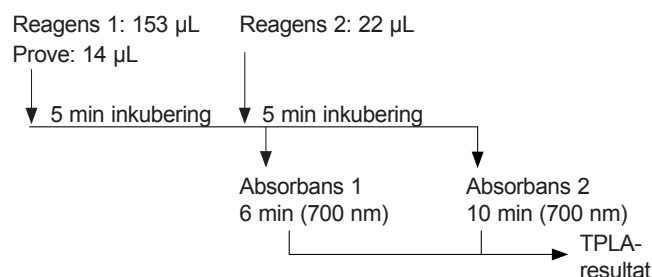
Om serumprover inte analyseras omedelbart kan de förvaras vid 2 - 8°C i 1 vecka eller vid 15 - 25°C i 1 dag.⁴ Om proverna behöver förvaras längre än 1 vecka kan de förvaras vid -20°C eller lägre i upp till 4 veckor.⁴

Om proverna har frusits, centrifugera vid 15 000 xg i 10 minuter före mätning. Proverna kan frysas och tinas upp en gång.⁴

FÖRFARANDE

Test

Nedan är ett generellt exempel på TPLA-testproceduren för en automatisk analysator. Alla analysatorapplikationer måste valideras.



Tillhandahållt material

TPLA-reagenser 1 och 2 krävs för mätning av anti-treponema *pallidum*-antikroppar. TPLA-reagenserna är förpackade och säljs som ett kit.

Beskrivning	Konfiguration	Katalognummer
TPLA-reagens 1	1 x 45 mL	486647
TPLA-reagens 2	1 x 10 mL	

Nödvändigt material som ej tillhandahålls

Beskrivning	Konfiguration	Katalognumme
Kalibratorset för TPLA	5 nivåer x 1 mL	486654
TPLA Kontrollset	2 x 1 mL nivå A 2 x 1 mL nivå B	486661

- Analysator som kan köra analyser med två reagenser.

Kalibrering

Använd endast TPLA-kalibratorsetet för att kalibrera TPLA-testet. Det tilldelade värdet för TPLA-kalibratörer kan spåras till en in-house-standard.

Se användarhandboken till instrumentet när det gäller analysatorns specifika kalibreringsprocedurer och för att få veta hur man bestämmer kalibreringsfrekvens.

Kvalitetskontrollvärdena ska ligga inom de förväntade områdena.

Kvalitetskontroll

Tillförlitligheten hos testresultaten bör övervakas rutinmässigt med kvalitetskontrollmaterial eller serumpooler som rimligen representerar prestanda med patientprover. Kontroller eller serumpooler ska användas för att övervaka att reagenserna fungerar korrekt och att korrekta förfaranden följs. Ett acceptabelt intervall för varje parti kontrollmaterial bör fastställas av laboratoriet. Följ normala felsökningsförfaranden om kontrollvärden inte ligger inom det förväntade intervallet. Kontakta din lokala leverantör vid behov av hjälp.

Kvalitetskontrollkraven ska fastställas i enlighet med lokala och/eller statliga föreskrifter eller uppfylla gällande ackrediteringskrav.

RESULTAT

Resultat uttrycks i titerenheter (T.U.). T.U. baseras på TPHA-testet (Treponema pallidum haemagglutination). 1280 T.U. motsvarar en titer på 1:1280 TPHA.

Multiplitera T.U.-enheter med 2 för att omvandla T.U. (titerenheter) till mIU.

Begränsningar/interfererande substanser

Kriterier: Återhämtning inom $\pm 15\%$ av det första värdet

Lipemi: Ingen betydande lipemisk interferens upp till 2850 (formazingrad). Centrifugera vid 15 000 xg i 10 minuter före mätning.

Hemoglobinkoncentration på upp till 480 mg/dL interfererade inte (bias $<15\%$) i prover med syfilitiska antilipidantikropps-nivåer om 106 T.U.

Konjugerad bilirubinkoncentration på upp till 20 mg/dL interfererade inte (bias $<15\%$) i prover med syfilitiska antilipidantikropps-nivåer om 110 T.U.

Icke-konjugerad bilirubinkoncentration på upp till 18 mg/dL interfererade inte (bias $<15\%$) i prover med syfilitiska antilipidantikropps-nivåer om 109 T.U.

Serumprover från patienter i tidigt stadium av antikroppsproduktion på grund av äventyrad immunfunktion innehåller en liten mängd antikroppar och kan reagera negativt.

En icke-specifikt immunsvär kan ske i serumprover från patienter med autoimmuna sjukdomar. Testresultatet bör utvärderas baserat på andra testresultat och kliniska symtom.

Serumprover från patienter som får blod som innehåller immunglobulin kan reagera positivt. Utvärdera testresultatet noggrant.

På grund av det stora antalet provkoncentrationer måste provtagningssondens tvätt vara tillräckligt noggrann för att förhindra smitta mellan prover.

Förväntade värden

En mått på 10 T.U. eller högre indikerar att provet är antikroppspositivt.

Ett positivt antikroppstest bör följas av efterföljande tester och bör utvärderas tillsammans med andra testresultat och kliniska symtom. En slutgiltig syfilisdiagnos bör göras av en läkare.

Varje laboratorium bör bekräfta referensintervallet för den patientpopulation som det tjänar.

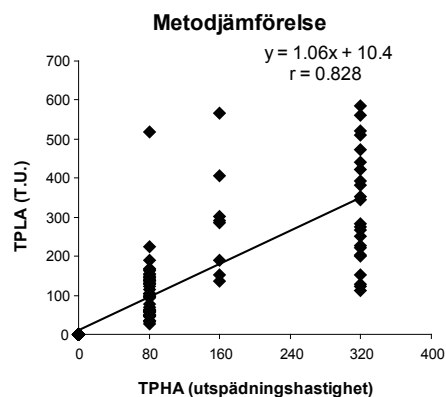
SPECIFIKA PRESTANDAEGENSKAPER

Metodjämförelse

Jämförande prestandaundersökningar utfördes med hjälp av TPLA-reagensen på Hitachi 7170 -analysatorn och en kommersiellt tillgänglig TPHA-metod (treponema pallidum hemagglutination). 171 serumprover med positiva TPLA-provkoncentrationer mellan 27 och 585 T.U.

Regressionsanalysen ges nedan:

Sekisui Diagnostics TPLA mot en befintlig TPHA-testmetod (n = 171)	
Kurva	1.06
Skärning (T.U.)	10.5
Korrelationskoefficient (r)	0.828



Noggrannhet

Noggrannheten hos TPLA-reagensen fastställdes med hjälp av 2 kontrollnivåer och positivt och negativt humanserumprov.

Inom körningar använde studier 10 prover och total noggrannhet använde 21 prover som kördes tre gånger per dag i 21 dagar på Hitachi 7170 -analysatorn.

Noggrannhet inom körningar

Serumpol/Kontroll	Genomsnittlig återhämtning (T.U.)	Standardavvikelse (T.U.)	% CV
Humanserum (Syfilispositiv)	137.5	1.52	1.1
Humanserum (Syfilisnegativ)	0.0	0.00	—
TPLA Kontroll A	24.4	0.51	2.1
TPLA Kontroll B	77.4	0.59	0.8

Total noggrannhet

Serumpol/Kontroll	Genomsnittlig återhämtning (T.U.)	Standardavvikelse (T.U.)	% CV
Humanserum	134.7	3.2	2.4
Humanserum (Syfilisnegativ)	0.0	0.0	—
TPLA Kontroll A	24.9	0.7	2.7
TPLA Kontroll B	76.7	1.1	1.4

Detektionsgräns (LoD)

Detektionsgränsen är den verkliga koncentration vid vilken ett observerat testresultat är 2,6 SD högre än koncentrationen hos den lägsta kalibratorm (kalibrator 1). Detektionsgräns fastställdes med hjälp nivå 1-kalibratorm och 10 mätningar med TPLA-reagens på en Hitachi 7170 klinisk analysator.

Detektionsgränsen har definierats som: 7 T.U.

Specificitet

Någon "high dose hook effect" observerades inte vid analytkoncentrationer upp till 327 T.U.

Reumatoidfaktor testades till 550 IU/mL och påverkade inte prestandan.

Ett negativt resultat som inte stämmer överens med kliniska tecken kan förekomma hos patienter med hyperglobulinemi. I sådana fall kan provet spädas ut med 0,9 % NaCl-lösning och köras igen.

Rätlinjighet

TPLA-metoden är rätlinjig från 7 T.U. till 250 T.U.

Prover över 250 T.U. kan spädas med antikropp-negativt serum eller med 0,9 % NaCl-lösning. Multiplitera resultatet med spädningsfaktorn för att få TPLA-koncentrationen för provet.

Övriga prestandastudier

Korsreaktivitet (analytisk specificitet)

Prover som innehåller potentiellt interfererande substanser analyserades med avseende på korsreaktivitet. Prover som testades med Sekisui Diagnostics TPLA-test var:

- från patienter med kollagenos och patienter som fick dialys
- från gravida kvinnor

Probe	Nummer	TPLA Reaktiv	Grad
Kollagenospatienter	28	0	0%
Gravida kvinnor	26	0	0%
Dialyspatienter	50	0	0%

Inga falska postiva resultat hittades.

Klinisk sensitivitet^{5,6,7}

Totalt 268 utvalda bekräftade syfilis-positiva prover i olika stadier av sjukdomen testades med Sekisui Diagnostics TPLA-test. Sensitiviteten var 100 %

		TPLA	
Syfilispositiva prover	Nummer	Positiv	Negativt resultat
	268	268	0

Klinisk specificitet^{4,5,6}

Totalt 3 427 syfilisnegativa prover testades med Sekisui Diagnostics TPLA-test. Sensitiviteten hos dessa prover var 99.6%.

		TPLA	
Syfilispositiva prover	Nummer	Positiv	Negativt resultat
	3427	13	3414

TR TPLA REAGENT

KULLANIM AMACI

İnsan serumunda anti-Treponema *pallidum* antikorlarının kantitatif belirlenmesi için

ÖZET

Sifilis, doğuştan veya cinsel temas ile bulaşabilen Treponema *pallidum*'un neden olduğu kronik bir enfeksiyondur. Latens periyotları ile kesintiye uğrayan aktif hastalık epizodları ile karakterizedir¹.

Sifilis için non-treponemal ve treponemal olmak üzere iki tür serolojik test bulunur. Sifilis için en yaygın şekilde kullanılan non-treponemal antikor testleri, her ikisi de kardiyolipin-lesitin-kolesterol antijen kompleksine karşı antikorları ölçen hızlı plazma reajini (RPR) ve zührevi hastalık araştırma laboratuvarı (VDRL) testleridir. Treponemal testlerde natif (Nichols suşu) veya rekombinant T. *pallidum* antijenlerine karşı antikorlar ölçülür.¹ Bu otomatik test, lateks immünolojik aglutinasyon test prensibine dayalıdır.

PRENSİP

Treponema *pallidum*'dan (Nichols suşu) elde edilen antijen bileşenleri ile kaplı polistiren lateks, anti-Treponema antikor-lateks agregatı oluşumunu indüklemek için belirli koşullar altında test numunesine maruz bırakılır. Test numunesindeki anti-Treponema antikor titresini saptamak için ön maruz kalma seviyesiyle ilgili olarak bu agregatın oluşmasından kaynaklanan bulanıklık artışı (bulanıklıkta değişiklik) ölçülür.

REAKTİFLER

Bileşim

Bileşen	İçindekiler	Konsantrasyon
Reaktif 1	Fosfat tamponu Sığır serumu albümini Stabilizörler Sodyum Azid	100 mmol/L pH 7,2-7,4 <0.1%
Reaktif 2	Treponema <i>pallidum</i> antijen-kaplı lateks Fosfat tamponu Sığır serumu albümini Sodyum Azid	1,5 – 3,5mg/mL 100 mmol/L pH 7,2-7,5 <0.1%

Tedbirler ve Uyarılar

1. İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım için.
2. Etiketle belirtilen son kullanma tarihi geçen reaktifleri kullanmayın.
3. **Uyarı** : Bu testte kullanılan tüm numuneler potansiyel olarak enfeksiyöz kabul edilmelidir. Test esnasında ve sonrasında maddelerin kullanımı ve imhası için tesisinize uygun olan evrensel tedbirler alınmalıdır.²
4. TPLA Reaktifleri, TPLA Kalibratör Seti ile kullanılmalıdır.
5. **Dikkat** : Reaktifleri dondurmaktan kaçının.
6. **Dikkat** : Reaktif 1 ve 2 koruyucu madde olarak <0,1 sodyum azid içerir. Sodyum azid, patlama potansiyeli olan bir metal azid birikimi oluşturacak şekilde kurşun ve bakır tesisat ile reaksiyona girebilir. Malzemeyi atarken bol su ile yıkayın.
7. **Dikkat** : Reaktifleri bir kit içinde veya reaktif kitleri arasında havuzlamayın.
8. Tüm atık maddeler yerel yönetmeliklere uygun şekilde imha edilmelidir.

Hazırlık

Reaktif 1 : Sıvı, kullanıma hazır.

Reaktif 2 : Sıvı, kullanıma hazır.

Kullanmadan önce karıştırmak için ters çevirin. Köpük oluşumundan kaçının.

Saklama ve Stabilite

Açılmamış reaktif, 2 - 8°C sıcaklıkta saklanması halinde etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir.

Açılan reaktif, 2 - 8°C sıcaklıkta 4 haftaya kadar stabildir.
DONDURMAYIN.

Cihazda stabilite

Reaktifler, Hitachi 7170 analizöründe 4 hafta boyunca 2 - 8°C sıcaklıkta stabildir.

Bozulma Belirtileri

Reaktif 1'de bulanıklık veya herhangi bir reaktifte mikrobiyal büyüme varlığı bozulmayı işaret edebilir.

Kontrol değerleri geri kazanılamaz.

NUMUNE TOPLAMA VE HAZIRLAMA

Önerilen toplama ortamı serumdur. Standart numune toplama ve hazırlama yöntemlerini kullanın.³

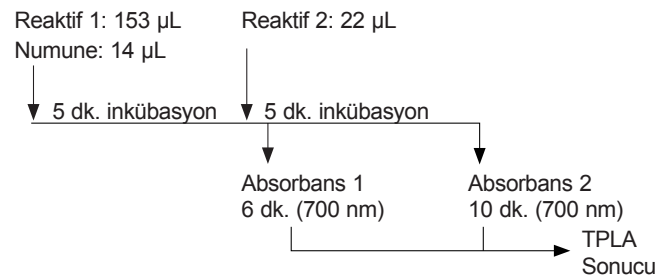
Hemen analiz edilmeyecek serum numuneleri, 2 - 8°C sıcaklıkta 1 hafta veya 15 - 25°C sıcaklıkta 1 gün saklanabilir.⁴ Numunelerin 1 haftadan uzun bir süre saklanması gerekiyorsa, -20°C veya altında 4 haftaya kadar saklanabilirler. ⁴

Dondurulmuş numuneler ölçümden önce 10 dakika boyunca 15000xg'de santrifüje tabi tutulmalıdır. Numuneler dondurulabilir ve bir defaya mahsus olmak üzere çözündürülebilir.⁴

PROSEDÜR

Test

Aşağıda, otomatik bir analizör için genel bir TPLA test prosedürü örneği verilmiştir. Tüm analizör uygulamaları valide edilmelidir.



Sağlanan Malzemeler

Anti-Treponema *pallidum* antikorlarının ölçümü için TPLA Reaktif 1 ve 2 gereklidir. TPLA reaktifleri bir kit olarak ambalajlanır ve satılır.

Açıklama	Konfigürasyon	Katalog Numarası
TPLA Reaktif 1	1 x 45mL	486647
TPLA Reaktif 2	1 x 10mL	

Gerekli Fakat Temin Edilmemiş Malzemeler

Açıklama	Konfigürasyon	Katalog Numarası
TPLA Kalibratör Seti	5 seviye x 1mL	486654
TPLA Kontrol Seti	2 x 1mL seviye A 2 x 1mL seviye B	486661

- İki reaktifli kimyasalları çalıştırabilen analizör.

Kalibrasyon

TPLA testini kalibre etmek için sadece TPLA Kalibratör seti kullanılmalıdır. TPLA Kalibratörlerinin belirlenen değerleri şirket içi standart doğrultusunda izlenebilir.

Analizöre özgü kalibrasyon prosedürleri ve kalibrasyon sıklığının saptanması hakkında ayrıntılı bilgi için cihazın kullanım kılavuzuna bakın.

Kalite Kontrol değerleri beklenen aralıklar içinde olmalıdır.

Kalite Kontrol

Test sonuçlarının güvenilirliği, hasta numuneleri ile elde edilen performansın uygun şekilde temsil eden kalite kontrol maddeleri ve serum havuzları ile rutin olarak izlenmelidir. Reaktiflerin doğru şekilde çalıştığını ve doğru prosedürlerin takip edildiğini izlemek için kontroller veya serum havuzları kullanılmalıdır. Laboratuvar tarafından her kontrol malzemesi lotu için kabul edilebilir bir aralık belirlenmelidir. Kontrol değerlerinin beklenen aralık içinde olmaması halinde, normal sorun giderme prosedürleri takip edilmelidir. Yardıma gereksinim duymanız halinde, lütfen yerel distribütörünüz ile iletişim kurun.

Kalite kontrol gereksinimleri yerel, devlet ve/veya federal düzenlemeler veya akreditasyon gereksinimleri uyarınca belirlenmelidir.

SONUÇLAR

Sonuçlar titre birimleri (T.U.) olarak ifade edilir. T.U., *Treponema pallidum* hemaglutinasyon (TPHA) testine dayalıdır. 1280 T.U., 1:1280 TPHA titresine eşdeğerdir.

T.U.'dan (Titre Birimi) mIU'ya dönüştürme için T.U. birimini 2 ile çarpın.

Sınırlamalar/Etkileşen Maddeler

Kriter: İlk değer \pm %15'i içinde geri kazanım

Lipemi: 2850'e (Formazin derecesi) kadar anlamlı bir lipemik etkileşim yok. Ölçümden önce 10 dakika boyunca 15000x'g'de santrifüje tabi tutun.

480 mg/dL'ye kadar hemoglobin konsantrasyonu, 106 T.U. sifilitik anti-lipit antikor seviyelerine sahip numunelerle (sapma <%15) etkileşime girmez.

20 mg/dL'ye kadar konjuge Bilirubin konsantrasyonu, 110 T.U. sifilitik anti-lipit antikor seviyelerine sahip numunelerle (sapma <%15) etkileşime girmez.

18 mg/dL'ye kadar konjuge olmayan Bilirubin konsantrasyonu, 109 T.U. sifilitik anti-lipit antikor seviyelerine sahip numunelerle (sapma <%15) etkileşime girmez.

Bozulan immün fonksiyon nedeniyle antikor üretiminin ilk aşamasında hastalardan alınan serum numuneleri az miktarda antikor içerir ve negatif test sonucu verebilir.

Otoimmün hastalıkları olan hastalarda serum numunelerinde spesifik olmayan immün yanıt meydana gelebilir. Test sonucu, diğer test sonuçlarına ve klinik semptomlara göre değerlendirilmelidir.

İmmüno globulin içeren kan ürünleri alan hastaların serum numuneleri pozitif test sonuçları verebilir. Test sonucunu dikkatli bir şekilde değerlendirin.

Geniş bir numune konsantrasyonu aralığı olasılığından dolayı, numune taşınmasını önlemek için numune probunun yıkanması yeterli olmalıdır.

Beklenen Değerler

10 T.U. veya üzerindeki bir ölçüm, numunede antikorun pozitif olduğunu gösterir.

Pozitif antikor testinden sonra diğer testler gerçekleştirilmeli ve bu test, diğer test sonuçları ve klinik semptomlarla birlikte değerlendirilmelidir. Nihai sifilis tanısı bir doktor tarafından konulmalıdır.

Her laboratuvar hizmet verdiği hasta popülasyonu için referans aralığı doğrulanmalıdır.

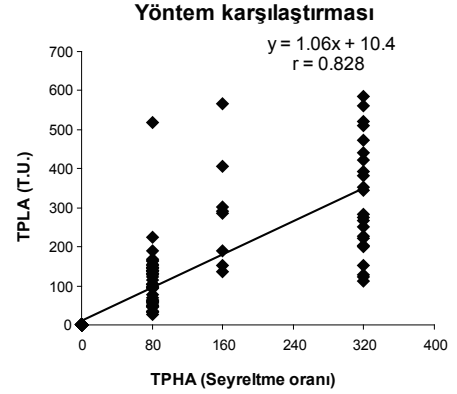
SPESİFİK PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Yöntem Karşılaştırması

Hitachi 7170 analizöründe TPLA Reaktifi ve ticari olarak mevcut *Treponema pallidum* hemaglutinasyon (TPHA) yöntemi kullanılarak karşılaştırmalı performans çalışmaları gerçekleştirilmiştir. 27 ile 585 T.U. arasında pozitif TPLA numune konsantrasyonlarına sahip 171 serum numunesi test edilmiştir.

Regresyon analizi aşağıda verilmiştir:

Sekisui Diagnostics TPLA ve mevcut bir TPHA test yöntemi (n = 171)	
Eğim	1.06
Kesişim (T.U.)	10.5
Korelasyon Katsayısı (r)	0.828



Hassasiyet

TPLA reaktifinin hassasiyeti 2 kontrol seviyesi ile pozitif ve negatif insan serumu numunesi kullanılarak belirlenmiştir.

Döngü çalışmalarında 10 numune ve toplam hassasiyet için 21 numune kullanılmış ve numuneler 21 gün boyunca Hitachi 7170 analizöründe günde üç defa çalıştırılmıştır.

Döngü İçi Hassasiyet

Serum havuzu / Kontrol	Ortalama Geri Kazanım (T.U.)	Standart Sapma (T.U.)	% CV
İnsan Serumu (Sifilis Pozitif)	137.5	1.52	1.1
İnsan Serumu (Sifilis Negatif)	0.0	0.00	—
TPLA Kontrol A	24.4	0.51	2.1
TPLA Kontrol B	77.4	0.59	0.8

Toplam Hassasiyet

Serum havuzu / Kontrol	Ortalama Geri Kazanım (T.U.)	Standart Sapma (T.U.)	% CV
İnsan Serumu	134.7	3.2	2.4
İnsan Serumu (Sifilis Negatif)	0.0	0.0	—
TPLA Kontrol A	24.9	0.7	2.7
TPLA Kontrol B	76.7	1.1	1.4

Saptama Sınırı (LoD)

Saptama sınırı, gözlemlenen test sonucunun en düşük kalibratör (kalibratör 1) sonucunun 2,6 SD üzerinde olduğu gerçek konsantrasyondur. Saptama sınırı, seviye 1 kalibratör ve Hitachi 7170 klinik analizöründe TPLA Reaktifi ile gerçekleştirilen 10 ölçüm kullanılarak belirlenmiştir.

Saptama sınırı 7 T.U. olarak tanımlanmıştır.

Özgünlük

327 T.U.'ya kadar olan analit konsantrasyonlarında yüksek doz kanca etkisi gözlenmemiştir.

Romatoid faktörü, 550 IU/mL için test edilmiş ve performansı etkilememiştir.

Hiperglobulinemi hastalarında klinik belirtilere uygun olmayan negatif sonuç meydana gelebilir. Bu tür durumlarda, numune %0,9 NaCl çözeltisi ile seyreltilerek yeniden çalıştırılabilir.

Doğrusallık

TPLA yöntemi, 7 T.U. ile 250 T.U. arasında doğrusaldır.

250 T.U'nun üzerindeki numuneler antikor-negatif serum veya %0,9 NaCl çözeltisi ile seyreltilir. Numunenin TPLA konsantrasyonunu elde etmek için sonucu seyreltme faktörü ile çarpın.

Diğer Performans Çalışmaları

Çapraz Reaktivite (Analitik özgünlük)

Etkileşime girme potansiyeli olan maddeler içeren numuneler çapraz reaktivite açısından analiz edilmiştir. Sekisui Diagnostics TPLA testi ile tahlil edilen numuneler:

- kollajenozu olan hastalardan ve diyalize giren hastalardan
- gebe kadınlardan alınmıştır.

Numune	Sayı	TPLA Reaktif	Oran
Kollajenoz hastaları	28	0	0%
Gebe kadınlar	26	0	0%
Diyaliz hastaları	50	0	0%

Hatalı pozitif sonuç bulunmamıştır.

Klinik duyarlılık^{5,6,7}

Hastalığın çeşitli aşamalarında olan toplam 268 doğrulanmış sifilis pozitif numune Sekisui Diagnostics TPLA testi ile test edilmiştir. Duyarlılık %100 olarak bulunmuştur

	TPLA		
Sifilis- pozitif numuneler	Sayı	Pozitif	Negatif
	268	268	0

Klinik özgünlük^{4,5,6}

Toplam 3427 sifilis-negatif numune Sekisui Diagnostics TPLA testi ile test edilmiştir. Bu numunelerde özgünlük %99,6 olmuştur.

	TPLA		
Sifilis- pozitif numuneler	Sayı	Pozitif	Negatif
	3427	13	3414

References/ Referenzen/ Références / Bibliografia/ Referencias / Referenser/ Referanslar

1. Longo, DL, Fauci, AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL and Loscalzo J. Eds Harrison's Online-Harrison's Principles of Internal Medicine. 18e. Part 8. Infectious Diseases. McGraw-Hill
2. Richardson JH and Barkley WE, eds. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, HHS Publication No. (CDC) 84-8395, Washington, DC: 1984.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens: Approved Guideline. CLSI Document H18-A, Wayne, PA: 1990. 1990.
4. Shibazaki M et al. An Automated Measurement of Anti-Treponema Antibody Titer by MEDIACE TPLA, a Latex Agglutination Test using Hitachi 7170 Automatic Analyzer. The Journal of Clinical Laboratory Instruments and Reagents 1996; 19 (4):635-639.
5. Osato K et al. Clinical Evaluation of Latex Agglutination Test Kits for Detecting Anti-syphilitic Lipoidal Antibodies and Anti-treponemal Antibodies. Japanese Journal of Sexually Transmitted Diseases 2002; 13 (1):124-130.
6. Osato K et al. Clinical Evaluation of Automated Latex Agglutination Test Kits (TPLA) for Syphilis Diagnosis. The Journal of Clinical Laboratory Instruments and Reagents 1991; 14 (4):739-743.
7. Kataniwa Y et al. Clinical Evaluation of Latex Reagent Sedia TPLA for Diagnosis of Syphilis. The Journal of Clinical Laboratory Instruments and Reagents 1991; 14 (4):735-738.
8. Data on file at SEKISUI

Definitions for Symbols/ Definition der Symbole/ Définition des symboles/ Definizione dei simboli/ Definiciones de los símbolos/ Symboldefinitioner/ Sembollerin Tanımları

REF

Catalog number
Bestellnummer
Référence du catalogue
Riferimento di Catalogo
Número de catálogo
Listnummer
Katalog numarası



Temperature limitation
Temperaturbegrenzung
Limites de temperature
Limiti di temperature
Limitación de temperature
Temperaturbegränsning
Sıcaklık sınırlaması



Use by
Verwendbar bis
Utiliser jusqu'au
Utilizzare entro
Fecha de caducidad
Används före
Bu tarihe kadar kullanın

LOT

Batch code
Loscode
Code du lot
Codice di lotto
Código de lote
Satsnummer
Seri kodu



Caution, consult accompanying documents
Achtung, Beilage beachten
Attention, voir la notice d'instructions
Attenzione, consultare i documenti allegati
Precaución, consultar documentación adjunta
Försiktighet, se medföljande document
Dikkat, birlikte gelen belgelere bakın

EC REP

Authorized Representative in the European Community
Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
Mandataire dans la Communauté européenne
Mandatario nella Comunità Europea
Representante autorizado en la Comunidad Europea
Auktoriserad representant inom Europeiska gemenskapen
Avrupa'da yetkili temsilci



Sekisui Medical Co. Ltd.
13-5, Nihombashi 3-chome, Chuo-ku
Tokyo, 103-0027, Japan

EC REP

Sekisui Diagnostics (UK) Limited
50 Gibson Drive
Kings Hill, West Malling
KENT ME19 4AF, UK
www.sekisuidiagnostics.com

SEKISUI
DIAGNOSTICS



April 2012
K1486647.02

IVD

For in vitro diagnostic use
Für die In-vitro-Diagnostik bestimmt
Pour diagnostic in vitro
Per uso diagnostico in vitro
Para uso diagnóstico in vitro
Används vid in vitro-diagnostik
In vitro tanı amaçlı kullanım için



Manufactured by
Hergestellt von
Fabriqué par
Prodotto da
Fabricado por
Tillverkare
Üretici



Consult instructions for use
Gebrauchsanweisung beachten
Consulter la notice d'utilisation
Consultare le istruzioni per l'uso
Consúltense las instrucciones de uso
Läs bruksanvisningen
Kullanım talimatlarına bakın

CONT

Contents
Inhalt
Contenu
Contenuto
Contenido
Innehåll
İçindekiler